

Лабораторне заняття № 3-4

ТЕМА: « Загальні поняття про метаболізм. Конструктивний метаболізм. Енергетичний метаболізм. Шляхи катаболізму глюкози і інших вуглеводів »

ЦІЛЬ: знати визначення метаболізму, його види, особливості конструктивного метаболізму і енергетичного метаболізму, визначати шляхи катаболізму глюкози у мікроорганізмів; вміти застосовувати знання про метаболізм в практичній діяльності (на прикладі аналізу питної води вивчити метаболізм індикаторного мікроорганізму *Escherichia coli*); визначати тип метаболізму певної групи мікроорганізмів.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ:

1. Метаболізм, його види та особливості метаболізму мікроорганізмів.
2. Класифікація мікроорганізмів за типом метаболізму.
3. Реакції біологічного окислення і відновлення в клітці.
4. Енергетичний метаболізм.
5. Особливості енергетичного метаболізму аеробних і анаеробних мікроорганізмів, а також фототрофів.
6. Макроергічні з'єднання, їх роль в енергетичному метаболізмі.
7. АТФ як кофермент для активації метаболітів.
8. Відновлювальні еквіваленти, їх значення для енергетичного метаболізму.
9. Шляхи катаболізму глюкози; особливості катаболізму глюкози у мікроорганізмів.
10. Катаболізм вуглеводів, відмінних від глюкози.

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА:

Обмін речовин в клітині умовно ділять на 3 етапи (рис. 1):

1. Поживні речовини розщеплюються на невеликі фрагменти. Так, якщо ростовий субстрат - глюкоза (можуть бути і інші сполуки: етанол, ацетат, метанол, метан, жирні кислоти, органічні кислоти, вуглеводи та ін.), то утворюються фосфоенолпіруват, піруват, ацетил-КоА. Цей етап називається розпадом, або катаболізмом.

2. Освічені з субстрат невеликі фрагменти перетворюються на ряд органічних кислот (наприклад, оксалоацетат і 2-оксоглутарат) і фосфорні ефіри. Цей етап називається проміжним обміном, або амфіболізмом.

1 і 2 етапи часто об'єднують в один, так як вони непомітно переходять один в інший.

3. З проміжних сполук утворюються, так звані, «будівельні блоки» - мономери (амінокислоти, сахарофосфати, жирні кислоти, нуклеотиди), необхідні для синтезу полімерів (білків, полісахаридів, ліпідів, нуклеїнових кислот), з яких складається мікробна клітина. Етап синтезу мономерів і

полімерів називається анаболізмом (конструктивний метаболізм, біосинтез).

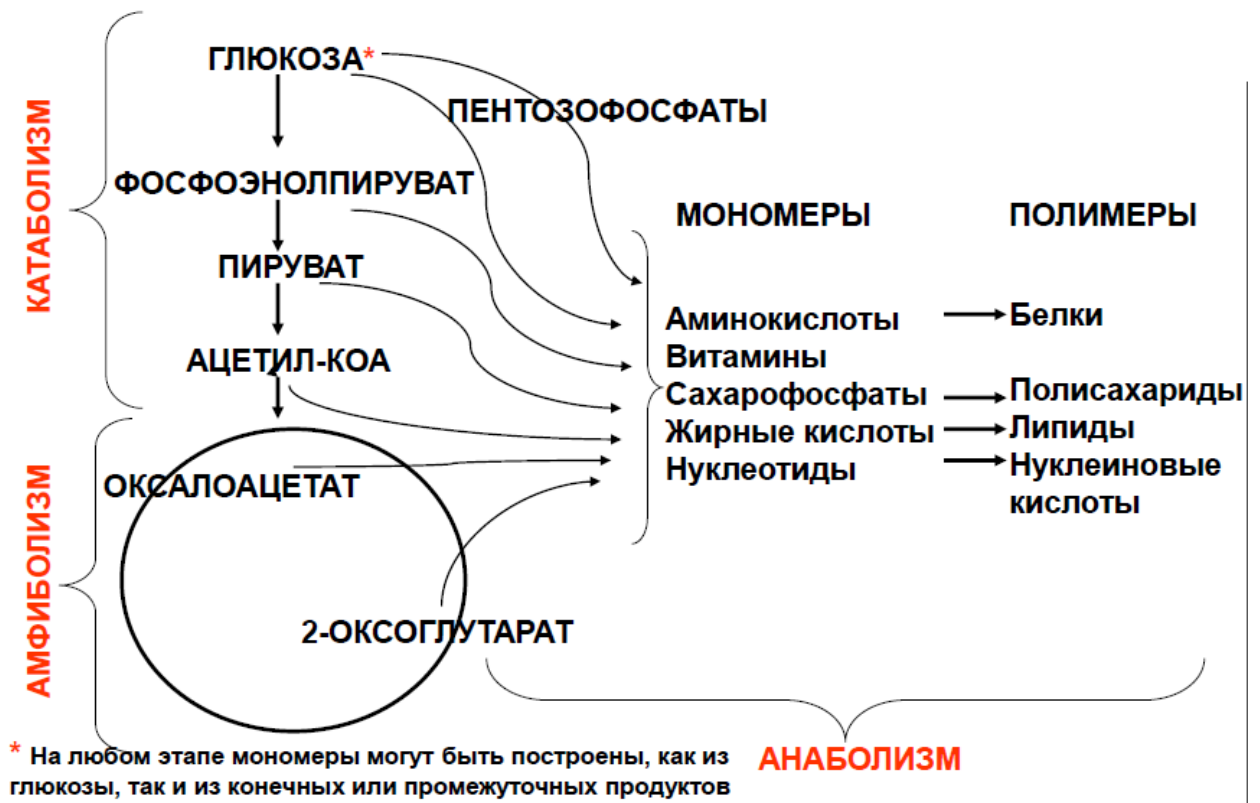


Рис. 1 – Загальна схема метаболізму

Для здійснення реакцій конструктивного метаболізму необхідна енергія. Ця енергія може бути отримана з різних джерел.

1. Фототрофні мікроорганізми використовують енергію світла
2. Хемотрофні мікроорганізми використовують енергію, що вивільняється при окисно-відновних реакціях:
 - Літотрофні - енергію, що вивільняється при окисленні неорганічних сполук (джерело електронів - неорганічні сполуки)
 - Органотрофні - енергію, що вивільняється при окисленні органічних сполук, тобто при катаболізмі (джерело електронів - органічні сполуки)

Знання про особливості метаболізму у певних мікроорганізмів дозволяє використовувати їх в практичній діяльності людини. Розглянемо знання про метаболізм бактерії *Escherichia coli* в практичній діяльності людини для аналізу питної води.

ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА:

Завдання №1. На підставі знань про метаболізм *Escherichia coli*, що є індикаторної бактерією, провести аналіз якості питної води.

Основна мета аналізу питної води - виявлення *Escherichia coli*. Цей аналіз - простий приклад бактеріологічної диференційної діагностики, що ґрунтується на особливостях метаболізму певного виду мікроорганізмів, тому на ньому варто зупинитися докладніше. *E. coli* - звичайний мешканець кишківника людини, і його присутність у питній воді саме по собі не небезпечно. Однак в кишківнику може знаходитися і ряд патогенних бактерій. Разом з *E. coli* ці бактерії виділяються з калом хворих, реконвалесцентів і бацилоносіїв, так що і вони можуть потрапляти в питну воду. Щоб не застосовувати спеціальних методів для виявлення кожної з таких патогенних бактерій, користуються загальним індикатором забруднення. Таким індикатором і служить постійний мешканець кишківника *E. coli*. Виявлення цього виду в пробі води показує, що вода забруднена вмістом кишківника і кишковими бактеріями, серед яких можуть бути і патогенні форми. У такому випадку потрібно вжити відповідних заходів. Нормою для питної води вважається, коли загальне число бактеріальних клітин в 1 мл не перевищує 100; при цьому в 100 мл води не повинно бути жодної клітини *E. coli*.

E. coli добре росте на середовищах, що містять глюкозу або лактозу і пептони. Для того щоб створити умови, при яких зростання інших бактерій зводилося б до мінімуму, користуються лактозою. На середовищах з лактозою можуть рости тільки ті бактерії, які здатні її розщеплювати за допомогою р-галактозидази. Цей фермент синтезують бактерії групи кишкової палички і молочнокислі бактерії, тоді як багато ґрунтових і водних бактерій його позбавлені.

Перші ознаки присутності газоутворюючих бактерій дає поява газу під час інкубації проби в розчині з лактозою і пептоном в бродильних трубках Ейнхорном. Якщо в одну трубку висіяти *Escherichia coli*, а в іншу - *Enterobacter aerogenes*, то вже після 24-годинної інкубації при 37 ° С стане помітною різниця у виділенні газоподібних продуктів. *E. aerogenes* виправдовує свою назву і утворює приблизно вдвічі більше газу, ніж *E. coli*.

Різний і склад газу, що виділяється: *E. coli* виділяє H₂ і CO₂ приблизно в співвідношенні 1: 1, тоді як *Enterobacter aerogenes* утворює більше CO₂, ніж водню.

Деякі молочнокислі бактерії теж мають здатність розщеплювати лактозу з утворенням газу, їх присутність може зіпсувати результати аналізу. Це робить необхідним застосування подальших методів диференціації. Якщо таку культуру висіяти на агар з еозином і метиленовим синім (лактоза-Пентон-еозин-метиленовий синій), то з'являються колонії *E. coli*, пофарбовані в темно-синій колір з металевим відливом (результат відбиття

іншого

кінцевого

акцептора

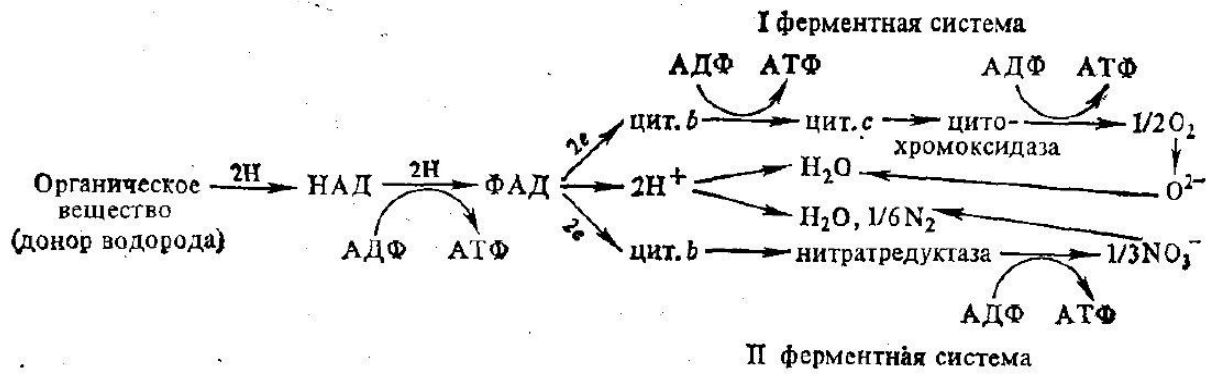


Рис. 2 - Дихальний ланцюг ферментів у мікроорганізмів, що використовують нітрати (факультативні анаероби)

Завдання №3. Охарактеризувати кожну реакцію гліколізу, назвати ферменти, позначені цифрами.

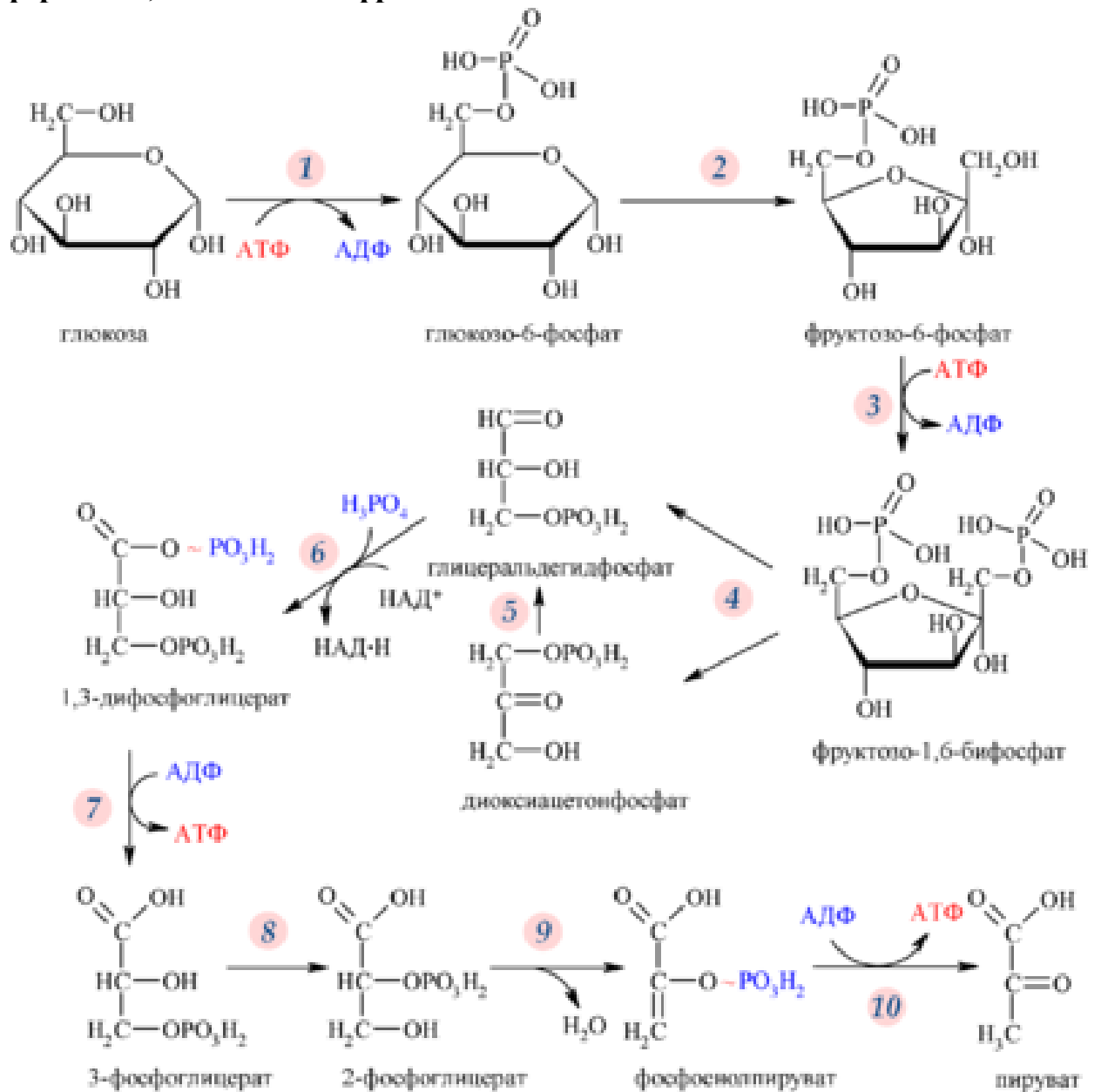


Рис. 3 – Схема реакцій гліколізу

ЛІТЕРАТУРА:

Основна література:

1. Лысак В.В. Микробиология: Учебное пособие для студентов биологических специальностей. – Мн.: БГМУ, 2005. – 261 с.
2. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія. – К.: НУХТ, 2004. – 471 с.
3. Пирог Т.П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. – К.: НУХТ, 2010. – 632 с.
4. Промышленная микробиология / Под ред.. Н.С. Егорова. – М. Высш.шк., 1989. – 688 с.
5. Шлегель Г.Г. Общая микробиология. М.: Мир, 1987. – 567 с.

Інформаційні ресурси:

6. biotech.nuph.edu.ua
7. http://www.labprice.ua/ukrainski_naukovi_tovaristva/tovaristvo_mikrobiologiv_ukraini_im_sm_vinogradskogo_tmu
8. <http://www.antibiotic.ru/index.php>
9. <http://collegemicrob.narod.ru/microbiology/>
10. http://www.allvet.ru/knowledge_base/microbiology/mikrobiologiya.php
11. <http://www.grandars.ru/college/medicina/mikrobiologiya.html>
12. <http://mikrobiki.ru/>