

Министерство образования Республики Беларусь

**Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»**

И. И. КОНЦЕВАЯ

Микробиология: метаболизм бактерий

**Практическое руководство
для студентов специальности 1-31 01 01-02
«Биология (научно-педагогическая деятельность)»**

**Чернигов
Издательство «Десна Полиграф»
2017**

УДК 579 (075.8)
ББК 28.4я73
К653

Рецензенты:

кандидат биологических наук, доцент И.В. Вуевская;
кандидат химических наук, доцент С.М. Пантелеева

Рекомендовано к изданию научно-методическим советом
учреждения образования «Гомельский государственный
университет имени Франциска Скорины»

Концевая, И. И.

К653 Микробиология: метаболизм бактерий. Практическое руководство
для студ. биологич. спец. вузов / И. И. Концевая; М-во образования
РБ, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины. – Чернигов: Десна
Полиграф, 2017. – 52 с.

Практическое руководство ставит своей целью оптимизировать учебно-познавательную деятельность студентов по усвоению материала тем раздела «Метаболизм бактерий». Студенты подробно знакомятся с материалами, касающимися аэробного дыхания, анаэробного дыхания, субстратного фосфорилирования, конструктивного метаболизма. Практическое руководство может быть использовано как на лабораторных занятиях по соответствующим темам курса «Микробиология», так и для самостоятельной подготовки.

Адресовано студентам биологического факультета.

УДК 579 (075.8)
ББК 28.4я73

© Концевая И. И., 2017
© УО «Гомельский государственный
университет имени Франциска Скорины», 2017

Содержание

Введение.....	4
Тема 1 Аэробное дыхание.....	5
Тема 2 Анаэробное дыхание.....	14
Тема 3 Субстратное фосфорилирование.....	27
Тема 4 Конструктивный метаболизм.....	40
Литература.....	49

Введение

Микробиология является одной из фундаментальных биологических дисциплин. Знание микробиологии необходимо высококвалифицированному специалисту-биологу для формирования мировоззрения об огромной роли микроорганизмов в природе и в жизни человека.

Для самостоятельной работы студентам предлагаются темы раздела «Метаболизм бактерий»: «Аэробное дыхание», «Анаэробное дыхание», «Субстратное фосфорилирование», «Конструктивный метаболизм». Представленный материал способствует расширению и углублению теоретических знаний у студентов.

Материал каждой темы начинается с плана, включает подробное изложение теоретической части и вопросы, которые можно использовать для текущего контроля усвоения знаний студентами, а также для самоконтроля.

Материалы теоретической части сопровождаются 17 рисунками и 1 таблицей. Используемый наглядный материал способствует более полному и глубокому пониманию биохимических процессов, происходящих в клетках бактерий.

Изложение материала построено в соответствии с программой курса.

Студенты, самостоятельно отработавшие материалы УСР, приобретают достаточную теоретическую подготовку и навыки, необходимые в практической работе и при выполнении экспериментальных исследований.

Целью практического руководства является оказание помощи студентам в овладении теоретическими основами микробиологии и выработке практических навыков работы с культурами микроорганизмов. Материал пособия делает процесс обучения более эффективным и способствует повышению его качества.

Практическое пособие адресовано студентам специальности 1–31 01 01-02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

Тема 1 Аэробное дыхание

- 1 Аэробное дыхание, цикл Кребса
- 2 Понятие о механизме окислительного фосфорилирования
- 3 Компоненты дыхательной цепи
- 4 Синтез молекул АТФ в дыхательной цепи бактерий

1 Аэробное дыхание, цикл Кребса

Аэробное дыхание – это основной процесс энергетического метаболизма многих прокариот, при котором донором водорода или электронов являются органические (реже неорганические) вещества, а конечным акцептором – молекулярный кислород. Основное количество энергии при аэробном дыхании образуется в электронтранспортной цепи, т. е. в результате **мембранного фосфорилирования**.

Рассмотрим схему *аэробного дыхания* (рисунок 1.1).

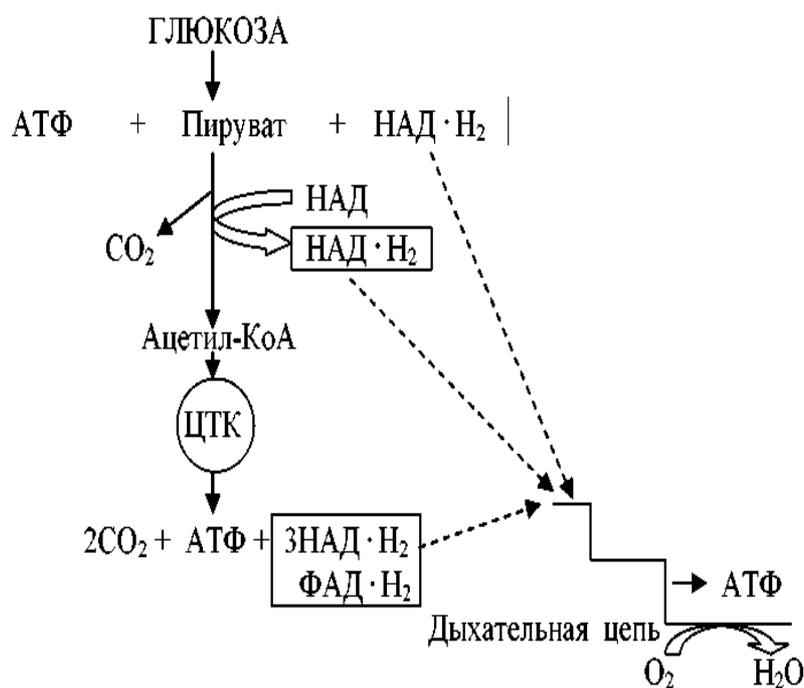
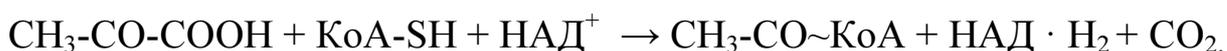


Рисунок 1.1 – Схема аэробного дыхания

Пировиноградная кислота, образующаяся в одном из трех путей катаболизма глюкозы, окисляется с участием коэнзима А до ацетил-КоА. В данном процессе работают ферменты пируватдегидрогеназы:



Ацетил-КоА является исходным субстратом цикла Кребса (ЦТК). В цикл Кребса включается одна молекула ацетил-КоА, которая в реакции с оксалоацетатом, катализируемой цитратсинтетазой, приводит к образованию лимонной кислоты и свободного коэнзима А. Лимонная кислота с помощью фермента аконитазы превращается в *цис*-акотиновую и изолимонную кислоты. Изолимонная кислота через щавелевоянтарную кислоту превращается в α -кетоглутаровую кислоту, которая подвергается дальнейшему декарбоксилированию.

В конечном итоге, окисление ацетил-КоА в ЦТК приводит к образованию (рисунок 1.2):

- двух молекул CO_2 ;
- одной молекулы АТФ;
- восьми атомов водорода, из которых шесть атомов связаны в молекулах пиридиннуклеотидов и два атома – в молекулах флавопротеинов.

Таким образом, **ЦТК** можно рассматривать как выработанный клеткой механизм, имеющий двойное назначение:

1) Основная функция его заключается в том, что это – совершенный клеточный «котел», в котором осуществляется полное окисление вовлекаемого в него органического субстрата и отщепление водорода.

2) Другая функция цикла – обеспечивает биосинтетические процессы клетки различными предшественниками, такими как оксалоацетат, сукцинат, α -кетоглутарат и др. Отсутствие этих кислот привело бы к нехватке оксалоацетата, который служит акцептором для ацетил-СоА и, тем самым, к нарушению цикла. Обычно ЦТК является дальнейшей «надстройкой» над анаэробными энергетическими механизмами клетки.

У некоторых бактерий ЦТК «разорван». Наиболее часто отсутствует этап превращения α -кетоглутаровой кислоты в янтарную. В таком виде ЦТК не может функционировать в системе энергодающих реакций клетки. **Основная функция «разорванного» ЦТК – биосинтетическая.**

Образовавшиеся на разных этапах окисления органических веществ восстановительные эквиваленты НАД · H_2 и ФАД · H_2 поступают в дыхательную цепь, которая у бактерий находится в цитоплазматической мембране, а у эукариот – в мембране митохондрий. В дыхательной цепи НАД · H_2 и ФАД · H_2 вновь окисляются до НАД и ФАД, а отщепившийся от них водород передается не менее чем через пять переносчиков на заключительный участок цепи, где соединяется с молекулярным кислородом, образуя воду (рисунок 2).

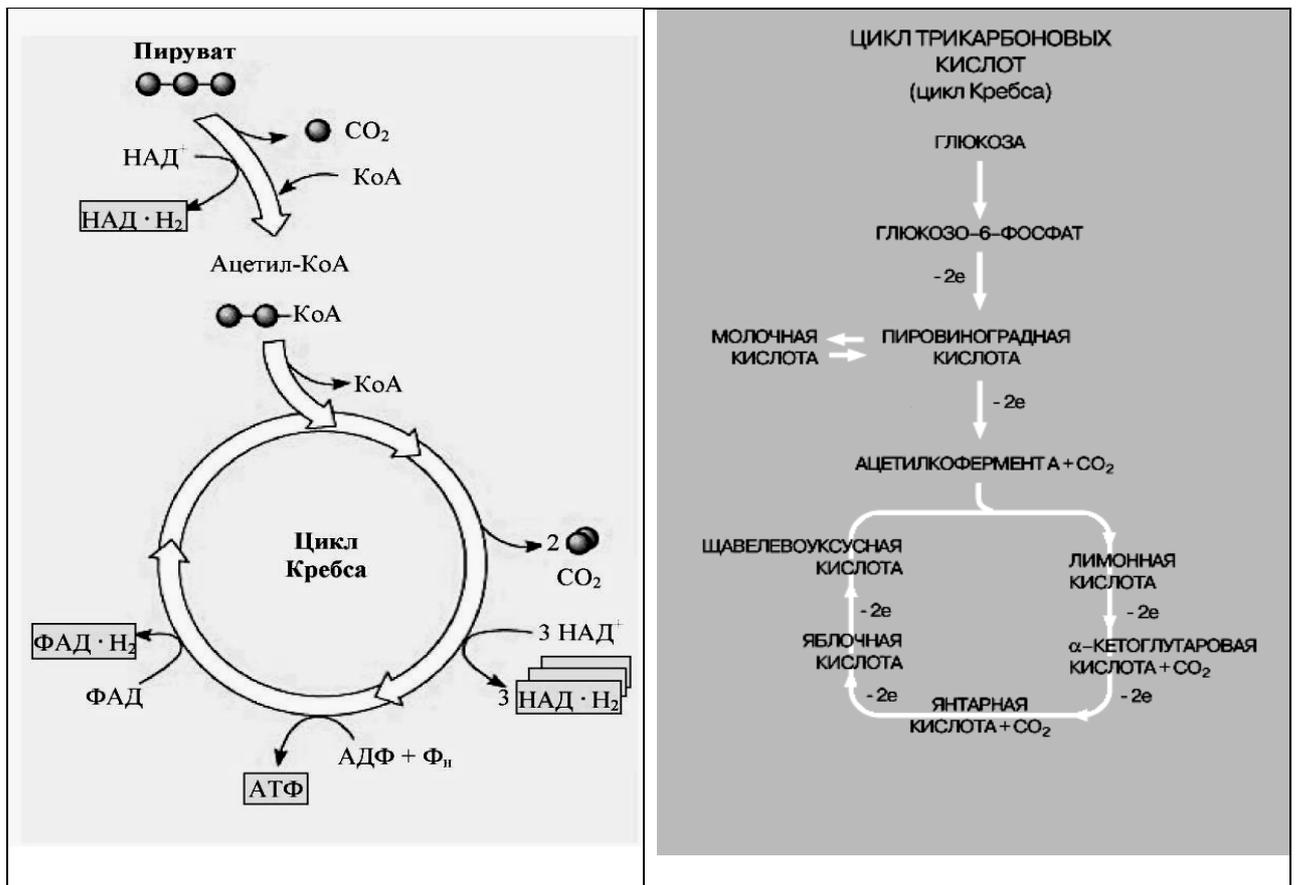


Рисунок 1.2 – Цикл Кребса (схема)

2 Понятие о механизме окислительного фосфорилирования

Транспорт водорода с участием компонентов дыхательной цепи сопровождается протеканием ряда окислительно-восстановительных реакций. В некоторых из них выделяется достаточно энергии для образования АТФ и такой процесс носит название **окислительного фосфорилирования**.

Аэробные прокариоты обладают особым аппаратом: **дыхательной (электрон-транспортной) цепью** и ферментом **АТФ-синтазой**; обе системы у прокариот находятся в плазматической мембране, а у эукариот – во внутренней мембране митохондрий. Ведущие свое происхождение от субстратов восстановительные эквиваленты (H⁺ или электроны) в этих мембранах поступают в дыхательную цепь, и электроны переносятся на O₂ (или другие терминальные акцепторы электронов). В дыхательной цепи происходят реакции, представляющие собой биохимический аналог сгорания водорода. От химического горения молекулярного водорода они отличаются тем, что значительная часть свободной энергии переводится при этом в биологически доступную форму, в АТФ, небольшая доля рассеивается в виде тепла.

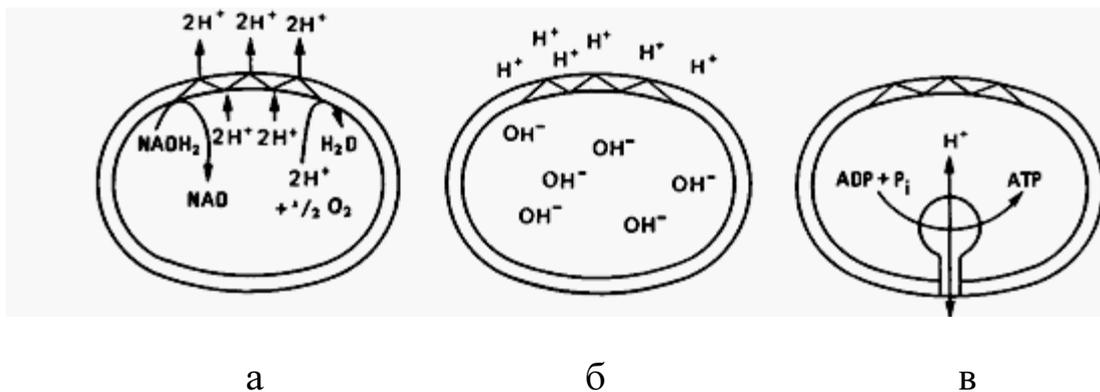


Рисунок 1.3 – Схема окислительного фосфорилирования в плазматической мембране бактериальной клетки: а – окисление NADH_2 и выведение протонов; б – электрохимический градиент между внутренней и наружной сторонами; в – регенерация АТФ как следствие обратного тока протонов

Механизм окислительного фосфорилирования. Отданные субстратами восстановительные эквиваленты (протоны и электроны) переносятся на плазматическую мембрану бактерий или на внутреннюю мембрану митохондрий эукариот. Через мембрану они транспортируются таким образом, что между внутренней и внешней стороной мембраны создается электрохимический градиент с положительным потенциалом снаружи и отрицательным внутри. Этот перепад заряда возникает благодаря определенному расположению компонентов дыхательной цепи в мембране (рисунок 1.3).

Некоторые из этих компонентов переносят электроны, другие переносят водород. Взаиморасположение переносчиков в мембране таково, что при транспорте электронов от субстрата к кислороду протоны (H^+) связываются на внутренней стороне мембраны, а освобождаются на внешней. Можно представить себе, что электроны в мембране проходят зигзагообразный путь и при этом переносят протоны изнутри наружу. Эта система, транспортирующая электроны и протоны, получила название **дыхательной** или **электрон-транспортной цепи**. Ее образно называют «**протонным насосом**», так как главная функция этой системы – перекачивание протонов.

Неравновесное распределение зарядов, т.е. электрохимический градиент, служит движущей силой для процесса регенерации АТФ (и других процессов, требующих затраты энергии). Мембрана содержит специальный фермент АТФ-синтазу, который катализирует превращение АТФ из АДФ и фосфорной кислоты. Этот фермент поступает из мембраны с ее внутренней стороны. А в процессе синтеза АТФ протоны переходят обратно с наружной стороны мембраны на внутреннюю. **Синтез АТФ за счет энергии транспорта электронов**

через мембрану называют окислительным фосфорилированием в дыхательной цепи.

Для того чтобы понять механизм аэробного дыхания, необходимо знать: 1) компоненты дыхательной цепи; 2) их окислительно-восстановительные потенциалы; 3) их взаиморасположение в мембране.

3 Компоненты дыхательной цепи

Компонентами дыхательной цепи являются ферментные белки с относительно прочно связанными низкомолекулярными простетическими группами. Такие комплексы у эукариот локализуются во внутренней стороне мембраны митохондрий, а у прокариот – в плазматической мембране. Механизм действия и локализация компонентов дыхательной цепи в тех и других мембранах во многом сходны.

Компоненты дыхательной цепи погружены в двойной липидный слой. Речь идет о большом числе ферментов, коферментов и простетических групп, различных дегидрогеназ и транспортных систем, участвующих в переносе электронов и водорода. Белковые компоненты могут быть выделены из мембраны. *Аэробное дыхание* – это основной процесс энергетического метаболизма многих прокариот, при котором донором водорода или электронов являются органические (реже неорганические) вещества, а конечным акцептором – молекулярный кислород. Основное количество энергии при аэробном дыхании образуется в электронтранспортной цепи, т. е. в результате **мембранного фосфорилирования**.

Флавопротеины – коферменты, в состав которых входит витамин В₂, а в качестве простетических групп в них выступают флавинмононуклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД).

Флавопротеины осуществляют перенос атомов водорода, т. е. являются дегидрогеназами. Дегидрогеназа, которая содержит в качестве простетической группы ФМН, является НАДФ · Н₂-дегидрогеназой. Это стартовый переносчик в дыхательной цепи, осуществляющий перенос водорода с НАДФ · Н₂ на следующие компоненты дыхательной цепи. Дегидрогеназа, содержащаяся в качестве простетической группы ФАД, действует как сукцинатдегидрогеназа. Она катализирует окисление янтарной кислоты в фумаровую в ЦТК. Атомы водорода от ФАД · Н₂ поступают сразу на хиноны, локализованные на последних этапах электронтранспортной цепи.

Железосерные белки (FeS-белки) содержат железосероцентры, в которых атомы железа связаны, с одной стороны, с серой аминокислоты цистеина, с другой – с неорганической сульфидной серой (рисунок 1.4).

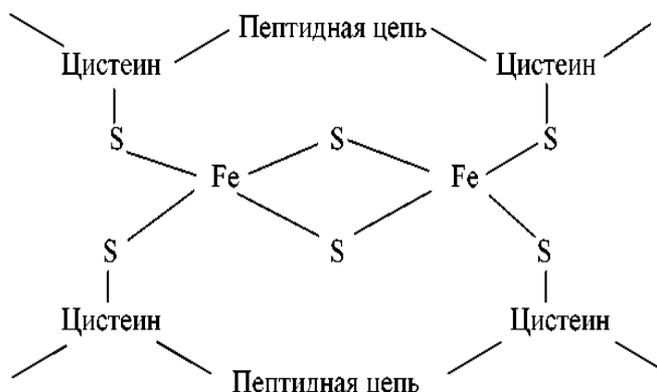


Рисунок 1.4 – Железосероцентры (FeS-центры) белков

Железосероцентры входят в состав некоторых флавопротеинов (например, сукцинатдегидрогеназы и НАДФ · Н₂-дегидрогеназы), или же служат в качестве единственных простетических групп белков. Дыхательные цепи содержат большое число FeS-центров. Железосероцентры, в зависимости от строения, могут осуществлять одновременный перенос одного или двух электронов, что связано с изменением валентности атомов железа.

Хиноны – жирорастворимые соединения. У грамотрицательных бактерий они представлены убихиноном (кофермент Q) или менахином (рисунок 1.5).

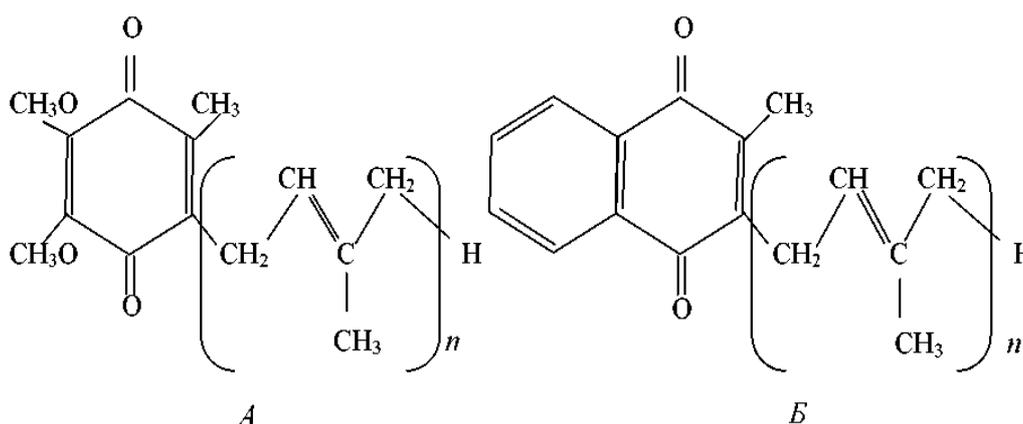


Рисунок 1.5 – Хиноны грамотрицательных бактерий:

А – кофермент Q (убихинон); Б – менахинон

Хиноны липофильны и поэтому локализуются в липидной фазе мембраны. Они переносят атомы водорода. По сравнению с другими

компонентами дыхательной цепи, хиноны содержатся в 10–15-кратном избытке. Они служат «сборщиками» водорода, поставляемого различными коферментами и простетическими группами в дыхательной цепи, и передают его цитохромам. Таким образом, они функционируют в дыхательной цепи на участке между флавопротеинами и цитохромами.

Цитохромы принимают участие на заключительном этапе в цепи переноса электронов. К ним электроны поступают от хинонов. В качестве простетической группы цитохромы содержат гем. Цитохромы окрашены; они отличаются друг от друга спектрами поглощения и окислительно-восстановительными потенциалами. Различают цитохромы *a*, *a*₃, *b*, *c*, *o* и ряд других. Наиболее распространен цитохром *c*. Он найден почти у всех организмов, обладающих дыхательной цепью. Конечные (терминальные) цитохромы дыхательной цепи – это цитохромы *a* + *a*₃ или цитохромоксидаза. Они передают электроны на молекулярный кислород, т. е. катализируют восстановление молекулярного кислорода до воды. В реакционном центре цитохромоксидазы, помимо двух гемов, содержатся два атома меди.

Дыхательная цепь имеет следующие особенности:

1) одни ее компоненты переносят только атомы водорода, а другие – только электроны.

2) Причем переносчики атомов водорода и переносчики электронов последовательно чередуются в дыхательной цепи. Флавопротеины и хиноны осуществляют перенос атомов водорода, а FeS-белки и цитохромы – электронов.

3) В составе дыхательных цепей у микроорганизмов выявлены определенные различия.

4 Синтез молекул АТФ в дыхательной цепи бактерий

Дыхательная цепь бактерий *E. coli* по своему составу отличается от дыхательной цепи митохондрий дрожжей (рисунок 1.6):

- в нее не входит цитохром *c*;
- дыхательная цепь у *E. coli* разветвлена.

В клетках, растущих в условиях достаточной аэрации, восстановительные эквиваленты передаются к кислороду преимущественно через кофермент Q, цитохром *b*₅₅₆ и цитохром *o*. При ограниченном снабжении кислородом клетки используют в качестве переносчиков электронов менахинон или убихинон и цитохромы *b*₅₅₈ и *d*. В последнем случае образуется меньшее количество АТФ.

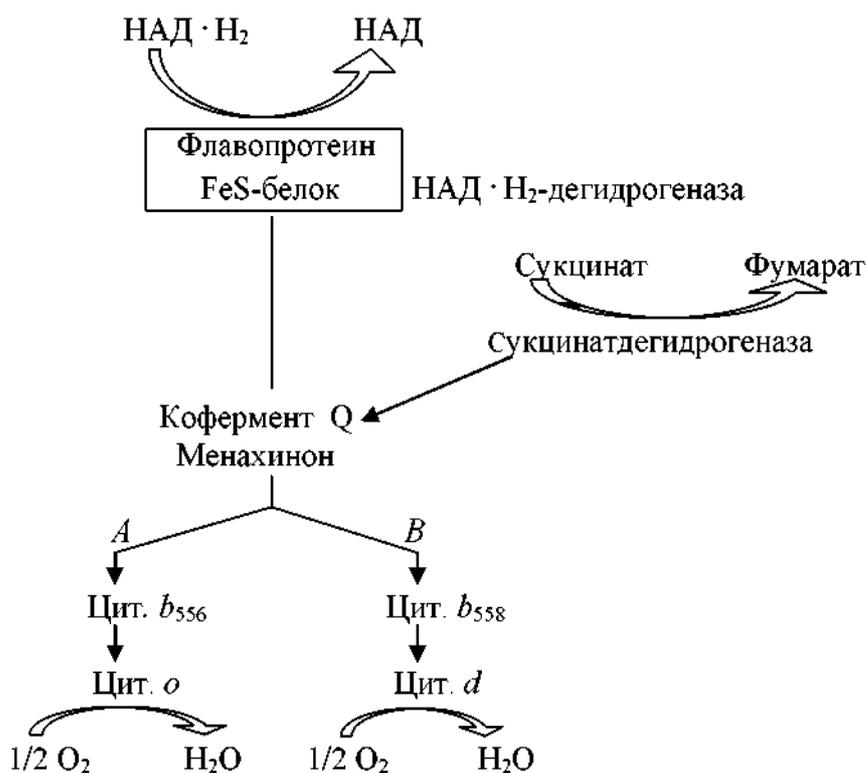


Рисунок 1.6 – Компоненты дыхательной цепи бактерий *E. coli*:
 А – путь при росте в аэробных условиях; В – путь при росте с ограниченным снабжением кислородом

Синтез молекул АТФ рассмотрим на **примере бактерий *E. coli***. Как видно из рисунка б, в дыхательной цепи этих бактерий имеются два пункта, в которых происходит «выброс» протонов. Следовательно, при окислении одной молекулы НАД · Н₂ образуются только две молекулы АТФ, а при окислении молекулы ФАД · Н₂ – одна молекула АТФ.

Таким образом, при аэробном дыхании у бактерий *E. coli*, когда катаболизм глюкозы происходит гликолитическим путем, образуется 26 молекул АТФ:

- две молекулы АТФ синтезируются в гликолизе;
- две молекулы АТФ синтезируются в двух оборотах цикла Кребса;
- 10 молекул НАД · Н₂ приводят к синтезу 20 молекул АТФ;
- две молекулы ФАД · Н₂ приводят к синтезу двух молекул АТФ.

У других прокариот, таких как *Corynebacterium diphtheriae*, в дыхательной цепи имеется только один пункт «выброса» протонов. У *Mycobacterium phlei* – три, как в дыхательной цепи митохондрий дрожжей. Из этого можно сделать вывод, что дыхательные цепи различных бактерий существенно различаются и они в основном значительно менее энергетически эффективны.

Вопросы для самоконтроля

- 1 Охарактеризуйте аэробное дыхание у бактерий.
- 2 Охарактеризуйте цикл Кребса, его функции.
- 3 Дайте общую характеристику механизму окислительного фосфорилирования.
- 4 Охарактеризуйте компоненты дыхательной цепи, их состав, локализацию в клетке, функции.
- 5 Перечислите особенности дыхательной цепи у бактерий.
- 6 Охарактеризуйте синтез молекул АТФ в дыхательной цепи бактерий.
- 7 Выведите суммарный энергетический выход аэробного дыхания при катаболизме глюкозы у бактерий *E. coli*.

Тема 2 Анаэробное дыхание

- 1 Определение понятия «анаэробное дыхание»
- 2 Нитратное дыхание, распространение и роль денитрифицирующих бактерий в природе
- 3 Сульфатное дыхание; биологические свойства, распространение и значение сульфатвосстанавливающих бактерий
- 4 Карбонатное дыхание; биологические свойства, экология и роль в природе метанобразующих бактерий
- 5 Фумаратное дыхание, сукциногенные бактерии

1 Определение понятия «анаэробное дыхание»

Анаэробное дыхание – цепь анаэробных окислительно-восстановительных реакций, которые сводятся к окислению органического или неорганического субстрата с использованием в качестве конечного акцептора электронов не молекулярного кислорода, а других неорганических веществ (нитрата – NO_3^- , нитрита – NO_2^- , сульфата – SO_4^{2-} , сульфита – SO_3^{2-} , CO_2 и др.), а также органических веществ (фумарата и др.). Молекулы АТФ в процессе анаэробного дыхания образуются в основном в электронтранспортной цепи, т. е. в результате реакций мембранного фосфорилирования, но в меньшем количестве, чем при аэробном дыхании.

При анаэробном дыхании конечным акцептором электронов в электронтранспортной цепи являются неорганические или органические соединения. Например, если конечным акцептором электронов является SO_4^{2-} , то процесс называют **сульфатным дыханием**, а бактерии – **сульфатвосстанавливающими** или **сульфатредуцирующими**. В том случае, если конечным акцептором электронов служит NO_3^- или NO_2^- , то процесс называется **нитратным дыханием** или **денитрификацией**, а бактерии, осуществляющие этот процесс, – **денитрифицирующими**. В качестве конечного акцептора электронов может выступать CO_2 . Процесс соответственно называют **карбонатным дыханием**, а бактерии – **метаногенными (метанобразующими)**. Одним из немногих примеров, когда конечным акцептором служит органическое вещество, является **фумаратное дыхание**.

Основные особенности бактерий, способных к анаэробному дыханию:

1) Имеют укороченные электронтранспортные, или дыхательные, цепи, т. е. они не содержат всех переносчиков, характерных для дыхательных цепей, функционирующих в аэробных условиях.

2) В дыхательных цепях анаэробов цитохромоксидаза заменена соответствующими редуктазами.

3) У строгих анаэробов не функционирует цикл Кребса или же он разорван и выполняет только биосинтетические, но не энергетические функции.

4) Основное количество молекул АТФ при анаэробном дыхании синтезируется в процессе мембранного фосфорилирования.

5) По отношению к молекулярному кислороду бактерии, осуществляющие анаэробное дыхание, являются факультативными или облигатными анаэробами. К облигатным анаэробам относятся сульфатвосстанавливающие и метаногенные бактерии. К факультативным анаэробам – денитрифицирующие бактерии и бактерии, осуществляющие фумаратное дыхание. Факультативные анаэробы могут переключать свой энергетический метаболизм с аэробного дыхания в присутствии в среде молекулярного кислорода на анаэробное дыхание в отсутствии молекулярного кислорода.

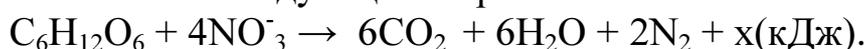
6) Выход АТФ при анаэробном дыхании меньше, чем при аэробном, но больше, чем при брожении.

Рассмотрим примеры некоторых основных типов анаэробного дыхания.

2 Нитратное дыхание, распространение и роль денитрифицирующих бактерий в природе

Как уже упоминалось, конечными акцепторами электронов при нитратном дыхании являются нитраты (NO_3^-) или нитриты (NO_2^-). Результатом нитратного дыхания является восстановление NO_3^- или NO_2^- до газообразных продуктов (NO , N_2O или N_2). **К денитрификации** (как и к ряду других процессов азотного цикла) способны только бактерии, у эукариот эти реакции не происходят.

Суммарную реакцию нитратного дыхания, где окисляемым субстратом является глюкоза, а конечным акцептором электронов – нитраты, можно записать следующим образом:

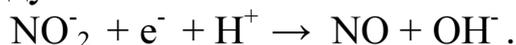


Полный процесс денитрификации состоит из четырех реакций восстановления, каждая из которых катализируется специфическими мембраносвязанными редуكتазами.

Первый этап: восстановление нитрата до нитрита, катализируют молибденсодержащие ферменты нитратредуктазы:

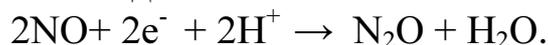


Второй этап: восстановление нитрита до оксида азота, катализируют нитритредуктазы:



Нитрат- и нитритредуктазы очень чувствительны к молекулярному кислороду, который ингибирует их активность, а также репрессирует синтез. Соответственно данные реакции (восстановление нитрата до нитрита и восстановление нитрита до оксида азота) могут протекать только в том случае, когда кислород полностью отсутствует или когда его концентрация незначительна.

Третий этап: восстановление оксида азота до закиси азота, катализируют редуктазы оксида азота:



Четвертый этап: восстановление закиси азота в молекулярный азот, катализируют редуктазы закиси азота:



У денитрифицирующих бактерий, которые являются факультативными анаэробами, функционирует полная электронтранспортная цепь в случае аэробного дыхания, *при наличии O₂ в среде*, и укороченная – при анаэробном дыхании, *при отсутствии O₂ в среде*.

Электронтранспортные цепи бактерий-денитрификаторов в анаэробных условиях содержат все основные типы связанных с мембранами переносчиков: флавопротеины, хиноны, цитохромы *b* и *c*. Цитохромоксидазы в этих условиях не синтезируются, а их функции выполняют редуктазы (нитратредуктазы, нитритредуктазы, редуктазы оксида, закиси азота).

Установлено, что нитратредуктазы связаны с дыхательной цепью на уровне цитохрома *b*, а нитритредуктазы и редуктазы оксида азота и закиси азота на уровне цитохрома *c*. Процесс полной денитрификации, когда происходит восстановление NO₃⁻ до N₂, транспорт электронов в

дыхательной цепи можно представить следующим образом (рисунок 2. 1).

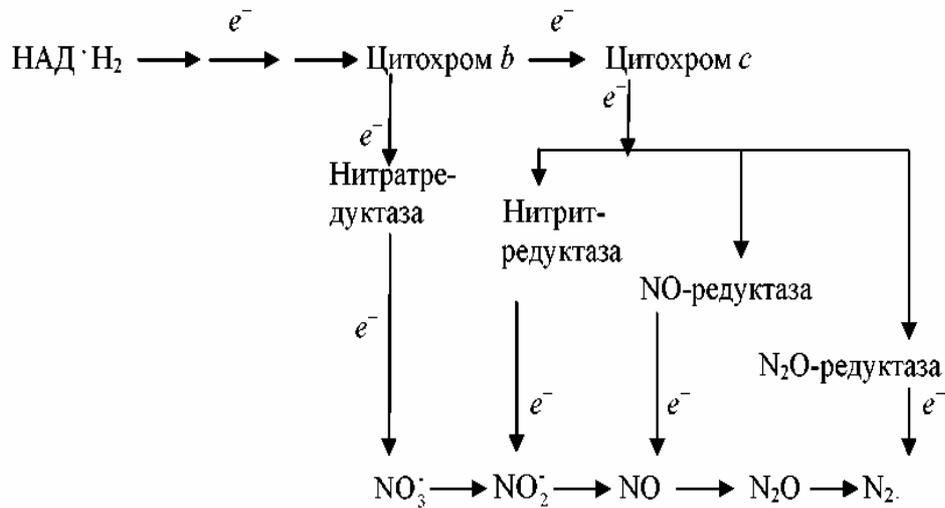
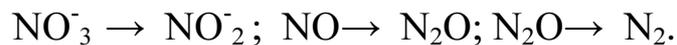


Рисунок 2.1 – Транспорт электронов в процессе денитрификации

Количество синтезируемых молекул АТФ зависит от строения дыхательной цепи, наличия и свойств соответствующих редуктаз. При «полной» денитрификации энергии запасается в большем количестве, чем при «усеченной», когда осуществляются только отдельные этапы этого процесса:



Схематично нитратное дыхание при окислении глюкозы можно представить следующим образом (рисунок 2.2).

Распространение и роль денитрифицирующих бактерий

Денитрифицирующие бактерии широко распространены в природе. Они принадлежат ко всем основным физиологическим группам: фототрофным, хемолитотрофным, грамположительным и грамотрицательным факультативным анаэробам. Однако в большей степени способность к денитрификации распространена у бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Денитрифицирующие бактерии – это обитатели пресных и морских водоемов, почв разного типа, хотя процесс денитрификации у них происходит только в анаэробных условиях, т. е. когда содержание кислорода падает ниже 0,2 %. Процесс денитрификации считается вредным для сельского хозяйства, так как доступные для растений

нитраты превращаются в недоступный для них молекулярный азот, что приводит к обеднению почвы азотом. Тем не менее, денитрифицирующие бактерии являются важным звеном в круговороте азота в природе, обогащаям атмосферу молекулярным азотом. Кроме того, эти бактерии играют положительную роль в очистке подземных вод и почв от накопившихся в результате деятельности человека (внесение высоких доз удобрений, промышленные стоки) нитратов и нитритов, которые в больших концентрациях токсичны для живых организмов. В связи с этим денитрифицирующие бактерии используют для очистки сточных вод от нитратов.

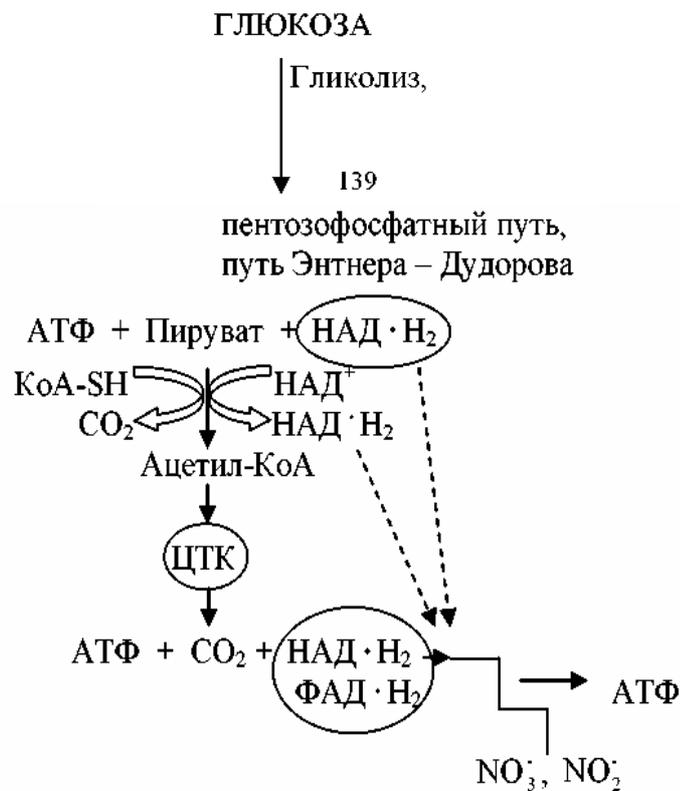


Рисунок 2.2 – Схема нитратного дыхания

3 Сульфатное дыхание; биологические свойства, распространение и значение сульфатвосстанавливающих бактерий

Сульфатное дыхание – это процесс окисления в анаэробных условиях субстрата (органических соединений или молекулярного водорода), при котором в качестве конечного акцептора электронов выступает сульфат (SO_4^{2-}), в результате чего происходит его восстановление до H_2S . Бактерии, осуществляющие этот процесс,

получили название **сульфатовосстанавливающих** или **сульфатредуцирующих**.

Биологические свойства сульфатовосстанавливающих бактерий:

1) Строгие анаэробы.

2) Разнообразны по морфологическим, физиологическим и биохимическим признакам.

3) В настоящее время в состав группы сульфатовосстанавливающих бактерий входит более 40 видов.

4) Практически все сульфатовосстанавливающие бактерии, за исключением представителей двух родов (*Desulfotomaculum* и *Desulfosarcina*), имеют клеточную стенку грамотрицательного типа.

5) Среди них есть и одноклеточные, и нитчатые формы. К одноклеточным бактериям относятся представители родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*. Нитчатые формы, для которых характерен скользящий тип движения, представлены бактериями рода *Desulfonema*.

В качестве источника углерода и энергии сульфатовосстанавливающие бактерии используют, главным образом, органические кислоты, в первую очередь пируват и лактат. Некоторые виды могут потреблять также сукцинат, фумарат, малат, другие органические соединения. У видов *Desulfonema limicola* и *Desulfosarcina variabilis* обнаружена способность к автотрофии. Эти бактерии используют в качестве источника углерода – CO_2 , в качестве источника энергии – молекулярный водород, а в качестве конечного акцептора электронов – SO_4^{2-} .

6) Сульфатовосстанавливающие бактерии могут получать энергию для роста разными способами. Некоторые виды растут на средах с органическими субстратами без сульфатов. В этом случае единственным источником энергии служит процесс брожения, при котором АТФ синтезируется в реакциях субстратного фосфорилирования. Основными субстратами являются пируват, лактат, этанол, при сбраживании которых выделяется молекулярный водород. Однако специфическим способом получения энергии, послужившим основанием для выделения ряда прокариот в отдельную физиологическую группу – группу сульфатовосстанавливающих бактерий, является сульфатное дыхание.

Получение энергии в результате сульфатного дыхания состоит из трех этапов:

1 отрыва электронов от энергетического субстрата;

2 переноса их по дыхательной цепи;

3 присоединения их к веществам, функционирующим в качестве конечных акцепторов электронов.

(1) Этап отрыва электронов от энергетических субстратов катализируют различные субстратные ферменты (лактат-, пируват-, этанолдегидрогеназы) и гидрогеназы. С их помощью электроны передаются сразу в дыхательную цепь. Сульфатвосстанавливающие бактерии содержат ферменты реакций цикла Кребса, но этот цикл «разорван» (строгие анаэробы) и функционирует только в условиях конструктивного метаболизма.

(2) В качестве компонентов дыхательной цепи у сульфатвосстанавливающих бактерий идентифицированы флавопротеины, FeS-белки (ферредоксин, рубредоксин), хиноны (типа менахинона), цитохромы *b* и *c*. Особенностью дыхательной цепи многих сульфатвосстанавливающих бактерий является высокое содержание цитохрома *c3*. Точная локализация компонентов, их последовательность в дыхательной цепи пока достоверно не установлены. Однако установлено, что окисление, в частности H_2 , происходит на наружной стороне мембраны, а реакции восстановления SO_4^{2-} – на внутренней. Перенос электронов по дыхательной цепи сопровождается возникновением электрохимического градиента с последующим генерированием энергии в молекулах АТФ.

(3) Последний этап, который заключается в акцептировании сульфатом электронов с помощью нескольких редуктаз, называется ***собственно диссимиляционной сульфатредукцией***.

У некоторых микроорганизмов, использующих в качестве источника серы сульфаты (при выращивании бактерий на среде, где источником серы служат сульфаты), происходит ***ассимиляционная сульфатредукция***. При этом происходит восстановление сульфата до сульфида, который затем идет на синтез серосодержащих аминокислот (цистин, цистеин, метионин). Основные отличия диссимиляционной сульфатредукции от ассимиляционной сводятся к следующему:

– диссимиляционное восстановление сульфата присуще только узкому кругу высокоспециализированных прокариотических организмов;

– активность процессов диссимиляционной сульфатредукции намного выше, чем ассимиляционных, следствием чего является накопление в среде больших количеств H_2S ;

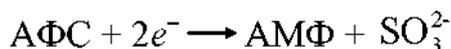
– механизмы обоих процессов различны.

Рассмотрим **химизм диссимиляционной сульфатредукции**.

Восстановление сульфата начинается с его активирования с участием АТФ в реакции, катализируемой АТФ-зависимой сульфурилазой:



В результате этой реакции образуется аденозинфосфосульфат (АФС) и пирофосфат (ФФ), последний расщепляется пирофосфатазой. Аденозинфосфосульфат с помощью аденозинфосфосульфатредуктазы восстанавливается до сульфита, что сопровождается образованием АМФ аденозинмонофосфата):

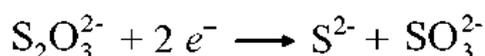
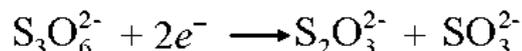
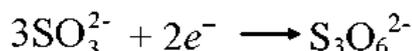


Восстановление сульфита (SO_3^{2-}) до сульфида (S^{2-}) отличается у разных видов бактерий:

в первом случае сульфит с помощью сульфитредуктазы прямо восстанавливается до сульфида:



– в случае второго механизма происходит последовательное трехступенчатое восстановление сульфита с образованием промежуточных продуктов, таких как тритионат и тиосульфат, при участии сульфит-, тритионат- и тиосульфатредуктазы:



Распространение и значение сульфатвосстанавливающих бактерий:

Сульфатвосстанавливающие бактерии распространены в анаэробных зонах водоемов разного типа, почвах и пищеварительном тракте животных. Наиболее интенсивно восстановление сульфатов происходит в соленых озерах и морских лиманах, где почти нет циркуляции воды и содержится много сульфатов, вызывая замор рыбы.

Сульфатвосстанавливающие бактерии участвуют в биологическом круговороте серы в природе. Являясь основными продуцентами сероводорода, они могут приносить вред, вызывая коррозию металлических труб и других подводных и подземных сооружений:



4 Карбонатное дыхание; биологические свойства, экология и роль в природе метанобразующих бактерий

Карбонатное дыхание – процесс окисления молекулярного водорода, при котором конечным акцептором электронов является CO_2 . Бактерии, осуществляющие этот процесс, называются **метаногенными**. Метаногенные бактерии объединены в одну группу на основании двух общих для всех ее представителей свойств: строгий анаэробизм и способность образовывать метан.

Отличительные особенности метаногенных бактерий:

1 Имеют необычный химический состав клеточных стенок. Они не содержат ни ацетилмурамовой кислоты, ни D-аминокислот. У этой группы прокариот описаны клеточные стенки трех типов:

- состоящие из пептидогликана особого химического строения, получившего название псевдомуреин;
- построенные из белковых глобул;
- клеточные стенки гетерополисахаридной природы.

Цитоплазматическая мембрана этих бактерий содержит липиды, представленные простыми эфирами глицерина и терпеноидных спиртов. Сложных эфиров, состоящих из глицерина и жирных кислот, у них не обнаружено.

2 Другой особенностью метаногенных бактерий является то, что механизм трансляции у них нечувствителен к антибиотикам, подавляющим синтез белка у других прокариот.

На основании этих, а также других отличительных признаков и в соответствии с современной классификацией **метаногенные бактерии относят к классу архебактерий**.

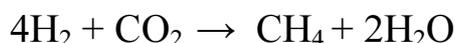
В настоящее время к метаногенным бактериям относятся бактерии более 40 видов. Они объединены в 13 родов, сгруппированы в 6 семейств и 3 порядка. Среди метаногенных бактерий встречаются прямые или изогнутые палочки разной длины; клетки неправильной или извитой формы. У некоторых видов обнаружена тенденция формировать нити или пакеты клеток. Клетки могут быть неподвижными или передвигающимися с помощью перитрихально или полярно расположенных жгутиков. Обнаружены виды, образующие споры.

Большинство метаногенных бактерий имеет температурный оптимум для роста в области 35–40 °С, но есть виды, у которых он сдвинут в сторону более низких (20–25 °С) или высоких (65–70 °С) температур.

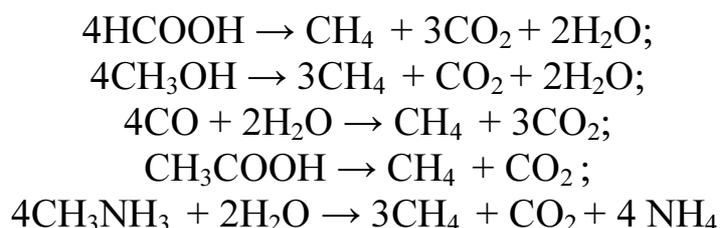
В качестве источника азота метаногенные бактерии используют аммонийный азот или некоторые аминокислоты. Источником серы могут служить сульфаты, сульфиды или серосодержащие аминокислоты.

В качестве источников углерода для биосинтетических целей метаногенные бактерии используют узкий круг соединений. Около половины изученных видов не нуждаются для роста в каких-либо органических соединениях. Они способны расти на синтетических средах, содержащих молекулярный водород и CO_2 . При этом CO_2 служит не только для акцептирования электронов при окислении H_2 , но и единственным источником углерода. У таких автотрофных штаммов ассимиляция CO_2 происходит без участия фермента рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы – ключевого фермента цикла Кальвина. Представители этой группы бактерий ассимилируют молекулы CO_2 с помощью реакций карбоксилирования. Первыми или ранними продуктами этих реакций являются ацетилКоА и пируват, которые идут на синтез клеточных веществ.

Рассмотрим процесс карбонатного дыхания, т. е. как метаногенные бактерии получают энергию. Метаногенные бактерии в основном получают энергию за счет окисления молекулярного водорода в процессах, сопряженных с восстановлением CO_2 :



Кроме H_2 и CO_2 , многие метаногенные бактерии могут использовать для получения энергии формиат, метанол, СО, ацетат, а также метилированные амины:



Механизм энергетических процессов у метаногенных бактерий полностью еще не изучен, но общие принципиальные его положения установлены. Показано, что получение энергии связано с функционированием электронтранспортной цепи, в которой обнаружены дегидрогеназы (или гидрогеназы), переносчики электронов и редуктазы. Природа всех переносчиков электронов в дыхательной цепи у метаногенных бактерий пока не установлена, хотя показано, что

все изученные метаногенные бактерии имеют необычные по структуре переносчики электронов, содержащие в качестве коферментов и простетических групп соединения, найденные только у представителей этой группы.

Фактор F_{420} (производное 5-деазафлавина, назван по максимуму флуоресценции в окисленной форме при 420 мкм), кофермент М (2-меркаптоэтанолсульфат), тетрагидрометаноптерин, метанофуран, фактор F_{430} , фактор Fв, 5-ироксибензимидазол-гидроксиколамид. При участии фактора F_{420} , а также гидрогеназы осуществляется одновременный перенос двух электронов от H_2 в реакции, катализируемые редуктазами. Редуктазы связаны с переносчиками дыхательной цепи. При этом образуется ряд промежуточных продуктов.

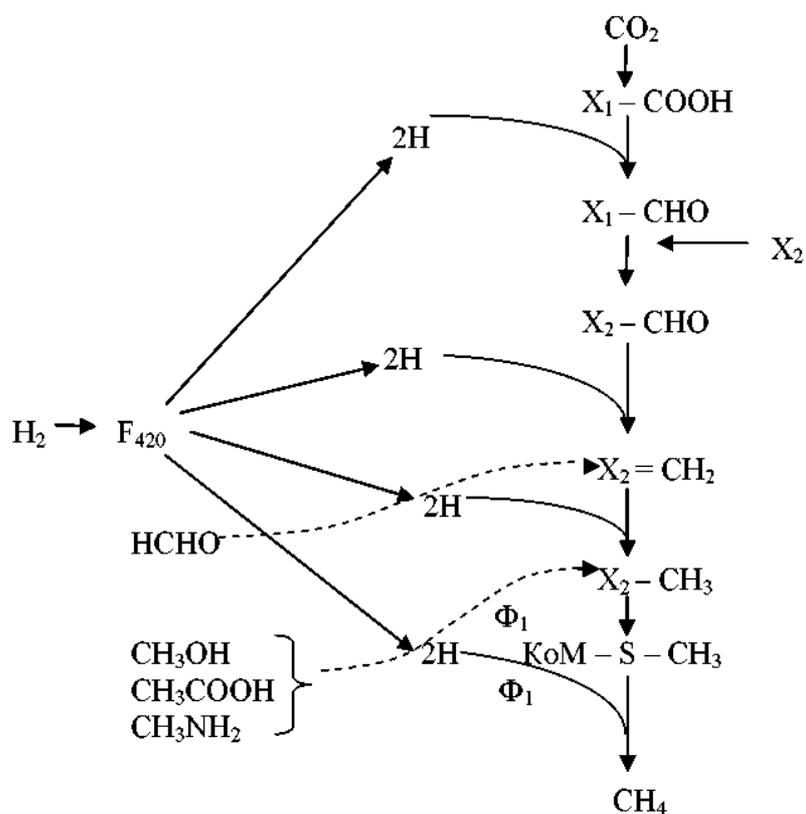


Рисунок 2.3 – Схема восстановления CO_2 до CH_4 метаногенными бактериями: X_1-COOH – карбоксипроизводная; X_1-CHO – формилпроизводная; $X_2=CH_2$ – метиленпроизводная; $X_2=CH_3$ – метилпроизводная; Φ_1 – метилредуктазная система; $CoM-S-CH_3$ – метилкофермент М

Из рисунке 2.3 видно, что восстановление CO_2 до CH_4 требует переноса 8 электронов (или 8 атомов водорода), что осуществляется с помощью нескольких редуктаз, т. е. процесс проходит ступенчато.

Образующиеся при этом промежуточные продукты остаются связанными с переносчиками в дыхательной цепи неизвестной природы. К настоящему времени идентифицирован только один переносчик – кофермент М (КоМ), участвующий на заключительной стадии образования метана. Этот переносчик присоединяет к себе метильную группу, образующуюся в результате ступенчатого восстановления CO_2 . Затем с помощью соответствующей редуктазы происходит освобождение молекулы метана.

При восстановлении CO_2 до метана запасается энергия в форме электрохимического ионного потенциала. Фосфорилирование на субстратном уровне у метаногенных организмов отсутствует. Количество образуемой энергии непосредственно зависит от изменяющихся в природных условиях концентраций молекулярного водорода.

Экология и роль в природе метанобразующих бактерий.

Физиологические свойства метаногенных бактерий (строгий анаэробизм, зависимость от наличия молекулярного водорода) определяют их распространение в природе. Обычными местами обитания этих бактерий является анаэробная зона водоемов, богатых органическими соединениями, иловые отложения озер и рек, болота, заболоченные почвы, осадочные слои морей и океанов. Метаногенные бактерии – типичные обитатели пищеварительного тракта животных и человека и важный компонент микрофлоры рубца жвачных животных.

Метаногенные бактерии представляют значительный практический интерес как продуценты газообразного топлива – метана (биогаза). Они участвуют в разложении органических веществ в отстойниках сточных вод при биологической очистке, в переработке экскрементов животных вместе с отбросами, содержащими целлюлозу, в навозных ямах.

5 Фумаратное дыхание, сукциногенные бактерии

Фумаратное дыхание отличается от всех описанных ранее способов анаэробного дыхания следующими особенностями:

1) во-первых, это единственный пример анаэробного дыхания, когда роль конечного акцептора электронов в дыхательной цепи играет органическое вещество (фумаровая кислота);

2) во-вторых, этот тип получения энергии не является единственно возможным для какой-либо определенной таксономической группы бактерий. Во всех известных в настоящее время случаях бактерии, способные осуществлять фумаратное дыхание – хемоорганотрофы, которые обладают также способностью к брожению. Таким образом,

использование фумарата в качестве акцептора электронов при дыхании является лишь дополнительным механизмом, позволяющим бактериям получать большее количество энергии в анаэробных условиях.

Восстановление фумарата в бактериальных клетках часто сопровождается образованием сукцината, который может выделяться в среду в довольно больших количествах, а бактерии, осуществляющие этот процесс, называют *сукциногенными*. К ним относят, в первую очередь, некоторые виды родов *Bacteroides*, *Fibrobacter*, *Wolinella*. Все они являются микроаэрофилами, способными к аэробному дыханию при низких концентрациях кислорода, но в отсутствии O_2 могут использовать альтернативный акцептор электронов – фумарат.

Кроме сукциногенных бактерий, к фумаратному дыханию способны многие другие хемоорганотрофы, но их метаболизм не сопровождается выделением заметных количеств янтарной кислоты. К числу таких микроорганизмов можно отнести энтеробактерии, представителей рода *Propionibacterium*. Все перечисленные роды добывают энергию в анаэробных условиях в результате брожения, при этом пропионовокислые бактерии в ходе брожения осуществляют этап фумаратного дыхания. Для перечисленных бактерий добавление фумарата к питательной среде значительно улучшает их рост, что связано с увеличением эффективности синтеза АТФ за счет окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи при восстановлении фумарата.

Вопросы для самоконтроля

- 1 Охарактеризуйте анаэробное дыхание у бактерий.
- 2 Перечислите особенности анаэробных бактерий.
- 3 Охарактеризуйте нитратное дыхание, его особенности, представителей, распространение и роль в природе денитрифицирующих бактерий.
- 4 Охарактеризуйте сульфатное дыхание, его особенности, представителей, распространение и роль в природе сульфатвосстанавливающих бактерий.
- 5 Охарактеризуйте карбонатное дыхание, его особенности, представителей, распространение и роль в природе метаногенных бактерий.
- 6 Охарактеризуйте фумаратное дыхание, его особенности, представителей, распространение и роль в природе сукциногенных бактерий.

Тема 3 Субстратное фосфорилирование

- 1 Получение энергии в результате брожения
- 2 Спиртовое брожение
- 3 Маслянокислое брожение
- 4 Молочнокислое гомо- и гетероферментативное брожение
- 5 Пропионовокислое брожение
- 6 Брожение смешанного типа, бутандиоловое брожение

1 Получение энергии в результате брожения

Наиболее примитивным способом получения энергии, присущим определенным группам эубактерий, являются процессы брожения.

«**Брожение**» – это сугубо микробиологический термин. Он характеризует энергетическую сторону способа существования нескольких групп эубактерий, при котором они осуществляют в анаэробных условиях окислительно-восстановительные превращения органических соединений, сопровождающиеся выходом энергии, которую эти организмы используют. Поскольку брожение протекает без участия молекулярного кислорода, все окислительно-восстановительные превращения субстрата происходят за счет его внутренних возможностей. Процесс брожения связан с такими перестройками органических молекул субстрата, в результате которых на окислительных этапах процесса высвобождается часть свободной энергии, заключенной в молекуле субстрата, и происходит ее запасание в молекулах АТФ. В процессе брожения, как правило, происходит расщепление углеродного скелета молекулы субстрата.

По своей биологической сути **брожение** – это способ получения энергии, при котором АТФ синтезируется в процессе анаэробного окисления органических субстратов в реакциях субстратного фосфорилирования. Все реакции субстратного фосфорилирования локализованы в цитоллизе клетки. Это указывает на простоту химических механизмов, лежащих в основе субстратного фосфорилирования.

При брожении продукты расщепления одного органического субстрата могут одновременно служить и донорами, и акцепторами электронов. Как правило, доноры и акцепторы электронов образуются из одного и того же субстрата, подвергающегося брожению (например, из углевода). Сбраживанию могут подвергаться различные субстраты, но лучше других используются углеводы.

Круг органических соединений, которые могут сбраживаться, довольно широк. Это углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины. Химическое вещество может быть подвергнуто сбраживанию, если оно содержит неполностью окисленные или восстановленные углеродные атомы. В этом случае есть возможность для окислительно-восстановительных преобразований между молекулами (или внутри одного вида молекул), возникающими из субстрата. В результате одна часть продуктов брожения будет более восстановленной, другая – более окисленной по сравнению с субстратом.

Процессы окисления сводятся к отрыву электронов от определенных метаболитов с помощью специфических ферментов (дегидрогеназ) и акцептированию их другими молекулами, образующимися из сбраживаемого субстрата, т.е. в процессе брожения происходит **окисление анаэробного типа**. Молекулярный кислород в процессе брожения не участвует: «Брожение – это жизнь без воздуха» (Л. Пастер). Многие организмы, осуществляющие брожение – облигатные анаэробы, а некоторые – факультативные анаэробы, способные расти как в присутствии кислорода, так и без него; при этом кислород подавляет брожение и оно сменяется дыханием.

Продуктами брожений (т.е. результатом брожений) являются различные органические кислоты (молочная, масляная, уксусная, муравьиная), спирты (этиловый, бутиловый, пропиловый), ацетон, а также CO_2 и H_2 . Обычно в процессе брожения образуется несколько продуктов. В зависимости от того, какой основной продукт накапливается в среде, различают молочнокислое, спиртовое, маслянокислое и другие виды брожений.

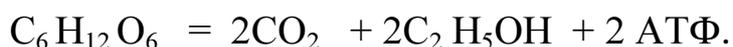
Спиртовое, гомоферментативное молочнокислое и маслянокислое брожения являются основными типами брожений. Все другие виды брожений представляют собой комбинацию этих трех типов. Например, пропионовокислое брожение может рассматриваться как комбинация гомоферментативного молочнокислого и спиртового брожений. Три основных типа брожений связаны между собой – начальные пути разложения углеводов у них одинаковые.

2 Спиртовое брожение, химизм и практическое использование

Катаболизм глюкозы при спиртовом брожении проходит по гликолитическому пути до стадии синтеза пировиноградной кислоты. Далее осуществляется ее декарбоксилирование пируватдекарбоксилазой при участии тиаминпирофосфата, в результате чего образуются

ацетальдегид и CO_2 . Ацетальдегид выступает конечным акцептором водорода. При помощи алкогольдегидрогеназы он восстанавливается до этанола (рисунок 3.1). Таким образом, при спиртовом брожении ПВК превращается в конечном итоге в спирт и углекислоту. Все реакции катализируются ферментами.

Энергетический выход спиртового брожения составляет две молекулы АТФ на одну молекулу катаболизированной глюкозы.



Типичными возбудителями спиртового брожения являются некоторые виды дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe* и др.) и бактерий (*Erwinia amylovora*, *Sarcina ventriculi*, *Zygomonas mobilis*). Кроме того, этанол образуют такие мезофильные бактерии, как *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Clostridium sporogenes*, *Spirochaeta aurantia*, а также термофильные бактерии *Thermoanaerobacterethanolicus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *C. thermocellum*.

Спиртовое брожение широко используется для получения технического и пищевого спирта, вина, пива, а также в хлебопечении. В последнем случае значение имеет не образующийся спирт, а углекислый газ, который выделяется в большом количестве и вызывает разрыхление, подъем теста и его специфический запах.



Рисунок 3.1 – Схема спиртового брожения

Суммарная реакция процесса спиртового брожения выражается следующим уравнением:



3 Маслянокислое брожение, химизм и практическое использование

Маслянокислое брожение проходит в строго анаэробных условиях и осуществляют его облигатно-анаэробные бактерии рода *Clostridium*. В основе его лежит сбраживание углеводов по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты, которая далее подвергается декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА. Основной продукт брожения – масляная кислота синтезируется в результате конденсации двух молекул ацетил-КоА. Превращение ацетил-КоА в масляную кислоту сопряжено с процессами восстановления, в которых в качестве доноров водорода используются молекулы НАД · Н₂, образующиеся ранее в процессе гликолиза. Кроме того, одна из молекул ацетил-КоА, присоединяя неорганический фосфат, может подвергаться фосфорилированию, превращаясь в ацетилфосфат и далее в ацетат, что сопровождается синтезом АТФ при субстратном фосфорилировании. Это третья молекула АТФ, которая синтезируется при маслянокислом брожении (две другие молекулы АТФ образуются при расщеплении глюкозы по гликолитическому пути) (рисунок 3. 2).

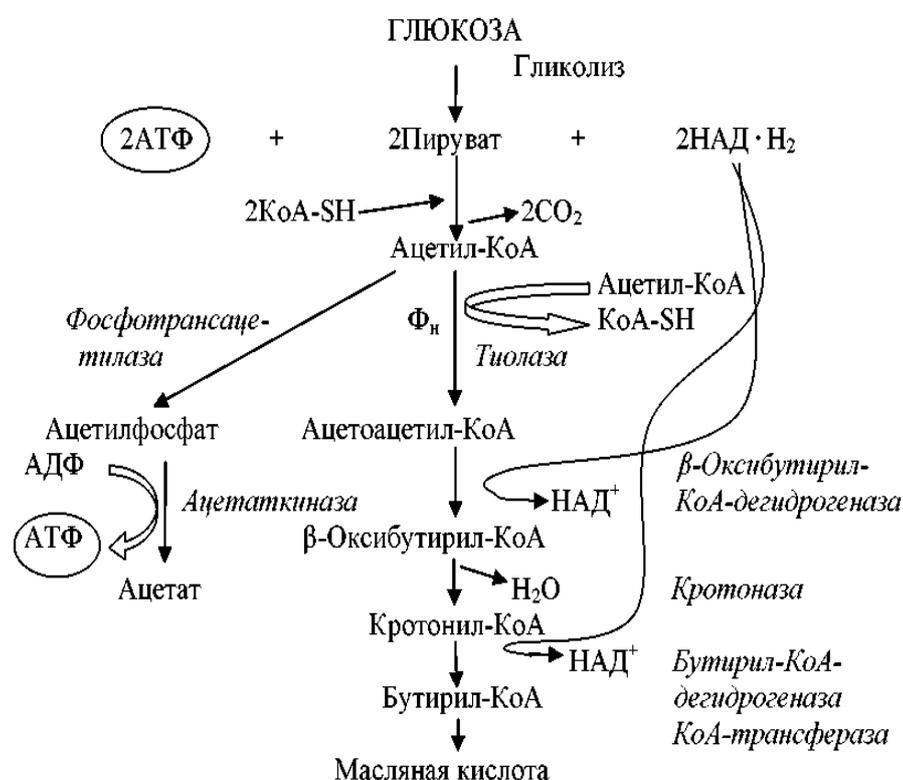


Рисунок 3.2 – Схема маслянокислого брожения

Определение энергетического выхода маслянокислого брожения и установление его уравнения затруднено из-за лабильности процесса, состоящего из двух основных ответвлений, одного – окислительного, ведущего к синтезу ацетата и АТФ, другого – восстановительного, функция которого – акцептирование водорода, образующегося в процессе гликолиза. Количественное соотношение между обоими ответвлениями зависит от многих внешних факторов (состав среды, стадия роста бактерий и др.).

Расчеты показали, что когда глюкоза сбраживается согласно уравнению:



На одну молекулу сбраживаемой глюкозы образуется 3,3 молекулы АТФ. Это наиболее высокий энергетический выход брожения, т. е. получения энергии за счет субстратного фосфорилирования.

Маслянокислое брожение происходит в природных условиях в гигантских масштабах: на дне болот, заболоченных почвах, илах, и местах, куда ограничен доступ кислорода. В результате деятельности маслянокислых бактерий разлагаются огромные количества органического вещества.

Маслянокислое брожение имеет практическое применение для получения масляной кислоты, используемой в парфюмерной промышленности. Для ее производства используют картофель, зерно, мелассу (отходы сахарного производства). Маслянокислые бактерии нередко причиняют вред, вызывая порчу продуктов – прогоркание масла, сметаны, квашеных овощей, силоса, а также при недостаточной стерилизации – порчу консервированных грибных и мясных продуктов.

4 Молочнокислое гомо- и гетероферментативное брожения

Различают два типа молочнокислого брожения: гомоферментативное и гетероферментативное. При гомоферментативном молочнокислом брожении синтезируется практически одна молочная кислота ($\approx 90\%$ всех продуктов брожения). Катаболизм глюкозы в этом случае происходит по гликолитическому пути. Образующаяся при этом пировиноградная кислота не подвергается декарбонизации, а под действием лактатдегидрогеназы восстанавливается до молочной кислоты. Конечным акцептором водорода выступает пировиноградная кислота (рисунок 3.3).

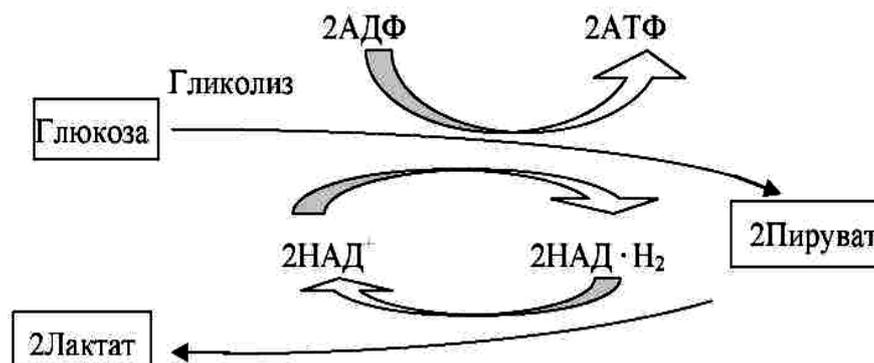


Рисунок 3.3 – Схема гомоферментативного молочнокислого брожения

Гомоферментативное молочнокислое брожение идет по следующему суммарному уравнению:



Возбудителями гомоферментативного молочнокислого брожения являются, например, бактерии *Streptococcus cremoris*, *S. lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis* и др.

Гетероферментативное молочнокислое брожение приводит к образованию разнообразных продуктов: молочной и уксусной кислот, этилового спирта, углекислого газа и глицерина. При этом типе брожения расщепление углеводов происходит по пентозофосфатному пути. Конечными акцепторами водорода являются пировиноградная кислота и ацетальдегид.

Общий химизм этого процесса может быть представлен схематическим уравнением:



Возбудителями гетероферментативного молочнокислого брожения являются бактерии видов *Leuconostoc mesenteroides*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus brevis*, некоторые бактерии рода *Streptococcus*, *Lactobacterium* и др.

Молочнокислые бактерии входят в состав нормальной микрофлоры человека и животных. Многие представители патогенны.

Они находят широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека в процессе приготовления кисломолочных продуктов, сырокопченых колбас, квашения овощей и фруктов, в хлебопечении, для силосования кормов, биологической выделки кож и т. п. Чистое молочнокислое брожение применяется для получения молочной кислоты в промышленных масштабах. Молочная кислота находит применение в производстве кож, красильном деле, при выработке стиральных порошков, изготовлении пластмасс, в кондитерской промышленности, для приготовления безалкогольных напитков и т.д.

5 Пропионовокислое брожение; пути образования пропионовой кислоты у прокариот

Основным продуктом, образующимся при пропионовокислом брожении, является пропионовая кислота. Кроме нее, синтезируются уксусная кислота и CO_2 . Пропионовокислые бактерии расщепляют углеводы по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты, которая подвергается дальнейшим превращениям с образованием пропионовой кислоты, уксусной кислоты и CO_2 :



Поскольку пропионовокислые бактерии развиваются, как правило, в тех же субстратах, что и молочнокислые (рубец и кишечник жвачных животных), то предпочтительным субстратом для окисления является молочная кислота, синтезирующаяся в результате молочнокислого брожения:



Существуют два метаболических пути образования пропионовой кислоты у пропионовокислых бактерий:

1) **акрилатный путь**, в котором лактат в ходе ряда последовательных реакций восстанавливается до пропионата;

2) **сукцинат-пропионатный путь**, в котором лактат превращается в пропионат через стадии образования пирувата и сукцината.

Акрилатный путь присущ, по-видимому, только нескольким видам микроорганизмов (*Clostridium propionicum*, *Bacteroides ruminicola*, *Megasphaera elsdenii*). Субстратами для данного метаболического пути могут служить L-, D-, или LD- формы лактата. В клетках указанных

бактерий присутствует фермент рацемаза, катализирующий взаимопревращения стереоизомеров: L- лактат превращается в L-лактил-КоА, который в результате пока еще не изученных детально реакций превращается в акрилоил-КоА. В свою очередь акрилоил-КоА восстанавливается до пропионил-КоА с дальнейшим образованием пропионата (рисунок 3.4).

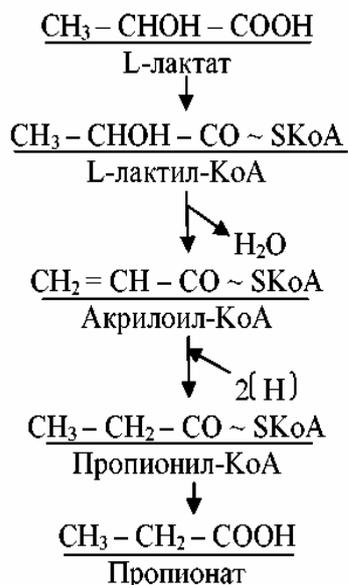


Рисунок 3.4 – Акрилатный путь пропионовокислого брожения

Кроме пропионата, в акрилатном типе брожения образуются также ацетат и CO_2 . Выход АТФ составляет одну молекулу на три молекулы потребленного в этом случае лактата.

Сукцинат-пропионатный тип брожения функционирует у большинства микроорганизмов, образующих пропионат. Сукцинат в этом пути синтезируется как промежуточный продукт, но может продуцироваться также в качестве конечного продукта в малых или больших количествах. С другой стороны, бактерии, использующие акрилатный путь, не образуют сколько-нибудь значительных количеств сукцината.

Этот тип брожения называют еще метилмалонил-КоА-путем, потому что в нем образуется характерный промежуточный продукт – метилмалонил-КоА (рисунок 3.5).

Исходным соединением при функционировании этого типа брожения является лактат, который окисляется до ПВК. На следующем этапе происходит карбоксилирование ПВК с участием фермента метилмалонил КоА-карбокситрансферазы и комплекса $\text{CO}_2 \sim$ биотин.

Синтезируемый в реакции оксалоацетат восстанавливается до сукцината с образованием промежуточных продуктов малата и фумарата. На этапе превращения фумарата в сукцинат происходит субстратное фосфорилирование, в результате чего образуется молекула АТФ. Затем сукцинат при участии фермента КоА-трансферазы присоединяется к КоА и активируется, образуя сукцинил-КоА. Последний под действием метилмалонил-КоА-мутазы и при участии кофактора В₁₂ превращается в метилмалонил-КоА, после декарбоксилирования которого образуется пропионил-КоА. Молекула СО₂ связывается с метилмалонил-КоА-карбокситрансферазой, что вновь приводит к образованию комплекса СО₂ ~ биотин.

Синтез пропионата происходит в результате реакции переноса КоА от пропионил-КоА на сукцинат при участии фермента КоА-трансферазы.

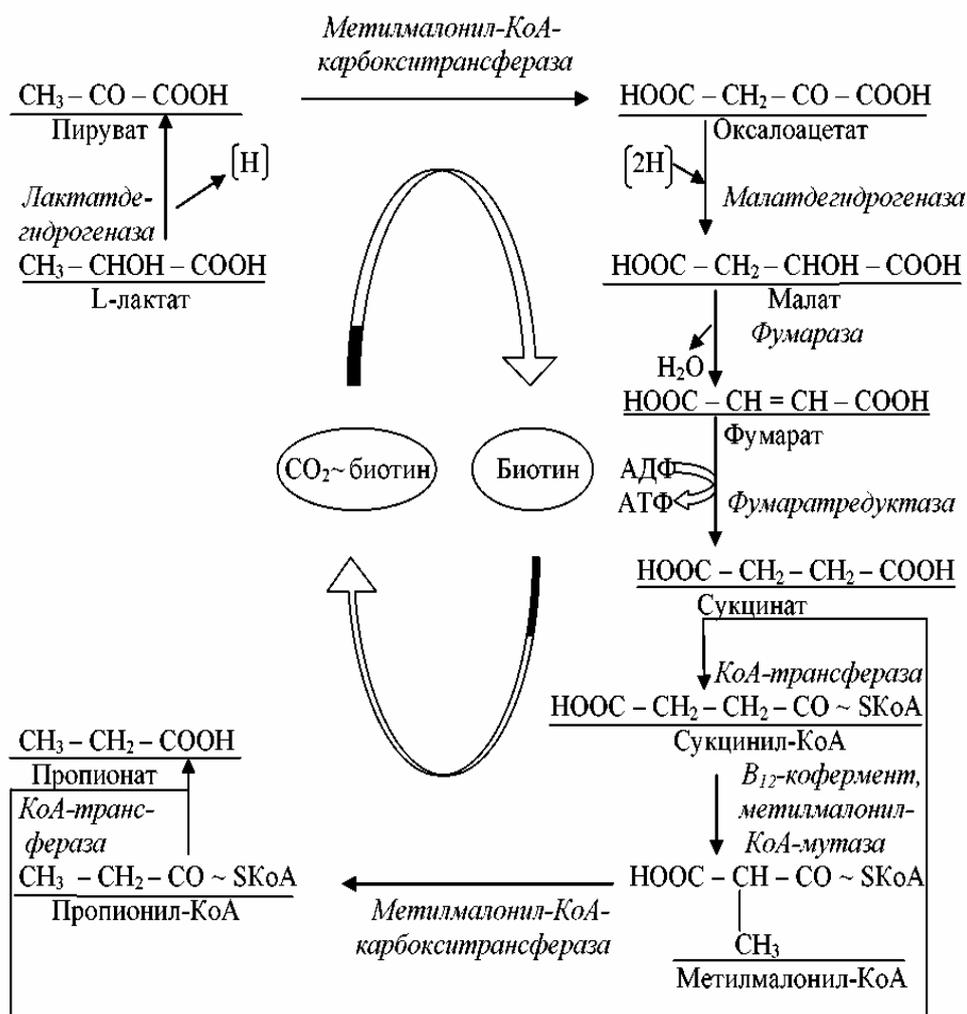


Рисунок 3.5 – Метилмалонил-КоА-путь образования пропионовой кислоты бактериями

Таким образом, в процессе образования пропионата КоА и CO_2 переносятся с последующего продукта на предшествующий, не освобождаясь. Следует отметить, что в этом процессе участвуют три кофактора (биотин, КоА и кофермент B_{12}).

Пропионовокислое брожение используется в сыроделии при созревании твердых сыров, которое длится два-три месяца. Источником пропионовокислых бактерий служит сычужный фермент – водный экстракт телячьих желудков. Пропионовокислые бактерии превращают молочную кислоту в пропионовую и уксусную кислоты, придающие сыру острый вкус, а благодаря выделению углекислого газа в сырной массе образуются поры («глазки»). В связи с тем, что пропионовокислые бактерии способны накапливать в своих клетках большие количества витамина B_{12} , их также используют для его промышленного получения.

6 Брожение смешанного типа: муравьинокислое брожение и бутандиоловое брожение

Этот вид брожения характерен для энтеробактерий, входящих в семейство *Enterobacteriaceae*. К их числу относят *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Erwinia amylovora*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Yersinia pestis* и др.

Энтеробактерии являются факультативными анаэробами: при наличии воздуха они осуществляют аэробное дыхание, а в анаэробных условиях – брожение, продуктами которого являются уксусная, муравьиная, янтарная и молочная кислоты, этанол, ацетон, 2,3-бутандиол, CO_2 и молекулярный водород. Брожение получило название муравьинокислого, потому что характерным, хотя и не главным продуктом брожения, является муравьиная кислота. Наряду с муравьиной кислотой выделяются и другие продукты, поэтому такой тип брожения еще называют брожением смешанного типа.

При брожении смешанного типа гексозы используются в основном по гликолитическому пути, и только у незначительной части микроорганизмов – по пентозофосфатному пути. Катаболизм глюконата проходит по пути Энтнера–Дудорова.

В зависимости от того, какие продукты образуются при брожении смешанного типа, различают две его разновидности.

1 Брожение, характерное для бактерий родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Yersinia*, при котором образуются главным образом кислоты (молочная, уксусная, янтарная, муравьиная). Кроме органических кислот, выделяются газообразные продукты CO_2 и

H_2 (в соотношении 1:1), образуется этанол и совсем не синтезируется 2,3-бутандиол (рисунок 3.6).

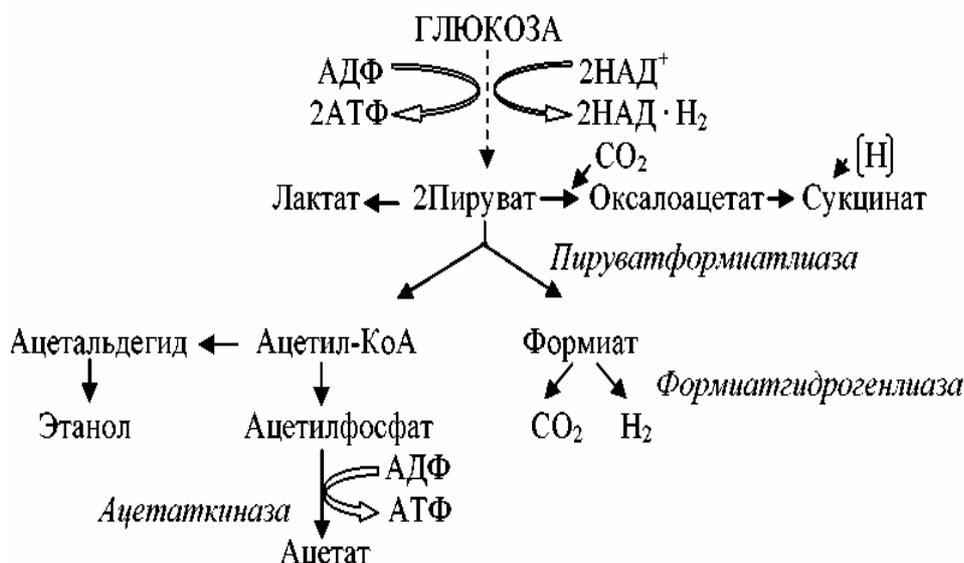


Рисунок 3.6 – Брожение смешанного типа, характерное для бактерий родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Yersinia*

Выход АТФ в этом случае составляет 2–2,5 молекулы АТФ на одну молекулу глюкозы. Кроме двух молекул АТФ, образующихся в процессе гликолиза, еще некоторое количество АТФ синтезируется в реакции, катализируемой ацетаткиназой.

2 Брожение, характерное для бактерий родов *Enterobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Erwinia*. При таком брожении органических кислот синтезируется значительно меньше, чем в брожении первого типа, однако больше образуется CO_2 и этанола. Кроме того, основным продуктом такого брожения является 2,3-бутандиол и, соответственно, этот тип брожения называют иначе **бутандиоловым** (рисунок 3.7).

Ацетоин образуется из двух молекул пирувата. Процесс его образования включает двукратное декарбоксилирование и поэтому в бутандиоловом брожении CO_2 выделяется намного больше, чем в предыдущем случае. Но в этом брожении синтезируется меньше кислот, так как образование бутандиола конкурирует за промежуточный продукт – пируват. Выход АТФ – две молекулы на одну молекулу глюкозы.

Таким образом, анализируя рассмотренные типы брожений, можно заключить, что наиболее выгодным для клетки с энергетической точки зрения, является маслянокислое. В этом случае при потреблении одной молекулы глюкозы образуется в среднем 3,3 молекулы АТФ.

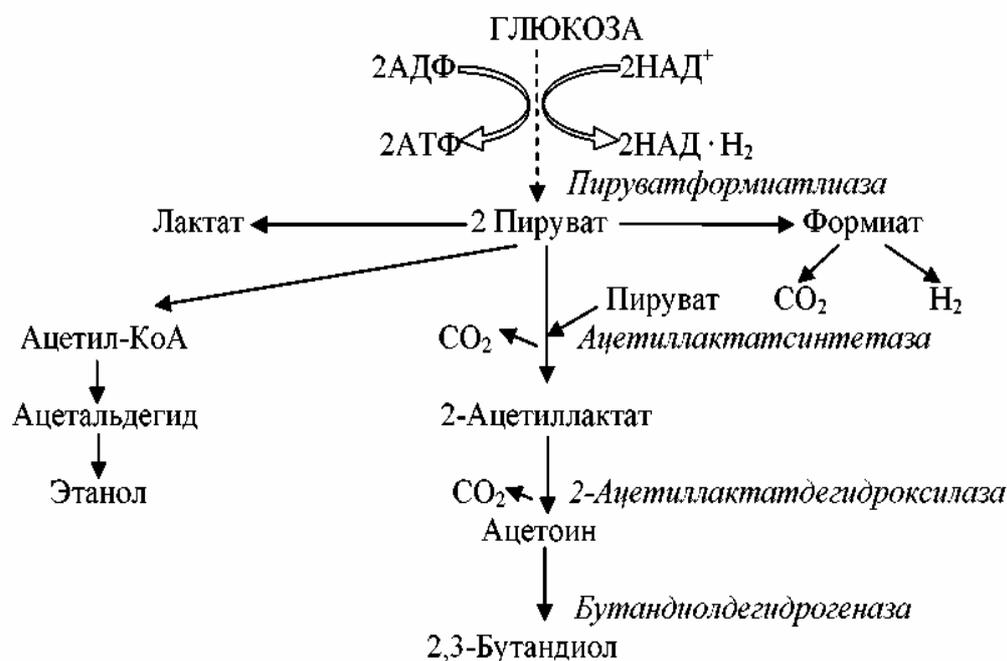


Рисунок 3.7 – Бутандиоловое брожение, характерное для бактерий родов *Enterobacter*, *Serratia*, *Pantoea*, *Erwinia*

8 Сбраживаемые и несбраживаемые природные соединения

Большинство природных соединений, состоящих из углерода, водорода, кислорода и (или) азота, поддаются сбраживанию в анаэробных условиях. Предпосылкой для этого является возможность частичного окисления субстрата в результате внутримолекулярного расщепления, сопровождающегося выделением энергии. Сбраживаются, например, полисахариды, гексозы, пентозы, органические кислоты, аминокислоты, пурины и пиримидины.

Наряду с соединениями, которые сбраживаются в анаэробных условиях, есть вещества, неспособные сбраживаться. Таковы насыщенные алифатические и ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, терпены, порфирины. В аэробных условиях все эти вещества поддаются расщеплению и полностью окисляются, но в анаэробных условиях они очень стабильны. Стабильность их может быть обусловлена двумя причинами. Во-первых, большинство названных соединений содержит только атомы углерода и водорода; при внутримолекулярном расщеплении таких веществ энергия не выделяется. Во-вторых, насыщенные углеводороды и полиизопреноиды могут окисляться только в присутствии молекулярного кислорода;

первичное воздействие на них катализируется в этом случае оксигеназой. Высокая стабильность углеводов в анаэробных условиях подтверждается в каждом лабораторном опыте. Предполагается, что по этой причине благодаря стабильности углеводов они сохраняются в виде нефти.

Вопросы для самоконтроля

1 Охарактеризуйте процесс брожения у бактерий.

2 Перечислите пути сбраживания углеводов и других соединений.

Охарактеризуйте спиртовое брожение: химизм, энергетический выход, практическое использование, возбудители.

Охарактеризуйте маслянокислое брожение: химизм, энергетический выход, практическое использование, возбудители.

Охарактеризуйте молочнокислое брожение: химизм, энергетический выход, практическое использование, возбудители.

Охарактеризуйте пропионовокислое брожение: химизм, энергетический выход, практическое использование, возбудители.

Охарактеризуйте брожение смешанного типа: химизм, энергетический выход, практическое использование, возбудители.

Тема 4 Конструктивный метаболизм

- 1 Общая характеристика конструктивного метаболизма
- 2 Биосинтез аминокислот: основные предшественники и пути биосинтеза
- 3 Биосинтез нуклеотидов
- 4 Биосинтез липидов, жирных кислот и фосфолипидов
- 5 Биосинтез углеводов

1 Общая характеристика конструктивного метаболизма

Конструктивный метаболизм (биосинтезы) – поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ строится вещество клеток; это процесс связан с потреблением свободной энергии, запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений.

Установлено, что у бактерий *E. coli*, растущих в аэробных условиях на среде с глюкозой, около 50 % глюкозы окисляется до CO_2 . При этом образуются молекулы АТФ, в которых аккумулируется энергия. Остальные 50 % глюкозы используются для построения клеточного материала. На подобные процессы затрачивается большая часть энергии АТФ, образовавшейся в результате аэробного окисления.

Более 95 % клеточного материала бактерий *E. coli* и других микроорганизмов состоит из макромолекул или полимеров: белков, полисахаридов, липидов, РНК, ДНК. На долю белков приходится 52 %, а на долю нуклеиновых кислот – 19 % массы сухого вещества. Около 3 % сухого вещества клеток составляют низкомолекулярные органические соединения и соли.

Образованию полимеров из глюкозы предшествует синтез составляющих их мономеров: в случае полисахаридов – различных моносахаридов, в случае нуклеиновых кислот – рибо- и дезоксирибонуклеотидов, в случае белков – аминокислот и т. д. (рисунок 4.1).

Мономеры синтезируются из промежуточных метаболитов (амфиболитов), которые образуются при катаболизме глюкозы. **Такими промежуточными метаболитами** являются: пентозофосфаты, фосфоенолпируват, пируват, ацетил-КоА, щавелевоуксусная и α -кетоглутаровая кислоты. Они являются исходным материалом для синтеза всех необходимых клетке аминокислот, витаминов, сахарофосфатов, жирных кислот, рибо- и дезоксирибонуклеотидов, которые образуются в реакции полимеризации.

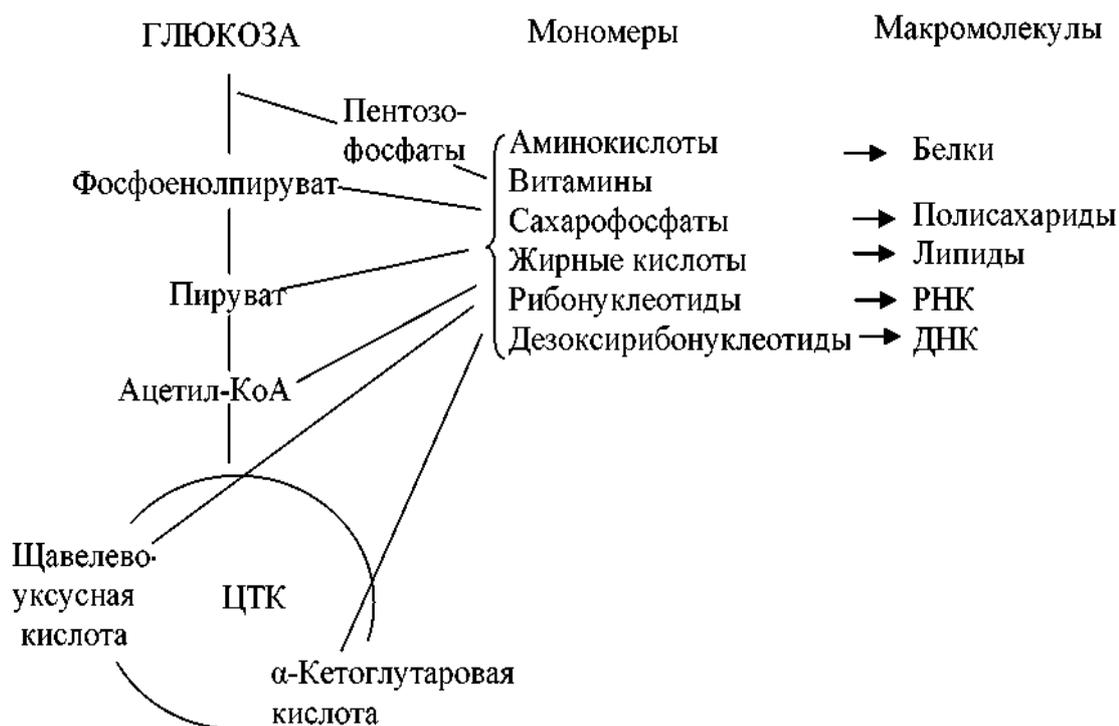


Рисунок 4.1 – Общая схема путей биосинтеза клеточного материала из глюкозы

2 Биосинтез аминокислот: основные предшественники и пути биосинтеза

Большинство бактерий способно синтезировать все аминокислоты, входящие в состав клеточных белков. **Предшественниками для синтеза аминокислот служат промежуточные продукты метаболизма**, такие кислоты, как: α-кетоглутаровая, щавелевоуксусная, пировиноградная, 3-фосфоглицериновая и другие соединения.

Особенностью биосинтеза аминокислот является использование общих биосинтетических путей. Входящие в состав белков 20 аминокислот, в зависимости от исходных метаболитов, для их синтеза можно сгруппировать в шесть семейств (таблица 4.1).

Как видно из таблицы 4.1, **щавелевоуксусная кислота** представляет собой отправную точку для синтеза шести аминокислот, α-кетоглутаровая кислота является предшественником четырех, а пировиноградная и 3-фосфоглицериновая – трех аминокислот.

Источником азота для аминокислот у разных групп бактерий являются нитраты, нитриты, молекулярный азот, аммиак. **Перевод неорганического азота в органические соединения происходит всегда**

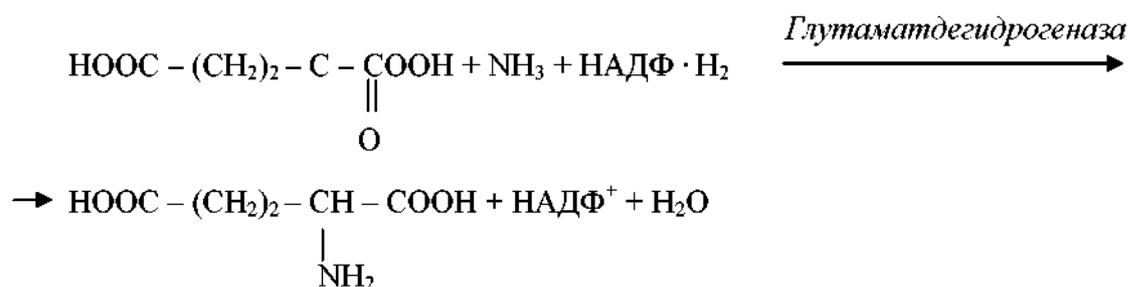
через образование аммиака, и поэтому нитраты, нитриты, молекулярный азот предварительно восстанавливаются до аммиака и только после этого включаются в состав органических соединений.

Таблица 4.1 – Предшественники для биосинтеза аминокислот

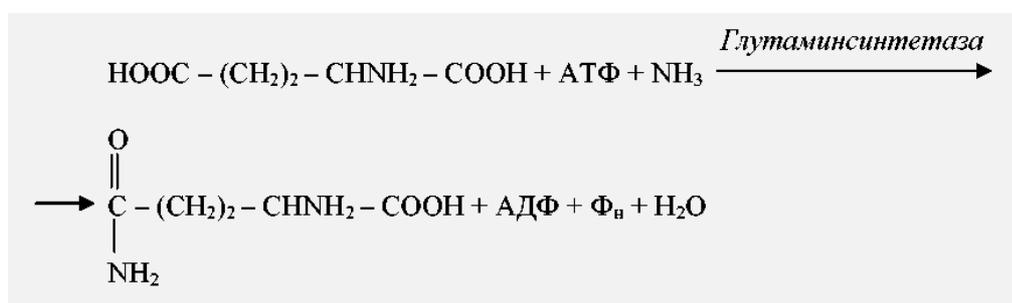
Предшественник	Метаболический путь, приводящий к образованию предшественника	Аминокислоты с общими биосинтетическими путями
Пировиноградная кислота	Гликолиз, путь Энтнера–Дудорова, окислительный пентозофосфатный путь	Аланин Валин Лейцин
Щавелевоуксусная кислота	Цикл Кребса, реакции карбоксилирования	Аспарагиновая кислота Аспарагин Лизин Метионин Треонин Изолейцин
А-Кетоглутаровая кислота	Цикл Кребса	Глутаминовая кислота Глутамин Аргинин Пролин
3-Фосфоглицериновая кислота	Гликолиз, цикл Кальвина	Серин Глицин Цистеин
Фосфоенолпировиноградная кислота + эритрозо-4-фосфат	Гликолиз, Окислительный пентозофосфатный путь	Фенилаланин Триптофан Тирозин
5-Фосфорибозил-1-пирофосфат+ АТФ	Окислительный пентозофосфатный путь	Гистидин

Биосинтез аминокислот происходит различными путями.

Наиболее простой способ – ***восстановительное аминирование кетокислот аммиаком.*** Например, при взаимодействии α-кетоглутаровой кислоты с аммиаком при участии фермента глутаматдегидрогеназы образуется глутаминовая кислота:

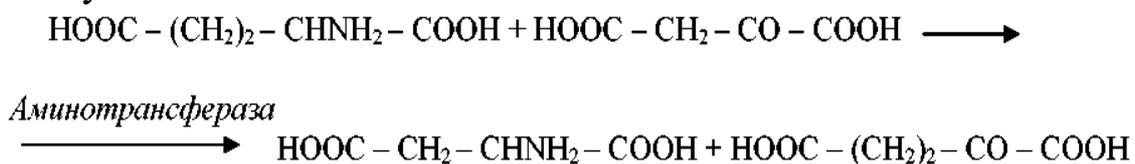


Некоторые аминокислоты образуются путем **амидирования**. Например, из глутаминовой кислоты с участием фермента глутаминсинтетазы образуется глутамин:



Большинство же аминокислот получает аминогруппу от одной из первичных аминокислот в результате **трансаминирования**, или **перeamинирования**. Из свободных аминокислот в цитоплазме бактерий количественно преобладает глутаминовая кислота. Она служит донором аминогрупп при биосинтезе многих аминокислот. Так, глутаминовая кислота, взаимодействуя со щавелевоуксусной кислотой при участии фермента аминотрансферазы, обеспечивает образование аспарагиновой кислоты.

Отдав аминогруппу, глутаминовая кислота превращается в α -кетоглутаровую, которая выступает в качестве стартового вещества для синтеза глутаминовой кислоты:



Пути биосинтеза некоторых аминокислот очень сложны.

Также некоторые гетеротрофные прокариоты, такие, например, как молочнокислые бактерии, не способны синтезировать все аминокислоты, поэтому их рост возможен только на сложных по составу питательных средах, содержащих ряд продуктов природного происхождения.

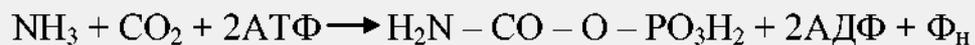
3 Биосинтез нуклеотидов

Нуклеотиды являются исходным материалом для биосинтеза нуклеиновых кислот. Кроме того, нуклеотиды входят в состав многих коферментов и участвуют в активации и переносе аминокислот, углеводов, компонентов клеточной стенки и липидов.

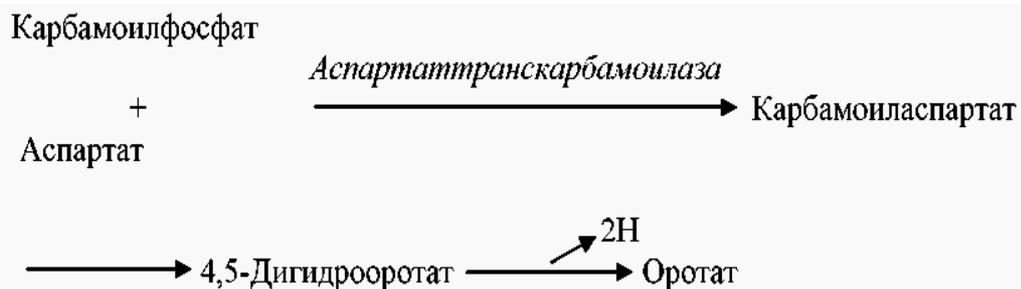
Нуклеотиды – сложные соединения, состоящие из азотистых оснований (это производные пурина – аденин, гуанин и пиримидина – цитозин, тимин), пентоз (рибоза и дезоксирибоза) и остатка фосфорной кислоты.

Большинство микроорганизмов способно синтезировать нуклеотиды из низкомолекулярных соединений. Если же нуклеотиды есть в питательной среде или они образуются при распаде нуклеиновых кислот, то клетка их не синтезирует, а использует в готовом виде.

Синтез пиримидиновых нуклеотидов. Предшественниками для синтеза пиримидиновых оснований служат карбамоилфосфат и аспартат. Карбамилфосфат синтезируется из аммиака и углекислого газа:



Фермент аспартаттранскарбамоилаза конденсирует эти соединения с образованием карбамоиласпартата. Карбамоиласпартат подвергается циклизации с образованием 4,5-дигидрооротата. Затем в результате дегидрирования этого соединения происходит образование оротата – первого промежуточного продукта, содержащего пиримидиновое кольцо.



Прежде чем превратиться в одно из пиримидиновых оснований, оротат связывается с рибозо-5-фосфатом, который является исходным соединением для образования пентозного компонента нуклеотидов. Как известно, рибозо-5-фосфат может синтезироваться двумя путями:

1 окислительным – из глюкозо-6-фосфата через окислительный пентозофосфатный путь;

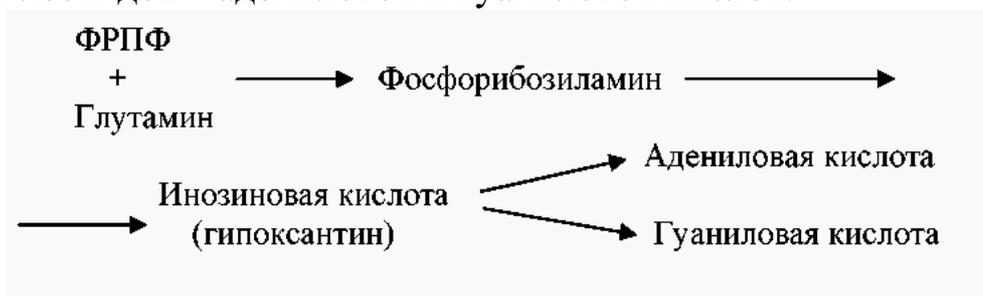
2 неокислительным – из фруктозо-6-фосфата и 3-фосфоглицеринового альдегида в результате реакций, катализируемых трансальдолазой и транскетолазой.

Для синтеза нуклеотидов рибозо-5-фосфат используется в высокоэнергетической форме – в виде фосфорибозилпирофосфата (ФРПФ). Фосфорибозилпирофосфат взаимодействует с оротатом, в результате образуется оротидинмонофосфат, который декарбоксилируется в уридинмонофосфат или уридилловую кислоту:



Из уридилловой кислоты путем аминирования образуется цитидилловая кислота (нуклеотид, содержащий азотистое основание цитозин), путем метилирования – тимидилловая кислота (нуклеотид, содержащий азотистое основание тимин).

Синтез пуриновых нуклеотидов. Начальной стадией синтеза пуриновых нуклеотидов является взаимодействие ФРПФ с глутамином с образованием фосфорибозиламина, который через ряд последовательных ферментативных реакций превращается в инозиновую кислоту (пуриновый нуклеотид гипоксантин). Инозиновая кислота служит исходным продуктом для синтеза двух других нуклеотидов – адениловой и гуаниловой кислот.



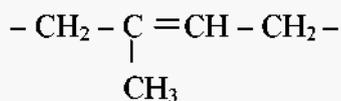
При синтезе дезоксирибонуклеотидов происходит восстановление рибозы до дезоксирибозы. Это происходит на стадии рибонуклеотидов, т. е. синтезируются рибонуклеотиды, а затем происходит восстановление их до дезоксирибонуклеотидов.

Синтезированные клеткой или усвоенные из среды нуклеотиды при участии РНК- и ДНК-полимераз полимеризуются в полинуклеотиды – молекулы РНК и ДНК.

4 Биосинтез липидов, жирных кислот и фосфолипидов

Липиды в клетке бактерий представлены химическими соединениями различной природы. Это триглицериды, жирные

кислоты, фосфолипиды, гликолипиды, воск. К липидам бактерий относятся также соединения, молекула которых содержит изопреновые фрагменты:



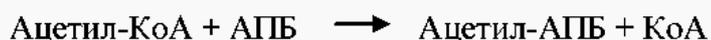
Из изопреновых фрагментов (путем их полимеризации) построены молекулы каротиноидов, хлорофиллов, хинонов. К соединениям липидной природы относятся и некоторые витамины и их производные.

У прокариот липиды входят в состав клеточных мембран и клеточной стенки, служат запасными веществами, являются компонентами пигментных систем и цепей электронного транспорта.

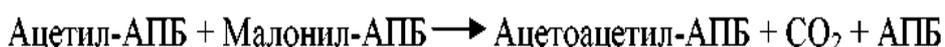
Наиболее универсальные липидные компоненты бактерий – жирные кислоты и фосфолипиды.

Исходным субстратом для **синтеза жирных кислот с четным числом углеродных атомов** служит ацетил-КоА.

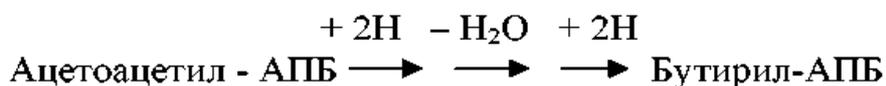
На первом этапе происходит перенос ацетильной группы от ацетилКоА на молекулу особого белка, называемого ацилпереносящим белком (АПБ):



Ацетил-АПБ выполняет функцию затравки, к которой присоединяется С2-фрагмент. Донором С2-фрагмента служит молекула малонил-АПБ, синтезирующаяся также из ацетил-КоА. В результате присоединения С2-фрагмента к ацетил-АПБ образуется ацетоацетил-АПБ:



Затем с помощью серии ферментативных реакций происходит восстановление окисленных углеродных атомов ацетоацетил-АПБ, приводящее к образованию бутирил-АПБ:

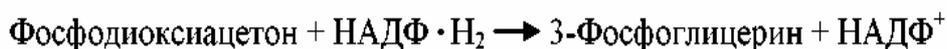


В результате конденсации бутирил-АПБ с новой молекулой малонилАПБ и последующего восстановления продукта реакции образуется молекула С6-жирной кислоты (капроил-АПБ). Последовательное наращивание С2-остатков приводит к синтезу жирных кислот, содержащих обычно 16–18 углеродных атомов.

Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов образуются в результате начальной конденсации пропионил-АПБ и

малонил-АПБ. В клетках бактерий компонентами липидов являются в основном насыщенные жирные кислоты или содержащие одну двойную связь (моно-ненасыщенные). Полиненасыщенные жирные кислоты, содержащие две и более двойные связи, найдены до сих пор только у цианобактерий.

Исходным субстратом для **синтеза фосфолипидов** служит фосфодиоксиацетон (один из промежуточных продуктов гликолитического пути). Фосфодиоксиацетон восстанавливается с образованием 3-фосфоглицерина:



3-Фосфоглицерин взаимодействует с двумя остатками жирных кислот в виде комплекса с белком АПБ. Образуется фосфатидная кислота:



Присоединение к фосфатной группе фосфатидной кислоты серина, инозита, глицерина или другого соединения приводит соответственно, к синтезу фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и фосфатидилглицерина.

5 Биосинтез углеводов

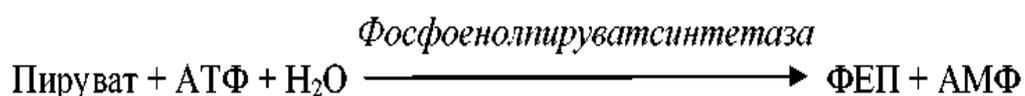
Если микроорганизмы – автотрофы, то исходным веществом для синтеза углеводов является CO_2 . Синтез углеводов происходит у большинства автотрофов в цикле Кальвина (восстановительный пентозофосфатный цикл), который функционирует так же, как и у растений.

Для цикла Кальвина характерны два специфических фермента, не участвующие в других метаболических путях. Это:

1 фосфорibuлокиназа, превращающая рибулозо-5-фосфат при участии АТФ в рибулозо-1,5-дифосфат, который затем выступает в качестве акцептора CO_2 ;

2 рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза, катализирующая реакцию фиксации CO_2 рибулозо-1,5-дифосфатом с образованием двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты. Последняя подвергается серии последовательных ферментативных превращений, ведущих к образованию молекулы глюкозы.

У **бактерий-гетеротрофов** на среде с неуглеводными предшественниками (например, аминокислотами, глицерином, молочной кислотой) синтез углеводов осуществляется с использованием реакций гликолитического пути, идущих в обратном направлении. Этот процесс называется *глюконеогенезом*. Но некоторые ферментативные реакции гликолитического пути необратимы (реакции, катализируемые гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой). Поэтому в клетках гетеротрофных прокариот, способных использовать двух- и трехуглеродные соединения, сформировались специальные ферментативные реакции, позволяющие обходить необратимые реакции гликолитического пути. Одной из таких обходных реакций у бактерий *E. coli* и других бактерий является превращение пирувата в фосфоенолпируват (ФЕП) под действием фосфоенолпируватсинтетазы:



Образовавшиеся таким образом углеводы используются для синтеза олиго- и полисахаридов. Биосинтез полисахаридов осуществляется путем трансгликозилирования, т. е. путем переноса остатков моносахаридов на конец растущей цепи полисахарида. Этот процесс всегда сопровождается затратой энергии.

Вопросы для самоконтроля

- 1 Дайте общую характеристику конструктивному метаболизму.
- 2 Охарактеризуйте биосинтез аминокислот бактериями: основные предшественники и пути биосинтеза, их особенности.
- 2 Охарактеризуйте биосинтез нуклеотидов бактериями: основные предшественники и пути биосинтеза, их особенности.
- 2 Охарактеризуйте биосинтез липидов, фосфолипидов, жирных аминокислот; исходные субстраты для их биосинтеза.
- 2 Охарактеризуйте биосинтез углеводов, особенности цикла Кальвина у автотрофных микроорганизмов, роль специфических ферментов.

Литература

- 1 Лысак, В. В. Микробиология: уч. пособие / В. В. Лысак. – Минск: БГУ. – 2007. – 426 с.
- 2 Современная микробиология. Прокариоты (в 2-х томах) / под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. – Т. 2. – М.: Мир, 2014. – 656 с.
- 3 Гусев, М. В. Микробиология / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – М.: Академия. – 2006. – 448 с.
- 4 Microbiology: an introduction / Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. –11th ed., 2013 – 799 p.
- 5 Нетрусов, А.И. Микробиология. Университетский курс: Учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. – М.: ИЦ Академия, 2012. – 384 с.
- 6 Микробиология: методические рекомендации к лабораторным занятиям и контроль самостоятельной работы студентов / В.В. Лысак, Р.А. Желдакова. – Мн.: БГУ. – 2002. –100 с.
- 7 Брюханов, А.Л. Молекулярная микробиология: Учебник для вузов / А.Л. Брюханов, К.В. Рыбак, А.И. Нетрусов. - М.: МГУ, 2012. - 480 с.
- 8 Белясова, Н.А. Микробиология: Учебник / Н.А. Белясова. - Мн.: Вышэйшая шк., 2012. – 443 с.
- 9 Теппер, Е. З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер [и др.]. – М.: Колос, 1979. – 216 с.
- 10 Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир. – 2002. – 345 с.
- 11 Важнейшие группы микроорганизмов: методические указания / В. В. Лысак, О. В. Блажевич – Мн.: БГУ, 2000. – 30 с.

Для заметок

Для заметок

Учебное издание

Концевая Ирина Ильинична

Микробиология: метаболизм бактерий

Практическое руководство
для студентов специальности 1–31 01 01-02
«Биология (научно-педагогическая деятельность)»

Технический редактор *О.Н. Ермоленко*

Подписано в печать 11.05.2017.
Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать на ризографе.
Усл. печ. л. 2,5. Усл. краск.-отт. 2,5. Уч.-изд. л. 2,33.
Тираж 15 экз. Заказ № 0078.

Отпечатано ООО «Издательство «Десна Полиграф»
Свидетельство о внесении субъекта издательского дела в Государственный реестр
издателей, изготовителей и распространителей издательской продукции.
Серия ДК № 4079 от 1 июня 2011 года
14027 г. Чернигов, ул. Станиславского, 40
Тел.: (0462) 972-664