

**МИНОБРНАУКИ РОССИИ**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования "Пермский  
государственный национальный исследовательский  
университет"**

**Кафедра микробиологии и иммунологии**

Авторы-составители: **Ткаченко Александр Георгиевич**

Рабочая программа дисциплины

**ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ И БИОЭНЕРГЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ**

Код УМК 84946

Утверждено  
Протокол №4  
от «04» марта 2019 г.

Пермь, 2019

## **1. Наименование дисциплины**

Физиология, биохимия и биоэнергетика микроорганизмов

## **2. Место дисциплины в структуре образовательной программы**

Дисциплина входит в вариативную часть Блока « М.1 » образовательной программы по направлениям подготовки (специальностям):

Направление: **06.04.01** Биология

направленность Микробиология и иммунология

### **3. Планируемые результаты обучения по дисциплине**

В результате освоения дисциплины **Физиология, биохимия и биоэнергетика микроорганизмов** у обучающегося должны быть сформированы следующие компетенции:

**06.04.01** Биология (направленность : Микробиология и иммунология)

**ПК.1** Способен осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры выполнять эксперименты и оформлять результаты исследований и разработок

#### **Индикаторы**

**ПК.1.2** применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании

#### 4. Объем и содержание дисциплины

<b>Направления подготовки</b>	06.04.01 Биология (направленность: Микробиология и иммунология)
<b>форма обучения</b>	очная
<b>№№ триместров, выделенных для изучения дисциплины</b>	4,5
<b>Объем дисциплины (з.е.)</b>	4
<b>Объем дисциплины (ак.час.)</b>	144
<b>Контактная работа с преподавателем (ак.час.), в том числе:</b>	48
<b>Проведение лекционных занятий</b>	12
<b>Проведение практических занятий, семинаров</b>	36
<b>Самостоятельная работа (ак.час.)</b>	96
<b>Формы текущего контроля</b>	Защищаемое контрольное мероприятие (5) Итоговое контрольное мероприятие (1)
<b>Формы промежуточной аттестации</b>	Зачет (4 триместр) Экзамен (5 триместр)

## 5. Аннотированное описание содержания разделов и тем дисциплины

### Раздел I. Основы культивирования микроорганизмов

Природные и лабораторные культуры микроорганизмов, их сходство и различие. Способы выделения чистых культур. Потребности микроорганизмов в основных питательных компонентах, питательные среды. Методы стерилизации. Классификация микроорганизмов по типу питания. Рост и культивирование микроорганизмов. Периодические культуры микроорганизмов, фазы роста, изменение состава клетки в различных фазах периодической культуры. Методы определения численности микроорганизмов в культуре. Понятие об удельной скорости роста. Основные параметры, характеризующие рост микроорганизмов ( $\mu_{max}$ , время генерации,  $K_s$ ,  $X_{max}$ ,  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{ATP}$ , длительность лаг-фазы), методы их определения. Цикл деления бактериальной клетки, его регуляция. Синхронные культуры микроорганизмов как метод изучения жизненного цикла микроорганизмов. Способы получения синхронных культур.

Непрерывное культивирование микроорганизмов. Теория хемостата, уравнения, описывающие рост микроорганизмов. Понятие о лимитирующем компоненте питательной среды. Закономерности, описывающие зависимость удельной скорости роста микроорганизмов от концентрации субстрата. Зависимость глубины лимитирования от скорости протока питательной среды. Значение констант роста микроорганизмов для правильного управления ростом микроорганизмов в условиях непрерывного культивирования. Основные принципы турбидостатного культивирования. Физиологическое состояние клеток в условиях турбидостата.

#### Введение в курс. Основные понятия.

Предмет курса и задачи физиологии микроорганизмов, значение фундаментальных закономерностей роста и развития микроорганизмов для решения биотехнологических задач. Предмет и задачи биоэнергетики, ее значение для изучения скорости и направления метаболических процессов у микроорганизмов, а также образования конечных продуктов обмена и продуктивности биосинтетических процессов в меняющихся условиях среды. История развития основных экспериментальных подходов к определению энергетического состояния клетки. Взаимосвязь физиологии микроорганизмов и биоэнергетики, ее значение для более полного понимания структуры и функции микробной клетки.

#### Тема 1. Физиологические константы роста

Рост и культивирование микроорганизмов. Периодические культуры микроорганизмов, фазы роста, изменение состава клетки в различных фазах периодической культуры. Методы определения численности микроорганизмов в культуре. Понятие об удельной скорости роста. Основные параметры, характеризующие рост микроорганизмов ( $\mu_{max}$ , время генерации,  $K_s$ ,  $X_{max}$ ,  $Y_{x/s}$ ,  $Y_{ATP}$ , длительность лаг-фазы), методы их определения. Цикл деления бактериальной клетки, его регуляция. Синхронные культуры микроорганизмов как метод изучения жизненного цикла микроорганизмов. Способы получения синхронных культур.

#### Тема 2. Непрерывное культивирование

Непрерывное культивирование микроорганизмов. Теория хемостата, уравнения, описывающие рост микроорганизмов. Понятие о лимитирующем компоненте питательной среды. Закономерности, описывающие зависимость удельной скорости роста микроорганизмов от концентрации субстрата. Зависимость глубины лимитирования от скорости протока питательной среды. Значение констант роста микроорганизмов для правильного управления ростом микроорганизмов в условиях непрерывного культивирования. Основные принципы турбидостатного культивирования. Физиологическое состояние клеток в условиях турбидостата.

### Раздел II. Структура и функции микробной клетки

Цитоплазматическая мембрана, структура и физико-химические свойства фосфолипидов, полярная и неполярная области, особенности структуры жирнокислотных остатков у различных видов микроорганизмов, зависимость от температуры окружающей среды. Липидный бислой, монослой архебактерий. Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, механизм окраски по Граму. Пептидогликановый слой, его структурные особенности у грам-положительных и грам-отрицательных микроорганизмов, механизм действия антибиотиков на пептидогликан, сферопласты, протопласты. Периплазматическое пространство грам-отрицательных микроорганизмов, различные классы периплазматических белков, их функции, физиологическое значение периплазматического пространства. Внешняя мембрана грам-отрицательных микроорганизмов, структурные особенности. Липид А, липопротеиды, липополисахариды, строение, функции. Белки внешней мембраны, структура и транспортные функции поринов, их различные классы, зависимость соотношения различных поринов от условий культивирования. Строение жгутика. Классификация микроорганизмов по принципу расположения жгутиков. Флагеллярный мотор, структура и функции белков флагеллярного мотора. Виды таксиса. Механизм хемотаксиса, белки, участвующие в рецепции и проведения сигнала, роль метилирования и фосфорилирования в регуляции направления вращения жгутика. Механизм септообразования у микроорганизмов, белки участвующие в этом процессе, роль Fts Z кольца в септообразовании, механизм локализации септы во время деления, спорообразования. Бактериальные эндоспоры, процесс спорообразования. Другие покоящиеся формы бактерий.

Простая диффузия, зависимость процесса от энергии градиента, осмос. Облегченная диффузия, специфические транспортные белки, насыщающий характер зависимости скорости транспорта от концентрации субстрата, классы транспортируемых веществ. Первичный и вторичный активный транспорт, сходство и различие, молекулярные механизмы, энергетическое обеспечение транспорта, унипорт, симпорт, антипорт. Транслокация групп изменение химического строения транспортируемых субстратов. Фосфоенолпируват: сахар фосфотрансферазная система, механизмы функционирования, первичные и вторичные функции. Катаболитная репрессия, роль цАМФ и CAP белка в этом процессе, роль фосфорилирования белков ФТС в регуляции активности аденилатциклазы. Механизм исключения индуктора.

Структура нуклеоида микроорганизмов, его доменная организация, метаболически активная и инертная зоны нуклеоида, его динамические изменения при изменении условий культивирования. Особенности укладки нуклеоида микроорганизмов, роль гистонподобных белков и суперскрученности ДНК в этом процессе. Кольцевая структура ДНК микроорганизмов, особенности репликации, инициация репликации, структура точки "origin", роль белка DnaA в регуляции инициации, механизм, ограничивающий репликацию. Механизм формирования репликативной вилки, синхронизация репликации и септообразования. Элонгация, лидирующая и отстающая нити ДНК, процессивность репликации, роль различных классов ДНК-полимераз в репликации и исправлении ошибок. Терминация, различные ее типы.

### **Тема 1. Клеточная оболочка**

Цитоплазматическая мембрана, структура и физико-химические свойства фосфолипидов, полярная и неполярная области, особенности структуры жирнокислотных остатков у различных видов микроорганизмов, зависимость от температуры окружающей среды. Липидный бислой, монослой архебактерий. Особенности строения клеточной стенки грам-положительных и грам-отрицательных микроорганизмов, механизм окраски по Граму. Пептидогликановый слой, его структурные особенности у грам-положительных и грам-отрицательных микроорганизмов, механизм действия антибиотиков на пептидогликан, сферопласты, протопласты. Периплазматическое пространство грам-отрицательных микроорганизмов, различные классы периплазматических белков, их функции, физиологическое

значение периплазматического пространства. Внешняя мембрана грам-отрицательных микроорганизмов, структурные особенности. Липид А, липопротеиды, липополисахариды, строение, функции. Белки внешней мембраны, структура и транспортные функции поринов, их различные классы, зависимость соотношения различных поринов от условий культивирования. Строение жгутика. Классификация микроорганизмов по принципу расположения жгутиков. Флагеллярный мотор, структура и функции белков флагеллярного мотора. Виды таксиса. Механизм хемотаксиса, белки, участвующие в рецепции и проведения сигнала, роль метилирования и фосфорилирования в регуляции направления вращения жгутика. Механизм септообразования у микроорганизмов, белки участвующие в этом процессе, роль Fts Z кольца в септообразовании, механизм локализации септы во время деления, спорообразования. Бактериальные эндоспоры, процесс спорообразования. Другие покоящиеся формы бактерий.

### **Тема 2. Механизмы транспорта веществ у микроорганизмов**

Простая диффузия, зависимость процесса от энергии градиента, осмос. Облегченная диффузия, специфические транспортные белки, насыщающий характер зависимости скорости транспорта от концентрации субстрата, классы транспортируемых веществ. Первичный и вторичный активный транспорт, сходство и различие, молекулярные механизмы, энергетическое обеспечение транспорта, унипорт, симпорт, антипорт. Транслокация групп изменение химического строения транспортируемых субстратов. Фосфоенолпируват: сахар фосфотрансферная система, механизмы функционирования, первичные и вторичные функции. Катаболитная репрессия, роль цАМФ и CAP белка в этом процессе, роль фосфорилирования белков ФТС в регуляции активности аденилатциклазы. Механизм исключения индуктора.

### **Тема 3. Наследственный материал микробной клетки**

Структура нуклеоида микроорганизмов, его доменная организация, метаболически активная и инертная зоны нуклеоида, его динамические изменения при изменении условий культивирования. Особенности укладки нуклеоида микроорганизмов, роль гистонподобных белков и суперскрученности ДНК в этом процессе. Кольцевая структура ДНК микроорганизмов, особенности репликации, инициация репликации, структура точки "origin", роль белка DnaA в регуляции инициации, механизм, ограничивающий репликацию. Механизм формирования репликативной вилки, синхронизация репликации и септообразования. Элонгация, лидирующая и отстающая нити ДНК, процессивность ре-пликации, роль различных классов ДНК-полимераз в репликации и исправлении ошибок. Терминация, различные ее типы.

### **Раздел III. Метаболизм микроорганизмов в меняющихся условиях среды**

Катаболизм, амфиболизм, анаболизм, характеристика биохимических реакций, лежащих в их основе. Определение энергетического и конструктивного типов метаболизма, понятие об их сопряженности. Механизмы сопряжения энергетического и конструктивного обмена в нормальных и стрессовых условиях, роль АТФ и энергетического заряда Аткинсон в этом процессе. Роль полиаминов в сопряжении двух типов обмена в условиях стресса. Путь Энтнера-Дудорова. Окислительный пентозофосфатный цикл. Метилглиоксальный шунт. Анаэробные реакции. Глиоксилатный цикл. Оценка энергетической "стоимости" различных путей катаболизма. Брожение. Реакции субстратного фосфорилирования. Основные механизмы регенерации пиридиновых нуклеотидов. Спиртовое брожение у дрожжей. Сравнение путей образования этанола у дрожжей и бактерий. Гомоферментативное и гетероферментативное молочнокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Пропионовокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Муравьиновокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Масляновокислое брожение,

характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Выход энергии при различных типах брожения, зависимость от условий культивирования.

### **Тема 1. Понятие об основных видах обмена**

Катаболизм, амфиболизм, анаболизм, характеристика биохимических реакций, лежащих в их основе. Определение энергетического и конструктивного типов метаболизма, понятие об их сопряженности. Механизмы сопряжения энергетического и конструктивного обмена в нормальных и стрессовых условиях, роль АТФ и энергетического заряда Аткинсон в этом процессе. Роль полиаминов в сопряжении двух типов обмена в условиях стресса.

### **Тема 2. Особенности катаболизма углеводов у микроорганизмов**

Путь Энтнера-Дудорова. Окислительный пентозофосфатный цикл. Ме-тилглиоксалевый шунт. Анаэробные реакции. Глиоксилатный цикл. Оценка энергетической “стоимости” различных путей катаболизма. Брожение. Реакции субстратного фосфорилирования. Основные механизмы регенерации пиридиновых нуклеотидов. Спиртовое брожение у дрожжей. Сравнение путей образования этанола у дрожжей и бактерий. Гомоферментативное и гетероферментативное молочнокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Пропионовокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Муравьиновокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Мас-ляновокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих этот тип брожения. Выход энергии при различных типах брожения, зависимость от условий культивирования.

### **Раздел. IV. Пути и механизмы запасаания энергии у микроорганизмов**

Понятие о термодинамической системе, окружающая среда, обмен энергией между системой и окружающей средой. Свободная энергия системы, изменение стандартной свободной энергии Гиббса. Зависимость направления биохимической реакции от величины стандартной свободной энергии. Понятие о сопряженных биохимических реакциях, подсчет свободной энергии сопряженных биохимических реакций. Гидролиз АТФ как основная сопряженная реакция биосинтетических процессов в организме. Роль АТФ в ряду макроэргических соединений клетки. Основные виды энергии в клетках микроорганизмов и пути их превращения, понятие об электрохимическом потенциале протонов, условия его образования и сохранения. Хемосмотическая гипотеза Митчелла. Понятие об окислительно-восстановительных реакциях, восстановительный потенциал, его значение в определении направления окислительно-восстановительных реакций. Пиридинзависимые дегидрогеназы, их основные свойства и функции в клетке, примеры окислительно-восстановительных реакций, катализируемых пиридинзависимыми дегидрогеназами. Баланс окисления глюкозы в цикле трикарбоновых кислот по углероду, фосфору и водороду. Флавінзависимые дегидрогеназы, их функции в клетке, примеры окислительно-восстановительных реакций, катализируемых флавиновыми дегидрогеназами. Цитохромы, строение и функции в клетке. Сходство строения дыхательных цепей аэробных микроорганизмов и митохондрий. Структура дыхательных цепей аэробных микроорганизмов, *Paracoccus denitrificans*. Редоксцентры и переносчики первого сегмента дыхательной цепи, железо-серные белки, флавінмононуклеотид. Коэнзим Q, его роль в функционировании дыхательной цепи, протонный Q-цикл. Сукцинатдегидрогеназа как второй сегмент дыхательной цепи. Коэнзим Q – цитохром C редуктаза. Цитохром оксидаза. Гипотеза петель Митчелла как механизм генерации протонного градиента. Точки сопряжения в дыхательной цепи, отношение  $H/e$  как способ оценки энергетической эффективности работы дыхательной цепи. Дыхательные цепи факультативных анаэробов на примере *E. coli*, разветвленность на уровне первичных дегидрогеназ и конечных оксидаз и редуктаз, множественность субстратов и акцепторов. История открытия протонной АТФазы, ранние работы Рэкера. Электронно-микроскопическая структура



АТФазы микроорганизмов, размеры комплекса. F1 и F0 как сегменты, представляющие каталитическую и протонпроводящую части фермента. Кинетические характеристики протонных АТФаз из различных источников, ингибиторы, используемые для изучения фермента, механизмы действия. Субъединичное строение F1 и F0, характеристика отдельных субъединиц по молекулярному весу, аминокислотному составу и функциональной роли отдельных сегментов. Характер связывания нуклеотидов в каталитических некаталитических центрах. Кинетика многосайтового катализа, принципы положительной кооперативности катализа и отрицательной кооперативности связывания субстрата. Механизм энергетического сопряжения, современные представления об АТФазе как о «роторном моторе». Пути экспериментального доказательства вращения  $\gamma$  субъединицы в центре гексагонального  $\alpha_3\beta_3$  комплекса. Субъединичный состав «ротора» и «статора». Строение с-кольца, субъединица а как протонный канал, механизм вращения с-кольца, путь прохождения протонов. Генетическая структура *unc* оперона, гены, кодирующие различные субъединицы, принцип дифференциального использования кодона в регуляции количества субъединиц, соответствующего стехиометрии комплекса. Последовательность сборки и очередность включения отдельных субъединиц в комплекс.

### **Тема 1. Основные термодинамические закономерности превращения энергии**

Понятие о термодинамической системе, окружающая среда, обмен энергией между системой и окружающей средой. Свободная энергия системы, изменение стандартной свободной энергии Гиббса. Зависимость направления биохимической реакции от величины стандартной свободной энергии. Понятие о сопряженных биохимических реакциях, подсчет свободной энергии сопряженных биохимических реакций. Гидролиз АТФ как основная сопряженная реакция биосинтетических процессов в организме. Роль АТФ в ряду макроэргических соединений клетки. Основные виды энергии в клетках микроорганизмов и пути их превращения, понятие об электрохимическом потенциале протонов, условия его образования и сохранения. Хемиосмотическая гипотеза Митчелла.

### **Тема 2. Окислительно-восстановительные реакции**

Понятие об окислительно-восстановительных реакциях, восстановительный потенциал, его значение в определении направления окислительно-восстановительных реакций. Пиридинзависимые дегидрогеназы, их основные свойства и функции в клетке, примеры окислительно-восстановительных реакций, катализируемых пиридинзависимыми дегидрогеназами. Баланс окисления глюкозы в цикле трикарбоновых кислот по углероду, фосфору и водороду. Флавінзависимые дегидрогеназы, их функции в клетке, примеры окислительно-восстановительных реакций, катализируемых флавиновыми дегидрогеназами. Цитохромы, строение и функции в клетке.

### **Тема 3. Дыхательные цепи**

Сходство строения дыхательных цепей аэробных микроорганизмов и митохондрий. Структура дыхательных цепей аэробных микроорганизмов, *Paracoccus denitrificans*. Редоксцентры и переносчики первого сегмента дыхательной цепи, железо-серные белки, флавиномононуклеотид. Коэнзим Q, его роль в функционировании дыхательной цепи, протонный Q-цикл. Сукцинатдегидрогеназа как второй сегмент дыхательной цепи. Коэнзим Q – цитохром C редуктаза. Цитохром оксидаза. Гипотеза петель Митчелла как механизм генерации протонного градиента. Точки сопряжения в дыхательной цепи, отношение  $H/e$  как способ оценки энергетической эффективности работы дыхательной цепи. Дыхательные цепи факультативных анаэробов на примере *E. coli*, разветвленность на уровне первичных дегидрогеназ и конечных оксидаз и редуктаз, множественность субстратов и акцепторов. Типы хинонов, функционирующих в дыхательных цепях факультативных анаэробов, зависимость от условий среды. Основные классы переносчиков по количеству и характеру расположения субъединиц по отношению к цитоплазматической мембране. Энергетическая эффективность переносчиков, механизм петель и протонных помп как способ генерации протонного градиента. Специфичность строения дыхательной

цепи факультативных анаэробов в зависимости от субстрата и конечного акцептора электронов, энергетическая эффективность.

#### **Тема 4. Протонные АТФазы**

Электронно-микроскопическая структура АТФазы микроорганизмов, размеры комплекса. F1 и F0 как сегменты, представляющие каталитическую и протонпроводящую части фермента. Кинетические характеристики протонных АТФаз из различных источников, ингибиторы, используемые для изучения фермента, механизмы действия. Субъединичное строение F1 и F0, характеристика отдельных субъединиц по молекулярному весу, аминокислотному составу и функциональной роли отдельных сегментов. Характер связывания нуклеотидов в каталитических некаталитических центрах. Кинетика многосайтового катализа, принципы положительной кооперативности катализа и отрицательной кооперативности связывания субстрата. Механизм энергетического сопряжения, современные представления об АТФазе как о «роторном моторе». Пути экспериментального доказательства вращения  $\gamma$  субъединицы в центре гексагонального  $\alpha_3\beta_3$  комплекса. Субъединичный состав «ротора» и «статора». Строение с-кольца, субъединица a как протонный канал, механизм вращения с-кольца, путь прохождения протонов. Генетическая структура *unc* оперона, гены, кодирующие различные субъединицы, принцип дифференциального использования кодона в регуляции количества субъединиц, соответствующего стехиометрии комплекса. Последовательность сборки и очередность включения отдельных субъединиц в комплекс.

#### **Тема 5. Энергетическое сопряжение**

Понятие о сопряжении дыхания, разобщители хлор-с-ср, фтор-с-ср, механизм действия, сопрягающие сегменты дыхательной цепи, дыхательная цепь как генератор энергии. Протонная АТФаза как основной потребитель протонного градиента, механизм окислительного фосфорилирования. Протонный цикл, сходство с электрической цепью. Эффективность окислительного фосфорилирования, ингибиторы АТФазы как разобщители дыхания и фосфорилирования.

#### **Итоговое занятие**

##### **Раздел I. Понятие об уровнях организации стрессовых реакций**

Адаптивные ответы у бактерий лежат в диапазоне от быстрых временных изменений подвижности до длительной глобальной реорганизации генной экспрессии и клеточной морфологии. Сигналы, поступающие изнутри цитоплазмы и из среды, используются для контроля и регуляции активности клеточных процессов, которые формируют тот или иной тип ответа. Скорость биохимической реакции как простая функция изменения физико-химических факторов среды, температуры, pH, окислительно-восстановительного потенциала. Аллостерическая регуляция активности фермента. Скорость и диапазон изменения физико-химических факторов среды, их влияние на уровень стрессового ответа у микроорганизмов. Понятие о сбалансированном и несбалансированном росте микроорганизмов.

Оперон, его структура, функции на примере *lac*-оперона. Принципы регуляции оперона, индукция, репрессия. Понятие о регуляторных сетях, регулон. Понятие о модулоне, возможные механизмы перекрывания регуляторных сетей, их роль в формировании состояния преадаптации у микроорганизмов. Преадаптация как механизм выживания природных популяций микроорганизмов в меняющихся условиях среды.

##### **Тема 1. Ферментативный уровень**

Скорость биохимической реакции как простая функция изменения физико-химических факторов среды, температуры, pH, окислительно-восстановительного потенциала. Аллостерическая регуляция активности фермента. Скорость и диапазон изменения физико-химических факторов среды, их влияние

на уровень стрессового ответа у микроорганизмов. Понятие о сбалансированном и несбалансированном росте микроорганизмов.

## **Тема 2. Транскрипционный уровень**

Оперон, его структура, функции на примере lac-оперона. Принципы регуляции оперона, индукция, репрессия. Понятие о регуляторных сетях, регулон. Понятие о модулоне, возможные механизмы перекрывания регуляторных сетей, их роль в формировании состояния преадаптации у микроорганизмов. Преадаптация как механизм выживания природных популяций микроорганизмов в меняющихся условиях среды.

## **Раздел II. Пути проведения сигнала стресса у микроорганизмов**

Сигнал стресса - физико-химический фактор, непосредственно воспринимаемый клеточными системами как специфическая информация о характере стрессового воздействия. Фосфорилирование белков как основной механизм трансформации сигнала среды в клетке микроорганизмов. Сенсорные белки, их строение, роль гистидина в аутофосфорилировании протеинкиназ у микроорганизмов, сенсорный и киназный домены гистидинпротеинкиназ, структура. Структура белка-регулятора ответа, ресиверный и эффекторный домены, их роль в передаче сигнала. Механизм функционирования белка-регулятора ответа, его роль в регуляции генной экспрессии. Основные сенсор-регуляторные пары, характерные для специфических видов стресса. Специфичность путей проведения сигнала, Принципы конвергенции и дивергенции в формировании неспецифических стрессовых ответов. Гипотеза фосфопередающей сети Стока, киназный и регуляторный слои. Понятие о модулоне, его роль в формировании перекрестной устойчивости микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

Малая сигнальная молекула как способ «общения» микроорганизмов в популяции, связь ее концентрации в среде с плотностью биомассы. Различные классы сигнальных молекул в зависимости от вида микроорганизмов. Механизм проведения сигнала по типу quorum sensing на примере *V. fischeri*, строение lux оперона, роль генов и генных продуктов в регуляции ответа. Значение quorum sensing для выживания морских организмов в естественных местообитаниях. Системы проведения сигнала quorum sensing у энтеробактерий, их роль для выживания в условиях стационарной фазы и регуляции инвазивности патогенных микроорганизмов в инфекционном процессе.

## **Тема 1. Двухкомпонентная система проведения сигнала**

Сенсорные белки, их строение, роль гистидина в аутофосфорилировании протеинкиназ у микроорганизмов, сенсорный и киназный домены гистидинпротеинкиназ, структура. Структура белка-регулятора ответа, ресиверный и эффекторный домены, их роль в передаче сигнала. Механизм функционирования белка-регулятора ответа, его роль в регуляции генной экспрессии. Основные сенсор-регуляторные пары, характерные для специфических видов стресса. Специфичность путей проведения сигнала, Принципы конвергенции и дивергенции в формировании неспецифических стрессовых ответов. Гипотеза фосфопередающей сети Стока, киназный и регуляторный слои. Понятие о модулоне, его роль в формировании перекрестной устойчивости микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

## **Тема 2. Восприятие кворума (quorum sensing)**

Малая сигнальная молекула как способ «общения» микроорганизмов в популяции, связь ее концентрации в среде с плотностью биомассы. Различные классы сигнальных молекул в зависимости от вида микроорганизмов. Механизм проведения сигнала по типу quorum sensing на примере *V. fischeri*, строение lux оперона, роль генов и генных продуктов в регуляции ответа. Значение quorum sensing для выживания морских организмов в естественных местообитаниях. Системы проведения сигнала quorum

sensing у энтеробактерий, их роль для выживания в условиях стационарной фазы и регуляции инвазивности патогенных микроро-ганизмов в инфекционном процессе.

### **Тема 3. Альтернативные механизмы восприятия факторов среды**

Роль сигма-факторов РНК-полимеразы в регуляции инициации транскрипции. Альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы как специфические стрессовые белки, их роль в формировании структуры и функции регулона. Различия молекулярных весов сигма-субъединиц *E. coli* и специфичность функционирования при разных видах стресса, номен-клатура сигма-субъединиц *E. coli*:  $\sigma^N$ , ( $\sigma^{54}$ ) или Rpo N (азотное голодание),  $\sigma^S$ , ( $\sigma^{38}$ ) или Rpo S,  $\sigma^H$ , ( $\sigma^{32}$ ) или Rpo H (умеренный тепловой шок),  $\sigma^F$ , ( $\sigma^{28}$ ) или Rpo F (хемотаксис, флагел-лярные белки),  $\sigma^E$ , ( $\sigma^{24}$ ) или Rpo E (сильный тепловой шок, стресс поверхностных структур),  $\sigma^{FecI}$  ( транспорт цитрата железа, окислительный стресс). Специфичность узнавания промото-ров альтернативными сигма-субъединицами. Соотношение различных сигма-факторов в клетке в нормальных условиях и в условиях стресса, их аффинность в отношении связыва-ния с кор-ферментом РНК-полимеразы, роль метаболических факторов в регуляции этого процесса. Принципы регуляции количества сигма-субъединиц при стрессе, транскрипцион-ные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции.

### **Раздел III. Принципы организации механизмов транскрипционной регуляции адаптивных ответов микроорганизмов**

Регулон - совокупность отдельных оперонов или генов, объединенных в единую регуляторную сеть посредством общего транскрипционного регулятора и согласованно реагирующая в ответ на конкретный стрессовый фактор с целью изменения метаболизма клетки, направленного на преодоление повреждающих воздействий. Роль транскрипционных регуляторов выполняют белки-регуляторы ответа двухкомпонентных систем проведения сигнала, белки регуляторы в механизмах quorum sensing, альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы, специфические транскрипционные активаторы (OxyR, SoxRS, Fnr), ДНК-связывающие гистоноподобные белки, малые сигнальные молекулы (цАМФ, гуанозинтетрафосфат, гуанозинпентафосфат), катаболитный активаторный белок. Структура генных промоторов как фактор, определяющий их специфичность по отношению к транскрипционному регулятору, ориентация -10 и -35 последовательностей, ее влияние на кинетические свойства генных промоторов, сильные и слабые промоторы, влияние топологии ДНК и нуклеоид-связывающих белков на структурно-кинетические свойства промоторов.

Активаторы транскрипции как специфические белки стресса, их роль в структурно-функциональной организации регулонов, принципиальные отличия от двухкомпонентных систем проведения сигналов, сочетание в одной молекуле функций сенсора и транскрипци-онного регулятора. Различные типы транскрипционных активаторов: белки-регуляторы от-вета; активаторы транскрипции, выполняющие роль сенсоров (OxyR); совместно функцио-нирующие пары транскрипционных активаторов (SoxR, SoxS), их принципиальное отличие от двухкомпонентных сигнал-проводящих систем. Структура различных сенсоров и меха-низмы восприятия сигнала. Роль SH-групп в сенсорике OxyR, строение Fe-S кластеров, их различие у SoxRS регуляторов и FNR. Механизмы активации, лежащие в основе регулятор-ных функций транскрипционных активаторов, взаимодействие с промоторными областями ДНК и субъединицами РНК-полимеразы.

Основные классы ДНК-связывающих белков по принципу равномерности распределения связывания. Структурирующие белки: HU (heat unstable), H-NS (histone-like nucleoid structur-ing), Fis (factor for inversion stimulation) и IHF (integration host factor). Роль белка HU в созда-нии архитектуры нуклеоида и регуляции транскрипции, гетеродимерная структура белка, соотношение субъединиц в зависимости от физиологического состояния клетки. Функции HU в качестве регулятора топологии ДНК, участие в регуляции отрицательной суперску-ченности ДНК и компактной укладке нуклеоида, регуляция вторичных структур мРНК. Роль гистоноподрбного белка H-NS как глобального репрессора

транскрипции у микроорганизмов, сочетание общих функций структурирующего белка в компактизации ДНК со специфическими функциями регулятора генной экспрессии. Роль H-NS в регуляции стрессовых ответов и фазовых переходов периодической культуры. Роль IHF в регуляции ДНК, регуляция функциональной конверсии нуклеоида во время фазовых изменений клеточного роста, индукция компактизации ДНК. Dps (DNA binding protein of starvation) – ДНК-связывающий белок голодания, его предохранительное действие от повреждений ДНК активными формами кислорода и другими повреждающими факторами. Hfq, известный также как HF-1 (Host factor I), функции в регуляции множественной стрессовой устойчивости в стационарной фазе, его стабилизирующее действие на мРНК (РНК шаперонные функции). Роль Hfq как регулятора РНК-РНК взаимодействия малых регуляторных РНК (OxyS, DsrA) с комплементарными последовательностями-мишенями. Зависимость спектра ДНК-связывающих белков от фазы роста периодической культуры микроорганизмов как отражение их функций.

### **Тема 1. Регулон, регуляторные сети**

Регулон - совокупность отдельных оперонов или генов, объединенных в единую регуляторную сеть посредством общего транскрипционного регулятора и согласованно реагирующая в ответ на конкретный стрессовый фактор с целью изменения метаболизма клетки, направленного на преодоление повреждающих воздействий. Роль транскрипционных регуляторов выполняют белки-регуляторы ответа двухкомпонентных систем проведения сигнала, белки регуляторы в механизмах quorum sensing, альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы, специфические транскрипционные активаторы (OxyR, SoxRS, Fnr), ДНК-связывающие гистоноподобные белки, малые сигнальные молекулы (цАМФ, гуанозинтетрафосфат, гуанозинпентафосфат), катаболитный активаторный белок. Структура генных промоторов как фактор, определяющий их специфичность по отношению к транскрипционному регулятору, ориентация -10 и -35 последовательностей, ее влияние на кинетические свойства генных промоторов, сильные и слабые промоторы, влияние топологии ДНК и нуклеоид-связывающих белков на структурно-кинетические свойства промоторов.

### **Тема 2. Альтернативные сигма-факторы**

Роль сигма-факторов РНК-полимеразы в регуляции инициации транскрипции. Альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы как специфические стрессовые белки, их роль в формировании структуры и функции регулона. Различия молекулярных весов сигма-субъединиц *E. coli* и специфичность функционирования при разных видах стресса, номен-клатура сигма-субъединиц *E. coli*:  $\sigma^N$ , ( $\sigma^{54}$ ) или Rpo N (азотное голодание),  $\sigma^S$ , ( $\sigma^{38}$ ) или Rpo S,  $\sigma^H$ , ( $\sigma^{32}$ ) или Rpo H (умеренный тепловой шок),  $\sigma^F$ , ( $\sigma^{28}$ ) или Rpo F (хемотаксис, флагеллярные белки),  $\sigma^E$ , ( $\sigma^{24}$ ) или Rpo E (сильный тепловой шок, стресс поверхностных структур),  $\sigma^{FecI}$  (транспорт цитрата железа, окислительный стресс). Специфичность узнавания промоторов альтернативными сигма-субъединицами. Соотношение различных сигма-факторов в клетке в нормальных условиях и в условиях стресса, их аффинность в отношении связывания с кор-ферментом РНК-полимеразы, роль метаболических факторов в регуляции этого процесса. Принципы регуляции количества сигма-субъединиц при стрессе, транскрипционные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции.

### **Тема 3. Активаторы транскрипции**

Активаторы транскрипции как специфические белки стресса, их роль в структурно-функциональной организации регулонов, принципиальные отличия от двухкомпонентных систем проведения сигналов, сочетание в одной молекуле функций сенсора и транскрипционного регулятора. Различные типы транскрипционных активаторов: белки-регуляторы ответа; активаторы транскрипции, выполняющие роль сенсоров (OxyR); совместно функционирующие пары транскрипционных активаторов (SoxR, SoxS), их принципиальное отличие от двухкомпонентных сигнал-проводящих систем. Структура

различных сенсоров и механосенсоры восприятия сигнала. Роль SH-групп в сенсорике OxyR, строение Fe-S кластеров, их различие у SoxRS регуляторов и FNR. Механизмы активации, лежащие в основе регуляторных функций транскрипционных активаторов, взаимодействие с промоторными областями ДНК и субъединицами РНК-полимеразы.

#### **Тема 4. ДНК-связывающие белки как модуляторы транскрипционной регуляции**

Основные классы ДНК-связывающих белков по принципу равномерности распределения связывания. Структурирующие белки: HU (heat unstable), H-NS (histone-like nucleoid structur-ing), Fis (factor for inversion stimulation) и IHF (integration host factor). Роль белка HU в создании архитектуры нуклеоида и регуляции транскрипции, гетеродимерная структура белка, соотношение субъединиц в зависимости от физиологического состояния клетки. Функции HU в качестве регулятора топологии ДНК, участие в регуляции отрицательной суперскрученности ДНК и компактной укладке нуклеоида, регуляция вторичных структур мРНК. Роль гистонподобного белка H-NS как глобального репрессора транскрипции у микроорганизмов, сочетание общих функций структурирующего белка в компактизации ДНК со специфическими функциями регулятора генной экспрессии. Роль H-NS в регуляции стрессовых ответов и фазовых переходов периодической культуры. Механизм функционирования H-NS, его роль в образовании вторичных структур ДНК, их роль в регуляции работы РНК-полимераз и восприятии сигнала стресса. Функциональная активность ДНК-связывающего белка FIS, его роль в экспрессии генов топологической регуляции ДНК, активации генов стабильных РНК, участие в регуляции локальной суперскрученности ДНК, функциональной подвижности нуклеоида. Роль IHF в регуляции ДНК, регуляция функциональной конверсии нуклеоида во время фазовых изменений клеточного роста, индукция компактизации ДНК. Dps (DNA binding protein of starvation) – ДНК-связывающий белок голодания, его предохранительное действие от повреждений ДНК активными формами кислорода и другими повреждающими факторами. Hfq, известный также как HF-1 (Host factor I), функции в регуляции множественной стрессовой устойчивости в стационарной фазе, его стабилизирующее действие на мРНК (РНК шаперонные функции). Роль Hfq как регулятора РНК-РНК взаимодействия малых регуляторных РНК (OxyS, DsrA) с комплементарными последовательностями-мишенями. Зависимость спектра ДНК-связывающих белков от фазы роста периодической культуры микроорганизмов как отражение их функций.

#### **Раздел IV. Топологические свойства ДНК как фактор регуляции стрессовых ответов**

Особенности структуры ДНК бактериальной хромосомы, кольцевая ковалентно замкнутая молекула ДНК микроорганизмов. Доменная структура нуклеоида, его структурно-функциональная динамика. Понятие о суперскрученности ДНК, свойство отрицательной сверхспирализации природных ДНК, выделенных из живых объектов. Топологическое состояние ДНК как фактор функциональной интеграции регулонов в модулон, единую систему, согласованно реагирующую на изменение факторов среды с целью комплексной адаптации микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям среды, множественная устойчивость микроорганизмов к различным стрессовым факторам. Понятие о зацеплении комплементарных нитей ДНК в кольцевых ковалентно-замкнутых молекулах, Lk, его связь с числом витков двойной спирали (Tw) и формой молекулы как целого (Wr). Понятие о релаксированной и суперскрученной ДНК, отрицательная и положительная суперскрученность, их распространенность в живых объектах. Уравнение, описывающее соотношение параметров кольцевых ковалентно-замкнутых молекул ДНК:  $Lk = Tw + Wr$ . Взаимозависимость Tw и Wr при неизменном числе зацеплений полинуклеотидных цепей, изменение этих параметров при разрыве нитей ДНК и изменении числа зацеплений. Жесткость ДНК на скручивание и изгибание, понятие об энергии сверхспирализации, плотность сверхспирализации, соотношение локальной и общей сверхспирализации. Затраты энергии сверхспирализации на процессы, сопровождающиеся расхождением полинуклеотидных цепей ДНК, тепловые флуктуации ДНК (дыхание), образование

крестообразных структур в палиндромных участках ДНК. Методы определения суперскрученности у микроорганизмов. Плазмидный метод, понятие о топоизомерах, титруемое число сверхвитков. Роль топологического состояния ДНК в регуляции генной экспрессии. Механизм регуляции посредством изменения спиральной закрутки нитей ДНК, влияние этого параметра на пространственную ориентацию -10 и -35 последовательностей промотора, роль спиральной закрутки в «узнавании» промоторов специфическими сигма-субъединицами РНК-полимеразы и формировании открытых промоторных комплексов. Регуляция генной экспрессии посредством изменения суперскрученности (третичной структуры) ДНК, роль за-петливания в физическом сближении удаленных последовательностей ДНК и регуляции взаимодействия энхансеров с промоторами (NtrC-зависимый энхансер *E. coli*). Сверхспирализация ДНК как системный регулятор транскрипции различных оперонов, его роль в объединении регуляторных сетей в модулон. Роль ДНК-гиразы в репликации бактериальной хромосомы, ее значение для продвижения репликативной вилки. Значение отрицательной суперскрученности ДНК в инициации репликации, ее роль в связывании белков инициации, образовании крестообразных структур в точке origin, образовании РНК-затравки. Затрата энергии сверхспирализации на процесс расхождения цепей ДНК в процессе элонгации репликации.

### **Тема 1. Роль топологии ДНК в контроле глобальной генной экспрессии.**

Особенности структуры ДНК бактериальной хромосомы, кольцевая ковалентно замкнутая молекула ДНК микроорганизмов. Доменная структура нуклеоида, его структурно-функциональная динамика. Понятие о суперскрученности ДНК, свойство отрицательной сверхспирализации природных ДНК, выделенных из живых объектов. Топологическое состояние ДНК как фактор функциональной интеграции регулонов в модулон, единую систему, согласованно реагирующую на изменение факторов среды с целью комплексной адаптации микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям среды, множественная устойчивость микроорганизмов к различным стрессовым факторам.

### **Тема 2. Свойства кольцевых ковалентно замкнутых молекул ДНК микроорганизмов**

Понятие о зацеплении комплементарных нитей ДНК в кольцевых ковалентно-замкнутых молекулах,  $Lk$ , его связь с числом витков двойной спирали ( $Tw$ ) и формой молекулы как целого ( $Wr$ ). Понятие о релаксированной и суперскрученной ДНК, отрицательная и положительная суперскрученность, их распространенность в живых объектах. Уравнение, описывающее соотношение параметров кольцевых ковалентно-замкнутых молекул ДНК:  $Lk = Tw + Wr$ . Взаимозависимость  $Tw$  и  $Wr$  при неизменном числе зацеплений полинуклеотидных цепей, изменение этих параметров при разрыве нитей ДНК и изменении числа зацеплений. Жесткость ДНК на скручивание и изгибание, понятие об энергии сверхспирализации, плотность сверхспирализации, соотношение локальной и общей сверхспирализации. Затраты энергии сверхспирализации на процессы, сопровождающиеся расхождением полинуклеотидных цепей ДНК, тепловые флуктуации ДНК (дыхание), образование крестообразных структур в палиндромных участках ДНК. Методы определения суперскрученности у микроорганизмов. Плазмидный метод, понятие о топоизомерах, титруемое число сверхвитков.

### **Тема 3. Топоизомеразы – ферменты регуляции топологических свойств ДНК**

Два класса топоизомераз, топоизомераза I, ( $\omega$  белок), закодированная в гене *topA* и топоизомераза III, закодированная в гене *topB*, механизм действия. ДНК-гираза, закодированная в генах *gyrA* и *gyrB*, и топоизомераза IV, закодированная в генах *parE* и *parC*, строение и механизм действия. Роль различных субъединиц гиразы в каталитическом процессе, ингибиторы, избирательно подавляющие активность каждой из субъединиц ДНК-гиразы, их роль в выяснении механизмов действия фермента. Факторы, влияющие на топологическое состояние ДНК, роль топоизомераз в формировании несдерживаемой суперскрученности ДНК, нуклеоидсвязывающие белки как факторы, формирующие сдерживаемую суперскрученность. Роль энергетического состояния клетки в регуляции активности топоизомераз,

аденилатный энергетический заряд как фактор, регулирующий уровень отрицательной суперскрученности ДНК. Понятие о топологическом гомеостазе, роль ДНК-гиразы и топоизомеразы I в его поддержании. Механизмы регуляции топологического гомеостаза, регуляция на уровне генной экспрессии и ферментативной активности.

#### **Тема 4. Влияние топологических свойств ДНК на основные функции клетки.**

Роль топологического состояния ДНК в регуляции генной экспрессии. Механизм регуляции посредством изменения спиральной закрутки нитей ДНК, влияние этого параметра на пространственную ориентацию -10 и -35 последовательностей промотора, роль спиральной закрутки в «узнавании» промоторов специфическими сигма-субединицами РНК-полимеразы и формировании открытых промоторных комплексов. Регуляция генной экспрессии посредством изменения суперскрученности (третичной структуры) ДНК, роль запетливания в физическом сближении удаленных последовательностей ДНК и регуляции взаимодействия энхансеров с промоторами (NtrC-зависимый энхансер *E. coli*). Сверхспирализация ДНК как системный регулятор транскрипции различных оперонов, его роль в объединении регуляторных сетей в модулон. Роль ДНК-гиразы в репликации бактериальной хромосомы, ее значение для продвижения репликативной вилки. Значение отрицательной суперскрученности ДНК в инициации репликации, ее роль в связывании белков инициации, образовании крестообразных структур в точке origin, образовании РНК-затравки. Затрата энергии сверхспирализации на процесс расхождения цепей ДНК в процессе элонгации репликации.

#### **Раздел V. Специфические механизмы защиты микробной клетки от основных видов стресса**

Стресс голодания, тепловой шок, осмотический шок, окислительный стресс, адаптация к стационарной фазе.

##### **Тема 1. Стресс голодания**

Основные виды стресса голодания. Понятие о специфических и неспецифических механизмах адаптации к стрессу голодания.

А) Неспецифические механизмы адаптации к стрессу голодания. Стринджент от-вет  
Феномен стринджент ответа, его фазы, физиологический смысл, биохимический механизм, стринджент-фактор, роль аминокислотного голодания и рибосом в формировании ответа.

Б) Голодание по источникам углерода и энергии. Катаболитная репрессия  
Основные классы углеводов по принципу преимущественного потребления микроорганизмами, роль ФТС системы транспорта в этом процессе. Понятие о катаболитной репрессии, ее механизм на примере lac-оперона. Индукция оперонов, участвующих в катаболизме углеводов как следствие истощения ФТС-сахаров, роль цАМФ и CAP-белка в этом процессе. Регуляция активности аденилатциклазы, механизм передачи сигнала, роль ФТС в регуляции активности аденилатциклазы.

##### **Тема 2. Тепловой шок**

Классификация микроорганизмов по отношению к температуре, температурный оптимум. Понятие о тепловом шоке, история вопроса, роль микроорганизмов в выяснении биохимических и генетических механизмов клеточной адаптации к тепловому шоку. Два регулона теплового шока у мезофила *E. coli*, роль альтернативных сигма-факторов ( $\sigma$ -32 и  $\sigma$ -24) в их формировании. Регулон умеренного теплового шока  $\sigma$ -32. Белки теплового шока, входящие в данный регулон, понятие о шаперонах и шаперонной машине (DnaK, DnaJ, GrpE; GroEL, GroES). Транскрипционные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции содержания  $\sigma$ -32 в клетке, роль  $\sigma$ -24, вторичной структуры groH мРНК и шаперонов в этом процессе. Механизмы функционирования шаперонов, специфические сигналы регуляции шаперонной активности. Регулон сильного теплового шока  $\sigma$ -24, его функции в поддержании структуры и функции



белков периплазматического пространства. Белки сильного теплового шока. Механизмы регуляции содержания  $\sigma$ -24 в клетке, роль сигналпроводящей системы CpxA/CpxR и антисигма-факторов RseA/RseB в этом процессе.

### **Тема 3. Осмотический шок**

Понятие об осмотическом и тургорном давлении, роль цитоплазматической мембраны и клеточной стенки в их формировании и регуляции. Понятие гипер- и гипоосмотического шока, их влияние на содержание цитоплазматической воды и объем клетки, плазмолиз, плазмолизис, фазы осмотического шока, основные физиологические закономерности адаптации. Понятие об осмолитах, совместимых веществах и осмопротекторах, их роль в осмотической адаптации клеток. Роль калия как первичного совместимого вещества в осмотической регуляции микроорганизмов. Основные системы транспорта калия у *E. coli*, (Trk, Kdp, Kup, KefB, KefC), их регуляция в условиях осмотического шока. Механизм осмотической регуляции транскрипции *kdp* регулона, роль двухкомпонентной сигнал проводящей системы KdpD/KdpE в этом процессе. Система регуляции пориновых каналов внешней мембраны грамотрицательных микроорганизмов (OmpC, OmpF) при осмотическом шоке, роль сигналпроводящей двухкомпонентной системы EnvZ/OmpR в этом процессе. Роль малой регуляторной РНК MicF в посттранскрипционной регуляции соотношения пориновых каналов во внешней мембране. Трегалоза как второй после калия осмолит *E. coli* на синтетической питательной среде. Системы синтеза и транспорта трегалозы (OtsAB, TreABC), их регуляция при осмотическом стрессе. ProU (ProVWX), ProP системы транспорта основных осмопротекторов (пролин, глицинбетаин, пролинбетаин), структура, механизмы ферментативной и транскрипционной регуляции. Роль RpoS регулона в осмотической регуляции *E. coli*.

### **Тема 4. Окислительный стресс**

Отношение микроорганизмов к кислороду. Токсичность активных форм кислорода и азота для микроорганизмов, понятие об окислительном стрессе. Пути образования активных форм кислорода в дыхательной цепи микроорганизмов, пороги толерантности для супероксидного радикала и перекиси водорода. Пути образования активных форм азота в фагоцитах. Типы повреждений основных биомолекул клетки, вызванных воздействием активных форм кислорода и азота на микроорганизмы. Редоксциклирующие антибиотики, механизм образования супероксидных радикалов. Повреждающее воздействие супероксидного радикала на железосерные центры дегидратаз, роль двухвалентного железа в цепи повреждающих эффектов. Транспорт железа, роль Fur репрессора в регуляции поступления железа при окислительном стрессе. Токсичность перекиси водорода, реакция Фентона, роль металлов переменной валентности в образовании свободных гидроксильных радикалов. Основные механизмы защиты микроорганизмов от активных форм кислорода, роль каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы, алкилгидропероксидредуктазы в этом процессе. Супероксиддисмутазы микроорганизмов, их типы, структура. Биосинтез и регуляция супероксиддисмутаз. Понятие о транскрипционных механизмах регуляции защитных реакций *E. coli* на окислительный стресс, регулоны OxyR и RpoS, основные механизмы регуляции. Основные белки окислительного стресса, характерные для этих систем защиты. Роль регуляции поринов в ограничении доступа активных форм кислорода в клетку, участие малой регуляторной РНК MicF в этом процессе. Основные классы антиоксидантов, регуляция редокс состояния клетки как механизм восстановления поврежденных белков, роль тиоредоксиновой и глутаредоксиновой систем в этом процессе. Индукция устойчивых изоферментов дегидратаз как средство защиты от окислительного повреждения супероксидными радикалами. Системы репарации повреждения ДНК, эндо- и экзонуклеазы, SOS система репарации. Роль rpoS-регулона *E. coli*, в защите от окислительного стресса.

### **Тема 5. Адаптация в стационарной фазе**

Множественная стрессовая устойчивость при переходе в стационарную фазу, роль регулона *groS* в ее развитии. Специфичность структуры  $\sigma^S$  промоторов, особенности  $-35$  последовательности, роль метаболических факторов в специфическом узнавании промоторов альтернативными сигма-факторами. Перекрывание регуляторных сетей регулона *groS* и регулонов осмотического шока и окислительного стресса. Роль  $\sigma^S$  в транскрипции генов осмотического стресса *otsA*, *otsB*, *osmY*, *osmB*, *osmC*. Зависимость специфичности узнавания промоторов  $\sigma^S$  генов осмотического шока от метаболитов цитоплазмы (глутамат калия). По-стратранскрипционная регуляция *RpoS*, роль вторичной структуры М-РНК *groS* в регуляции уровня трансляции, зависимость состояния вторичной структуры от нуклеотид-связывающих белков (*Hfq*, *HN-S*) и малых регуляторных РНК (*oxyS*, *dsrA*). Роль белка-регулятора ответа *RssB*, протеиназы *ClpPX* и шаперона *DnaK* в посттранскрипционном контроле стабильности  $\sigma^S$ . Участие  $\sigma^S$  в экспрессии генов окислительного стресса *katE*, *xthA*, экспрессируемых только в условиях стационарной фазы и голодания, и генов с двойной зависимостью от  $\sigma^S$  и  $\sigma^D$ , экспрессируемых исключительно во время экспоненциального роста (*oxyR*) регулон.

Самостоятельная работа студентов, предусмотренная учебным планом в объеме 31 час (Направление Биология 020200.62), способствует более глубокому усвоению изучаемого курса, формирует навыки исследовательской работы и ориентирует студентов на умение применять теоретические знания на практике.

Задания для самостоятельной работы предусмотрены по всем изучаемым разделам и темам с целью дополнительно проработать и проанализировать рассматриваемый преподавателем материал.

### **Итоговое занятие**

Итоговый контроль

## **6. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины**

Освоение дисциплины требует систематического изучения всех тем в той последовательности, в какой они указаны в рабочей программе.

Основными видами учебной работы являются аудиторские занятия. Их цель - расширить базовые знания обучающихся по осваиваемой дисциплине и систему теоретических ориентиров для последующего более глубокого освоения программного материала в ходе самостоятельной работы. Обучающемуся важно помнить, что контактная работа с преподавателем эффективно помогает ему овладеть программным материалом благодаря расстановке необходимых акцентов и удержанию внимания интонационными модуляциями голоса, а также подключением аудио-визуального механизма восприятия информации.

Самостоятельная работа преследует следующие цели:

- закрепление и совершенствование теоретических знаний, полученных на лекционных занятиях;
- формирование навыков подготовки текстовой составляющей информации учебного и научного назначения для размещения в различных информационных системах;
- совершенствование навыков поиска научных публикаций и образовательных ресурсов, размещенных в сети Интернет;
- самоконтроль освоения программного материала.

Обучающемуся необходимо помнить, что результаты самостоятельной работы контролируются преподавателем во время проведения мероприятий текущего контроля и учитываются при промежуточной аттестации.

Обучающимся с ОВЗ и инвалидов предоставляется возможность выбора форм проведения мероприятий текущего контроля, альтернативных формам, предусмотренным рабочей программой дисциплины. Предусматривается возможность увеличения в пределах 1 академического часа времени, отводимого на выполнение контрольных мероприятий.

Процедура оценивания результатов обучения инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья по дисциплине предусматривает предоставление информации в формах, адаптированных к ограничениям их здоровья и восприятия информации.

При проведении текущего контроля применяются оценочные средства, обеспечивающие передачу информации, от обучающегося к преподавателю, с учетом психофизиологических особенностей здоровья обучающихся.

## **7. Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы обучающихся по дисциплине**

При самостоятельной работе обучающимся следует использовать:

- конспекты лекций;
- литературу из перечня основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля);
- текст лекций на электронных носителях;
- ресурсы информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимые для освоения дисциплины;
- лицензионное и свободно распространяемое программное обеспечение из перечня информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине;
- методические указания для обучающихся по освоению дисциплины.

## 8. Перечень основной и дополнительной учебной литературы

### Основная:

1. Биохимия мембран/ред. А. А. Болдырев.-Москва:Высшая школа,1989.Кн. 6.Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии/В. П. Скулачев.-1989.-271, ISBN 5-06-000467-8.-Предм. указ.: с. 250-264. - Именной указ.: с. 265-267
2. Алешина, Е. С. Основные механизмы регуляции метаболизма микроорганизмов : учебное пособие / Е. С. Алешина, А. Н. Сизенцов. — Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2014. — 144 с. — ISBN 2227-8397. — Текст : электронный // Электронно-библиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. <http://www.iprbookshop.ru/33644>
3. Рубин, А.Б. Биофизика : учебник / Рубин А.Б. — Москва : КноРус, 2019. — 190 с. — (бакалавриат). — ISBN 978-5-406-06656-0. — URL: <https://book.ru/book/929965> (дата обращения: 03.09.2020). — Текст : электронный. <https://elis.psu.ru/node/619645>

### Дополнительная:

1. Микробиология. Часть 1. Прокариотическая клетка. Учебное пособие.-Москва:Прометей, Московский педагогический государственный университет,2013.Микробиология. Часть 1. Прокариотическая клетка/Куранова Н. Г..-2013.-108, ISBN 978-5-7042-2459-4 <http://www.iprbookshop.ru/24002>
2. Механизмы адаптации микроорганизмов к стрессу:методическое пособие для студентов биологического факультета/Министерство общего и профессионального образования РФ, Пермский государственный университет, Кафедра микробиологии и иммунологии.-Пермь,1999.-43.-Библиогр.: с. 43

## **9. Перечень ресурсов сети Интернет, необходимых для освоения дисциплины**

[www.iegm.ru](http://www.iegm.ru) Сайт Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов  
<https://www.fbras.ru/napravleniya-nauchnyx-issledovanij/zhurnaly/mikrobiologiya> Микробиология

## **10. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине**

Образовательный процесс по дисциплине **Физиология, биохимия и биоэнергетика микроорганизмов** предполагает использование следующего программного обеспечения и информационных справочных систем:

- презентационные материалы (слайды по темам лекционных и практических занятий);
- доступ в режиме on-line в Электронную библиотечную систему (ЭБС);
- доступ в электронную информационно-образовательную среду университета.

Перечень необходимого лицензионного и (или) свободно распространяемого программного обеспечения:

- 1) офисный пакет приложений (текстовый процессор, программа для подготовки электронных презентаций);
- 2) программа демонстрации видеоматериалов (проигрыватель);
- 3) приложение, позволяющее просматривать и воспроизводить медиаконтент PDF-файлов;
- 4) программы для просмотра и редактирования цифровых изображений;
- 5) программы для просмотра и редактирования DjVu-файлов.

Дисциплина не предусматривает использование специализированного программного обеспечения.

При освоении материала и выполнении заданий по дисциплине рекомендуется использование материалов, размещенных в Личных кабинетах обучающихся ЕТИС ПГНИУ ([student.psu.ru](http://student.psu.ru)).

При организации дистанционной работы и проведении занятий в режиме онлайн могут использоваться:

- система видеоконференцсвязи на основе платформы BigBlueButton (<https://bigbluebutton.org/>).
- система LMS Moodle (<http://e-learn.psu.ru/>), которая поддерживает возможность использования текстовых материалов и презентаций, аудио- и видеоконтент, а так же тесты, проверяемые задания, задания для совместной работы.
- система тестирования Indigo (<https://indigotech.ru/>).

## **11. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине**

Для проведения лекционных занятий необходима учебная аудитория, оснащенная специализированной мебелью, демонстрационным оборудованием (проектор, экран, компьютер/ноутбук) с соответствующим программным обеспечением, меловой (и) или маркерной доской.

Для проведения практических занятий необходима учебная аудитория, оснащенная специализированной мебелью, демонстрационным оборудованием (проектор, экран, компьютер/ноутбук) с соответствующим программным обеспечением, меловой (и) или маркерной доской.

Для самостоятельной работы необходимы помещения Научной библиотеки ПГНИУ. Помещения Научной библиотеки ПГНИУ, обеспечивают доступ к локальной и глобальной сетям.

Для проведения мероприятий текущего контроля и промежуточной аттестации, групповых и индивидуальных консультаций необходима учебная аудитория, оснащенная специализированной мебелью, демонстрационным оборудованием (проектор, экран, компьютер/ноутбук) с соответствующим программным обеспечением, меловой (и) или маркерной доской

Помещения научной библиотеки ПГНИУ для обеспечения самостоятельной работы обучающихся:

1. Научно-библиографический отдел, корп.1, ауд. 142. Оборудован 3 персональными компьютера с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

2. Читальный зал гуманитарной литературы, корп. 2, ауд. 418. Оборудован 7 персональными компьютерами с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

3. Читальный зал естественной литературы, корп.6, ауд. 107а. Оборудован 5 персональными компьютерами с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

4. Отдел иностранной литературы, корп.2 ауд. 207. Оборудован 1 персональным компьютером с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

5. Библиотека юридического факультета, корп.9, ауд. 4. Оборудована 11 персональными компьютерами с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

6. Читальный зал географического факультета, корп.8, ауд. 419. Оборудован 6 персональными компьютерами с доступом к локальной и глобальной компьютерным сетям.

Все компьютеры, установленные в помещениях научной библиотеки, оснащены следующим программным обеспечением:

Операционная система ALT Linux;

Офисный пакет Libreoffice.

Справочно-правовая система «КонсультантПлюс»

**Фонды оценочных средств для аттестации по дисциплине  
Физиология, биохимия и биоэнергетика микроорганизмов**

**Планируемые результаты обучения по дисциплине для формирования компетенции.  
Индикаторы и критерии их оценивания**

**ПК.1**

**Способен осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствии с направленностью (профилем) программы магистратуры выполнять эксперименты и оформлять результаты исследований и разработок**

<b>Индикатор</b>	<b>Планируемые результаты обучения</b>	<b>Критерии оценивания результатов обучения</b>
<p><b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании</p>	<p>Знать фундаментальные и прикладные аспекты физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Уметь получать и систематизировать знания о фундаментальных и прикладных аспектах физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Владеть методами определения стрессовых состояний микроорганизмов.</p>	<p align="center"><b>Неудовлетворител</b> Не знает фундаментальные и прикладные аспекты физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Не умеет получать и систематизировать знания о фундаментальных и прикладных аспектах физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Не владеет методами определения стрессовых состояний микроорганизмов.</p> <p align="center"><b>Удовлетворительн</b> Частично знает фундаментальные и прикладные аспекты физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Частично умеет систематизировать знания о фундаментальных и прикладных аспектах физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Не владеет методами определения стрессовых состояний микроорганизмов.</p> <p align="center"><b>Хорошо</b> Знает фундаментальные и прикладные аспекты физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Систематизирует знания о фундаментальных и прикладных аспектах физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Частично владеет методами определения стрессовых состояний микроорганизмов.</p> <p align="center"><b>Отлично</b> Знает фундаментальные и прикладные аспекты физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Умеет получать и систематизировать знания о</p>

<b>Индикатор</b>	<b>Планируемые результаты обучения</b>	<b>Критерии оценивания результатов обучения</b>
		<b>Отлично</b> фундаментальных и прикладных аспектах физиологии, биохимии и биоэнергетики микроорганизмов. Владеет методами определения стрессовых состояний микроорганизмов.



## Оценочные средства текущего контроля и промежуточной аттестации

Схема доставки : набор 2019

**Вид мероприятия промежуточной аттестации :** Зачет

**Способ проведения мероприятия промежуточной аттестации :** Оценка по дисциплине в рамках промежуточной аттестации определяется на основе баллов, набранных обучающимся на контрольных мероприятиях, проводимых в течение учебного периода.

**Максимальное количество баллов :** 100

### Конвертация баллов в отметки

«отлично» - от 81 до 100

«хорошо» - от 61 до 80

«удовлетворительно» - от 43 до 60

«неудовлетворительно» / «незачтено» менее 43 балла

Компетенция (индикатор)	Мероприятие текущего контроля	Контролируемые элементы результатов обучения
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Тема 3. Наследственный материал микробной клетки <b>Защищаемое контрольное мероприятие</b>	Знать наследственный материал микробной клетки
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Тема 2. Особенности катаболизма углеводов у микроорганизмов <b>Защищаемое контрольное мероприятие</b>	Знать особенности метаболизма микробной клетки
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Тема 5. Энергетическое сопряжение <b>Защищаемое контрольное мероприятие</b>	Знать особенности энергетического сопряжения у микроорганизмов

### Спецификация мероприятий текущего контроля

#### Тема 3. Наследственный материал микробной клетки

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы самостоятельной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **30**

Проходной балл: **13**

Показатели оценивания	Баллы
Активное участие в семинаре	10
Ответы на дополнительные вопросы по теме	10

Верные ответы на представленные вопросы	10
---	----

## Тема 2. Особенности катаболизма углеводов у микроорганизмов

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы аудиторной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **30**

Проходной балл: **13**

Показатели оценивания	Баллы
Подготовка презентации и доклада по представленным темам	10
Ответы на дополнительные вопросы к презентации	10
Раскрытие материала по теме презентации	10

## Тема 5. Энергетическое сопряжение

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы аудиторной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **40**

Проходной балл: **17**

Показатели оценивания	Баллы
Раскрытие материала по теме	20
Ответы на дополнительные вопросы по теме презентации	10
Подготовка презентации и доклада по представленным темам	10

**Вид мероприятия промежуточной аттестации :** Экзамен

**Способ проведения мероприятия промежуточной аттестации :** Оценка по дисциплине в рамках промежуточной аттестации определяется на основе баллов, набранных обучающимся на контрольных мероприятиях, проводимых в течение учебного периода.

**Максимальное количество баллов :** 100

### Конвертация баллов в отметки

«отлично» - от 81 до 100

«хорошо» - от 61 до 80

«удовлетворительно» - от 43 до 60

«неудовлетворительно» / «незачтено» менее 43 балла

Компетенция (индикатор)	Мероприятие текущего контроля	Контролируемые элементы результатов обучения
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Тема 3. Альтернативные механизмы восприятия факторов среды <b>Защищаемое контрольное мероприятие</b>	Знать альтернативные механизмы восприятия факторов среды

<b>Компетенция (индикатор)</b>	<b>Мероприятие текущего контроля</b>	<b>Контролируемые элементы результатов обучения</b>
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Тема 4. Влияние топологических свойств ДНК на основные функции клетки. <b>Защищаемое контрольное мероприятие</b>	Знать топологические свойства ДНК и их влияние на основные функции клетки
<b>ПК.1.2</b> применяет существующие методики и знания в области биологических наук в локальном исследовании	Итоговое занятие <b>Итоговое контрольное мероприятие</b>	Проверка знаний по основным разделам дисциплины

### **Спецификация мероприятий текущего контроля**

#### **Тема 3. Альтернативные механизмы восприятия факторов среды**

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы аудиторной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **30**

Проходной балл: **13**

<b>Показатели оценивания</b>	<b>Баллы</b>
Подготовка презентации и доклада по представленным темам	10
Ответы на дополнительные вопросы по теме презентации	10
Раскрытие материала по теме презентации	10

#### **Тема 4. Влияние топологических свойств ДНК на основные функции клетки.**

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы аудиторной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **30**

Проходной балл: **13**

<b>Показатели оценивания</b>	<b>Баллы</b>
Подготовка презентации и доклада по представленным темам	10
Ответы на дополнительные вопросы по теме презентации	10
Раскрытие материала по теме презентации	10

#### **Итоговое занятие**

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации: **1 часа**

Условия проведения мероприятия: **в часы аудиторной работы**

Максимальный балл, выставляемый за мероприятие промежуточной аттестации: **40**

Проходной балл: **17**

<b>Показатели оценивания</b>	<b>Баллы</b>
Ответы на вопросы по билетам. 2 вопроса в билете. Отличные знания основных разделов	40

дисциплины	
Ответы на вопросы по билетам.2 вопроса в билете. Знания основных разделов дисциплины допускающие некоторые неточности в ответах	25
Ответы на вопросы по билетам.2 вопроса в билете. Удовлетворительные знания основных разделов дисциплины	17
Ответы на вопросы по билетам.2 вопроса в билете. Неудовлетворительные знания основных разделов дисциплины	16