

Федеральное агентство научных организаций  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**Пермский федеральный исследовательский центр  
Уральского отделения  
Российской академии наук**

Принято на заседании Объединенного ученого совета  
ПФИЦ УрО РАН  
Протокол № 1  
«03» июля 2017 г.

**Утверждаю**

Директор ПФИЦ УрО РАН  
Чл.-корр. РАН А.А. Барях

«28» сентября 2017 г.



**РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ**

**«Адаптация прокариот к стрессам»**  
(наименование дисциплины по учебному плану)

Направление 06.06.01 «Биологические науки»  
(код и наименование)

Профиль программы аспирантуры 03.02.03 - Микробиология

Квалификация выпускника: Исследователь. Преподаватель-исследователь

Форма обучения: Очная

Курс: 2 Семестр(ы): 1

**Трудоёмкость:**

Кредитов по рабочему учебному плану: 3 ЗЕ  
Часов по рабочему учебному плану: 108 ч

**Виды контроля:**

Экзамен: **-нет** Зачёт: **1** Курсовой проект: **- нет** Курсовая работа: **- нет**

Пермь 2017

## 1. Наименование дисциплины

Адаптация прокариот к стрессам

(полное наименование дисциплины)

## 2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина входит в Блок 1 Относится к циклу вариативных дисциплин (дисциплин по выбору) профиля подготовки «ВД0», образовательного модуля 1 образовательной программы по направлению подготовки (специальности): Направление: **06.06.01** Биологические науки, направленность 03.02.03 - Микробиология

разработана на основании:

- федерального государственного образовательного стандарта высшего образования, утверждённого приказом Министерства образования и науки Российской Федерации «30» июля 2014 г. номер приказа «871» по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации)»;
- базового учебного плана очной формы обучения по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), программы аспирантуры «Микробиология», утверждённого «28» сентября 2017 г.

**Рабочая программа согласована с рабочими программами дисциплин**

Обязательными дисциплинами:

Микробиология

Методика оформления научно-квалификационной работы и подготовка к экзаменам по специальности.

Дисциплинами по выбору:

Биохимия прокариот;

Генетика микроорганизмов;

Генная инженерия.

Программами научно-исследовательской практики и научно-исследовательской деятельности аспирантов.

участвующих в формировании компетенций совместно с данной дисциплиной.

Разработчики

д.м.н., профессор

А.Г. Ткаченко

Рецензент: д.м.н, зав. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ПГМУ  
им. ак. Е.А. Вагнера, профессор,

(учёная степень, звание)

(подпись)

Э.С. Горовиц

(инициалы, фамилия)

В курсе представлены общие закономерности и механизмы адаптации микроорганизмов к стрессу

**Цель:** формирование знаний об основных стратегиях адаптации микроорганизмов к различным видам стресса, что лежит в основе освоения микроорганизмами разных экологических ниш.

**Задачи:** изучить общие закономерности и механизмы адаптации микроорганизмов к стрессу; дать представления о специфических особенностях адаптивных ответов микроорганизмов к определенным видам стресса.

### 3. Планируемые результаты обучения по дисциплине

Учебная дисциплина **Адаптация прокариот к стрессам** обеспечивает формирование части компетенций ПК-1, ПК-2.

#### 3.1. Дисциплинарная карта компетенции ПК-1

<b>Код ПК-1</b>	<b>Формулировка компетенции</b> Способность к поэтапному планированию и оформлению научно-исследовательских работ в области микробиологии
<b>Код ПК-1. 31.У2</b>	

#### Требования к компонентному составу части компетенции

Перечень компонентов	Виды учебной работы	Средства оценки
<p><b>В результате освоения компетенции студент:</b>  <b>ЗНАЕТ:</b> требования к грамотной формулировке задач, обоснованию актуальности и научной новизны исследования в области микробиологии.                      Код 31 ПК-1 (31 УК-1);  <b>УМЕЕТ:</b> применять литературные данные, для трактовки результатов микробиологических исследований                      Код У2 ПК-1</p>	<p>Лекции.                      Самостоятельная работа студентов по изучению теоретического материала.</p>	<p>Устный опрос для текущего и промежуточного контроля.</p>

#### 3.2. Дисциплинарная карта компетенции ПК-2

<b>Код ПК-2</b>	<b>Формулировка компетенции</b> Готовность к оптимальному выбору подходов и методов для решения научно-исследовательских задач в области микробиологии
<b>Код ПК-2. В1, У1, У2, 31</b>	

### Требования к компонентному составу части компетенции

Перечень компонентов	Виды учебной работы	Средства оценки
<p><b>В результате освоения компетенции студент должен:</b>  <b>ВЛАДЕТЬ</b>                      Фундаментальными знаниями в области микробиологии и смежных с ней наук                      Код В1 ПК-2  <b>УМЕТЬ:</b> анализировать и систематизировать информацию по теме исследования,                      Код У1 ПК-2  <b>УМЕТЬ:</b> анализировать и грамотно интерпретировать полученные результаты экспериментов. Код У2 ПК-2  <b>ЗНАТЬ:</b> подходы и методы изучения строения, биохимии, физиологии, генетики, бактериальных клеток. Код З1 ПК-2</p>	<p>Лекции.                      Самостоятельная работа студентов по изучению теоретического материала.</p>	<p>Устный опрос для текущего и промежуточного контроля.</p>

### 4. Объем и содержание дисциплины

Направления подготовки	<b>06.06.01 Биологические науки (направленность: Микробиология)</b>
форма обучения	очная
№№ семестров, выделенных для изучения дисциплины	4
Объем дисциплины (з.е.)	3
Объем дисциплины (ак.час.)	108
Контактная работа с преподавателем (ак.час.), в том числе:	36
Проведение лекционных занятия	18
Проведение практических занятия, семинаров	0
Самостоятельная работа (ак.час.)	70
Формы текущего контроля	
Формы промежуточной аттестации	Зачет (4 семестр) 2 часа

## Тематический план

Наименование тем и разделов	Всего ак. час	Аудиторные занятия			самостоятельная работа
		лекции	лабораторные занятия	практические занятия	
Введение в предмет	4	2	0	0	2
Понятие об уровнях организации стрессовых реакций	12	4	0	0	8
Механизмы восприятия микроорганизмами факторов среды	14	6	0	0	8
Регулон, регуляторные сети	8	2	0	0	6
Регуляция транскрипции	12	6	0	0	8
Роль топологии ДНК в контроле глобальной генной экспрессии.	26	8	0	0	18
Механизмы адаптации к различным видам стрессов	30	10	0	0	20
зачет	2				
всего	108				

### 5. Описание содержания разделов и тем дисциплины

#### **Введение в курс. Основные понятия.**

Предмет курса и задачи микробиологии, генетики и биохимии в изучении адаптивных механизмов у микроорганизмов. Общее понятие о стрессе, значение адаптивных механизмов в процессах выживания микроорганизмов в окружающей среде.

#### **Тема 1. Понятие об уровнях организации стрессовых реакций. Ферментативный уровень**

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

#### **Тема 2. Понятие об уровнях организации стрессовых реакций. Транскрипционный уровень**

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

### **Тема 3. Двухкомпонентная система проведения сигнала стресса у микроорганизмов**

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

### **Тема 4. Восприятие кворума (quorum sensing)**

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

### **Тема 5. Альтернативные механизмы восприятия микроорганизмами факторов среды**

Посттранскрипционные механизмы регуляции адаптивных реакций. Вторичные структуры информационной РНК, их значение в регуляции синтеза белка. Чувствительность вторичных структур к внешним факторам, мРНК *rpoH* как термосенсор. Вторичные структуры ДНК как факторы, воспринимающие изменения среды, функции ДНК-связывающих белков в регуляции вторичных структур. Функции транскрипционных регуляторов как специфических сенсорных белков (OxyR, SoxRS, Fnr). Изменение белковой стабильности как фактор передачи стрессовых сигналов, роль стабильности альтернативных сигма-субъединиц РНК полимеразы ( $\sigma^H$   $\sigma^S$ ) в проведении сигнала стрессов теплового шока и стационарной фазы.

### **Тема 6. Регулон, регуляторные сети**

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

промоторов, сильные и слабые промоторы, влияние топологии ДНК и нуклеоид-связывающих белков на структурно-кинетические свойства промоторов.

### Тема 7. Альтернативные сигма-факторы

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

### Тема 8. Активаторы транскрипции

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

### Тема 9. ДНК-связывающие белки как модуляторы транскрипционной регуляции

Основные классы ДНК-связывающих белков по принципу равномерности распределения связывания. Структурирующие белки: **HU** (heat unstable), **H-NS** (histone-like nucleoid structuring), **Fis** (factor for inversion stimulation) и **ИНФ** (integration host factor). Роль белка HU в создании архитектуры нуклеоида и регуляции транскрипции, гетеродимерная структура белка, соотношение субъединиц в зависимости от физиологического состояния клетки. Функции **HU** в качестве регулятора топологии ДНК, участие в регуляции отрицательной суперскрученности ДНК и компактной укладке нуклеоида, регуляция вторичных структур мРНК. Роль гистоноподобного белка H-NS как глобального репрессора транскрипции у микроорганизмов, сочетание общих функций структурирующего белка в компактизации ДНК со специфическими функциями регулятора генной экспрессии. Роль H-NS в регуляции стрессовых ответов и фазовых переходов периодической культуры. Механизм функционирования H-NS, его роль в образовании вторичных структур ДНК, их роль в регуляции работы РНК-полимераз и восприятии сигнала стресса. Функциональная активность ДНК-связывающего белка FIS, его роль в экспрессии генов топологической регуляции ДНК, активации генов стабильных РНК, участие в регуляции локальной суперскрученности ДНК, функциональной подвижности нуклеоида. Роль ИНФ в регуляции ДНК, регуляция функциональной конверсии нуклеоида во время фазовых изменений клеточного роста, индукция

компактизации ДНК. **Dps** (DNA binding protein of starvation) – ДНК-связывающий белок голодания, его предохранительное действие от повреждений ДНК активными формами кислорода и другими повреждающими факторами. **Hfq**, известный также как **HF-1** (Host factor I), функции в регуляции множественной стрессовой устойчивости в стационарной фазе, его стабилизирующее действие на мРНК (РНК шаперонные функции). Роль Hfq как регулятора РНК-РНК взаимодействия малых регуляторных РНК (OxyS, DsrA) с коплементарными последовательностями-мишенями. Зависимость спектра ДНК-связывающих белков от фазы роста периодической культуры микроорганизмов как отражение их функций.

#### **Тема 10. Роль топологии ДНК в контроле глобальной генной экспрессии.**

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

#### **Тема 11. Свойства кольцевых ковалентно замкнутых молекул ДНК микроорганизмов.**

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

#### **Тема 12. Топоизомеразы – ферменты регуляции топологических свойств ДНК**

Два класса топоизомераз, топоизомераза I, ( $\omega$  белок), закодированная в гене *topA* и топоизомераза III, закодированная в гене *topB*, механизм действия. ДНК-гираза, закодированная в генах *gyrA* и *gyrB*, и топоизомераза IV, закодированная в генах *parE* и *parC*, строение и механизм действия. Роль различных субъединиц гиразы в каталитическом процессе, ингибиторы, избирательно подавляющие активность каждой из субъединиц ДНК-гиразы, их роль в выяснении механизмов действия фермента. Факторы, влияющие на топологическое состояние ДНК, роль топоизомераз в формировании несдерживаемой суперскрученности ДНК, нуклеоидсвязывающие белки как факторы, формирующие сдерживаемую суперскрученность. Роль энергетического состояния клетки в регуляции активности топоизомераз, аденилатный энергетический заряд как фактор, регулирующий уровень отрицательной суперскрученности ДНК. Понятие о топологическом гомеостазе, роль ДНК-гиразы и топоизомеразы I в его поддержании. Механизмы регуляции топологического гомеостаза, регуляция на уровне генной экспрессии и ферментативной активности.

### **Тема 13. Влияние топологических свойств ДНК на основные функции клетки.**

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

### **Тема 14. Стресс голодания**

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

А) *Неспецифические механизмы адаптации к стрессу голодания. Стринджент ответ*

Феномен стринджент ответа, его фазы, физиологический смысл, биохимический механизм, стринджент-фактор, роль аминокислотного голодания и рибосом в формировании ответа.

Б) *Голодание по источникам углерода и энергии. Катаболитная репрессия*

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

В) *Стресс аммонийного голодания*

Система ассимиляции аммония у *Escherichia coli*. Пути включения аммония в биомассу, глутаминсинтетаза, глутаматсинтаза, глутаматдегидрогеназа, зависимость их активности от концентрации аммония в среде. Классификация альтернативных источников азота по типу преимущественного образования конечных продуктов расщепления. Механизм утилизации альтернативных источников азота при аммонийном голодании, роль глутаминсинтетазы в этом процессе. GlnALG оперон, его структура, функции. Сенсорная система восприятия и проведения сигнала аммонийного голодания, NRI, NRII, PII. Механизм транскрипционной регуляции гена глутаминсинтетазы GlnA, участие в этом процессе  $\sigma$ -54, уридилитрансферазы. Механизм регуляции активности глутаминсинтетазы, участие аденилилтрансферазы в этом процессе.

### **Тема 15. Тепловой шок**

Классификация микроорганизмов по отношению к температуре, температурный оптимум. Понятие о тепловом шоке, история вопроса, роль микроорганизмов в выяснении биохимических и генетических механизмов клеточной адаптации к тепловому шоку. Два регулона теплового шока у мезофила *E. coli*, роль альтернативных сигма-факторов ( $\sigma$ -32 и  $\sigma$ -24) в их формировании. Регулон умеренного теплового шока  $\sigma$ -32. Белки теплового

шока, входящие в данный регулон, понятие о шаперонах и шаперонной машине (DnaK, DnaJ, GrpE;

GroEL, GroES). Транскрипционные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции содержания  $\sigma$ -32 в клетке, роль  $\sigma$ -24, вторичной структуры groH мРНК и шаперонов в этом процессе. Механизмы функционирования шаперонов, специфические сигналы регуляции шаперонной активности. Регулон сильного теплового шока  $\sigma$ -24, его функции в поддержании структуры и функции белков периплазматического пространства. Белки сильного теплового шока. Механизмы регуляции содержания  $\sigma$ -24 в клетке, роль сигналпроводящей системы CpxA/CpxR и антисигма-факторов RseA/RseB в этом процессе.

### **Тема 16. Осмотический шок**

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

### **Тема 17. Окислительный стресс**

Отношение микроорганизмов к кислороду. Токсичность активных форм кислорода и азота для микроорганизмов, понятие об окислительном стрессе. Пути образования активных форм кислорода в дыхательной цепи микроорганизмов, пороги толерантности для супероксидного радикала и перекиси водорода. Пути образования активных форм азота в фагоцитах. Типы повреждений основных биомолекул клетки, вызванных воздействием активных форм кислорода и азота на микроорганизмы. Редоксциклирующие антибиотики, механизм образования супероксидных радикалов. Повреждающее воздействие супероксидного радикала на железосерные центры дегидратаз, роль двухвалентного железа в цепи повреждающих эффектов. Транспорт железа, роль Fur репрессора в регуляции поступления железа при окислительном стрессе. Токсичность перекиси водорода, реакция Фентона, роль металлов переменной валентности в образовании свободных гидроксильных радикалов. Основные механизмы защиты микроорганизмов от активных форм кислорода, роль каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы, алкилгидропероксидредуктазы в этом процессе. Супероксиддисмутазы микроорганизмов, их типы, структура. Биосинтез и регуляция супероксиддисмутаз. Понятие о транскрипционных механизмах регуляции защитных реакций *E. coli* на окислительный стресс, регулоны OxyR и RpoS, основные механизмы регуляции. Основные белки окислительного стресса, характерные для этих систем

защиты. Роль регуляции поринов в ограничении доступа активных форм кислорода в клетку, участие малой регуляторной РНК MicF в этом процессе. Основные классы антиоксидантов, регуляция редокс состояния клетки как механизм восстановления поврежденных белков, роль тиоредоксиновой и глутаредоксиновой систем в этом процессе. Индукция устойчивых изоферментов дегидратаз как средство защиты от окислительного повреждения супероксидными радикалами. Системы репарации повреждения ДНК, эндо- и экзонуклеазы, SOS система репарации. Роль *groS*-регулона *E.coli*, в защите от окислительного стресса.

### **Тема 18. Адаптация в стационарной фазе**

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

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

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

Основными видами учебной работы являются аудиторные занятия. Их цель - расширить базовые знания обучающихся по осваиваемой дисциплине и систему теоретических ориентиров для последующего более глубокого освоения программного материала в ходе самостоятельной работы. Обучающемуся важно помнить, что лекция эффективно помогает ему овладеть программным материалом благодаря расстановке преподавателем необходимых акцентов и удержанию внимания интонационными модуляциями голоса, а также подключением аудио-визуального механизма восприятия информации. Кроме того, во время лекции имеет место прямой визуальный и эмоциональный контакт обучающегося с преподавателем, обеспечивающий более полную реализацию воспитательной компоненты обучения.

Самостоятельная работа преследует следующие цели:

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

Обучающемуся необходимо помнить, что результаты самостоятельной работы контролируются преподавателем и учитываются при аттестации студента.

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

При самостоятельной работе обучающимся следует использовать:

8. рабочие тетради;
9. конспекты лекций;
10. литературу из перечня основной и дополнительной учебной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля);
11. ресурсы информационно-телекоммуникационной сети "Интернет", необходимые для освоения дисциплины;
12. методические указания для обучающихся по освоению дисциплины.

## 8. Перечень основной и дополнительной учебной литературы

### *Основная*

Ткаченко А.Г. Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов / Екатеринбург, 2012, УрО РАН, - 268 с.

### *Дополнительная*

1. Уилсон К., Уолкер Д. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии: [пер. с англ]/ К. Уилсон, Д. Уолкер. -2-е изд.-Москва: Бинوم. Лаборатория знаний, 2015. -848с.

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

Образовательный процесс по дисциплине **Адаптация прокариот к стрессам** предполагает Полнотекстовые книги и журналы, базы данных, реферативные и информационные ресурсы сайта NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

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

Лекционный зал, оборудованный интерактивной и обычной досками, мультимедийным проекционным оборудованием EPSON EMP – TW10 и EPSON H391B.

Оборудование в лабораториях:

- Атомно-абсорбционный пламенно-эмиссионный програм.-управл.спектрофотометр
- Газовый хроматограф GC-2014
- Лабор. установка для измерения наноразмерных частиц на базе анализатора Malvern
- Хромато-масс-спектрометрическая система
- Низкотемпературный морозильник
- Жидкостной хроматограф LC-20
- Амплификатор градиен. с блок.в копл:пробир,стрипы,планш.
- Микроскоп оптический лабораторный "Аксиостар" 3 шт.
- Микроскоп тринокулярный MC-400
- Респирометр замкнутого цикла для автоматиз.измер.уров. потребл.кислор.и выдел.уг
- Система ввода изображения "Видео-Тест-Размер"
- Спектрофотометр
- Ферментер ВЛС 2 шт.
- Флуоресцентный блок

- Фотометр планшетный Мультискан Асцент без фильтр. и прогр. обеспеч.
- Холодильник мед.вертикальный 382 л tc-86/в комплекте/
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Амплификат.с многоур.контр.темпер.в компл.с градиен.набор./
- Гель-документир.сист.(BioRad) в компл.с управ.комп.и принте
- Многофункцион.микропланшетный ридер INFINITE M200
- Спектрофотометр UV-1650PC в компл. с термостатир.ячейкой и кюветами кварцев.
- Трансиллюминатор MACROVUE UV-25
- УОС-99-01ламинарный бокс "САМПО" (ВЛ-12-1000)
- Ультразвуковой процессор с таймер.и режим. пульсации+зонд супенчатый 2мм для обр
- Высокоэффективный жидкостной хроматограф LC-20 AD в комплекте
- Цифровой спектрофотометр PD-303UV
- Микровизор mVizo-103
- Комплект для прямого копирования PhotoMan
- Микроплан.спектрофот.б/темп.контр.в компл.с ПО Benchmark Plu
- Сист.аналит.жидк.хроматограф.для идентиф.и очист.белков и пептидов/колон.,коллек
- Спектрофотометр UV-1700 в компл. фирмы Шимадзу
- Жидкостный сцинтиляционный счетчик
- Низкотемпературный морозильник
- Амплификат.с многоур.контр.темпер.в компл.с градиен.набор./
- Ячейка электрофореза,16см,20 лунок,1ммтолщ.геля(BioRad)
- Спектрофотометр UV-mini-1240
- Устр.компьютер.4-х канал.д/обнаруж.в реж.реальн.врем.флуоресцент.детекц.специф.п
- Bio-Rad Laboratories для проведения ПЦР с детекцией э/форезом
- Жидкостной хроматограф LC-20AD
- Спектрофотом. BioSpec-Mini в компл.с 1-позиц.держат.кювет на 10мм,каб
- Камера д/провед.пульс-электрофор.с охлаж.модулем
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Газовый хроматограф GC-2014
- Жидкостный хроматограф высокого давления
- Градиентн. амплификатор на 2 смен.блока с 2 блок.96\*0,2 мл
- Микроскоп лабораторный "Лейка"
- Оборудование для анализа ДНК
- Спектрофотометр Ultrospec 3300 pro
- Установка для амплификации и электрофореза нуклеиновых кислот
- Установка для секвенирования ДНК модель MEGA BASE в комплекте
- Сканирующий кюветный спектрофотометр SmartSpec Plus с кварц спектрофотометр.кюве
- Автоклавируемый ферментер и биореактор
- Анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАН
- Двухлучевой спектрофотометр модель UV-1650(PC) в компл. с програм.обеспечением,
- Сканирующ.спектрофот.в компл:кварц.спектр.кювета,кюветы,управ.ко
- Жидкостной хроматограф LC-20
- Лабораторная установка для ПЦР в реальном времени
- Микроскоп LEICA DM 2000 в комплекте

- Спектрофлуориметр RF-1501
- Планшетный спектрофотометр xMark(BioRad) 200-1000 нм
- Ультразвуковой процессор с таймер.и режим. пульсации+зонд супенчатый 2мм.

**11. Фонды оценочных средств для промежуточной аттестации по дисциплине Адаптация прокариот к стрессам.**

**Оценочные средства**

Вид мероприятия промежуточной аттестации : **зачет.**

Способ проведения мероприятия промежуточной аттестации : **Письменное контрольное мероприятие**

Продолжительность проведения мероприятия промежуточной аттестации : 2 з.е.

**Показатели оценивания**

Отсутствие знаний, умений и навыков или Наличие несистемных, неконструктивных в области знаний общих и частных механизмов стресс-ответа в бактериальных клетках.	Неудовлетворительно
В целом сформированные, системно организованные знания теории общих и частных механизмов стресс-ответа в бактериальных клетках. Однако аспирант допускает незначительные ошибки в понимании, как механизмов стресс – ответов, так и их регуляции.	Удовлетворительно