

ЗАГАДКИ АРХЕЙ И ИХ ФАГОВ

О.В. Морозова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
e-mail: MOV@niboch.nsc.ru

История открытия архей

Во второй половине XX века Томас Брок (Thomas Brock) начал поиски жизни в гипертермальных источниках Йеллоустонского национального парка (США), которые из-за температур выше 70 °С считались непригодными для жизни. Несмотря на рост клеток на погруженных в источники стеклянных пластинках и культивирование отдельных неидентифицированных микроорганизмов *in vitro*, биологи долго не верили в существование жизни в столь экстремальных условиях. Однако когда развитие молекулярной биологии привело к открытию принципа полимеразной цепной реакции, из культивируемых термофильных бактерий *Thermus aquaticus* из коллекции Томаса Брока был выделен необходимый термоустойчивый фермент – ДНК-зависимая ДНК-полимераза [1].

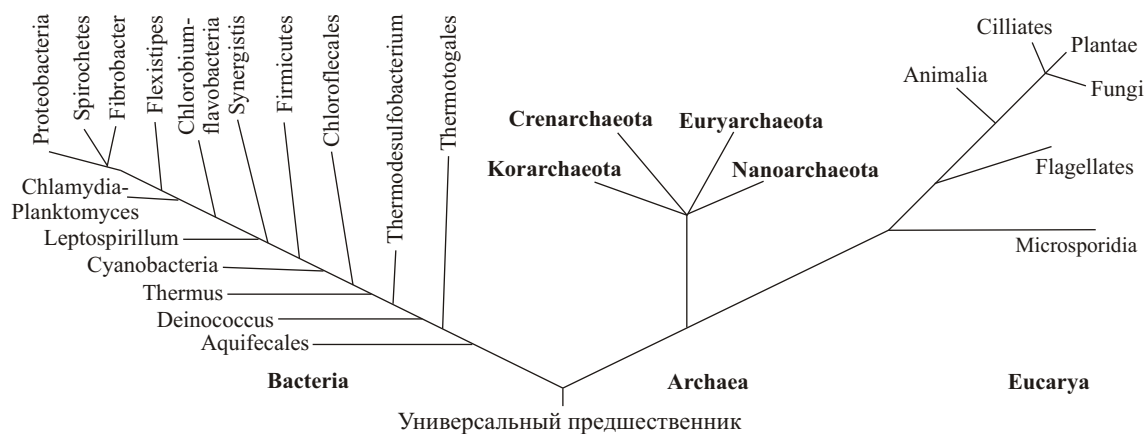
Датой открытия архаичных (как полагали, древних) бактерий принято считать 1977-й г., когда была опубликована классификация метаногенных бактерий на основании сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рибосомной РНК [2] и была предложена новая классификация живых организмов с выделением 3 царств: археобактерий, эубактерий и эукариот [3] (рис. 1а). Хотя на цитологическом уровне археобактерии обладают типичными признаками для всех прокариот, являющихся безъядерными клетками диаметром около 1 мкм без внутриклеточной компартментализации (табл. 1), на молекулярном уровне они отличаются как от бактериальных, так и от эукариотических клеток. Три самостоятельные линии развития было предложено относить к доминионам (от англ. domain) и называть археями (*Archae*), бактериями или эубактериями (*Bacteria*) и эукариями (*Eukarya*) вместо эукариот для соизмеримости с другими названиями [4].

Классификация

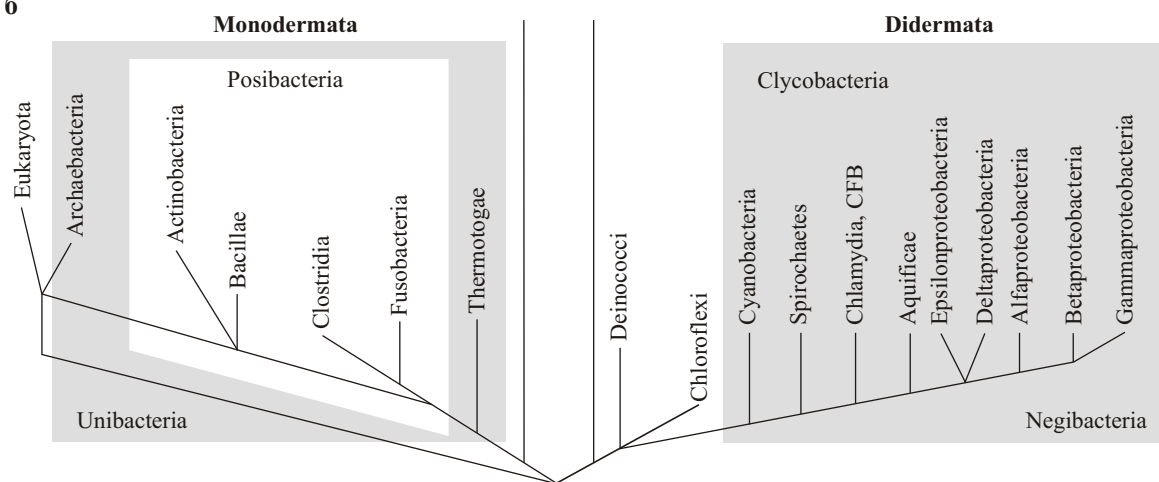
Очевидно, что серьезной проблемой молекулярных классификаций является отсутствие содержательной интерпретации анализируемых признаков [5]. Более адекватным является описание эволюционной истории организмов, являющееся основой филогенетических классификаций. По мере накопления сведений о молекулярной структуре и организации геномов архей стало очевидным, что универсальное дерево жизни, основанное на сравнительном анализе структур гена 16S рРНК [3] (рис. 1а), не совпадает с результатами филогенетического анализа на основании сравнения других геномных фрагментов [5–8] (рис. 1б, в). Так, сравнительный анализ не информационных генов, продукты которых ответственны за реализацию генетической информации [2–5], а операционных генов, продукты которых участвуют в метаболизме, для 15 полноразмерных геномов архей и 45 геномов эубактерий показал, что 75 % генов *Saccharomyces cerevisiae* гомологичны эубактериям [8], что может быть характерно только для самых простых эукариот. Следовательно, сестринские связи между археями и эукариотами отражаются только в некоторых генах.

Другие системы классификации основаны на особенностях строения не только генов, но и клеточных покровов. Клетки могут быть окружены одной (*Monodermata*, или одноплёночные, – археи, эукариоты и грамположительные бактерии) или двумя (*Didermata*, или двухплёночные, – граммотрицательные бактерии) мембранами [5–7]. Классификация Гупты (Gupta) [6] основана на количестве клеточных мембран и сравнительном анализе аминокислотных последовательностей, находящихся между консервативными участками и называемых инделями от англ. «INsertion» и «DELetion». В

а



б



в

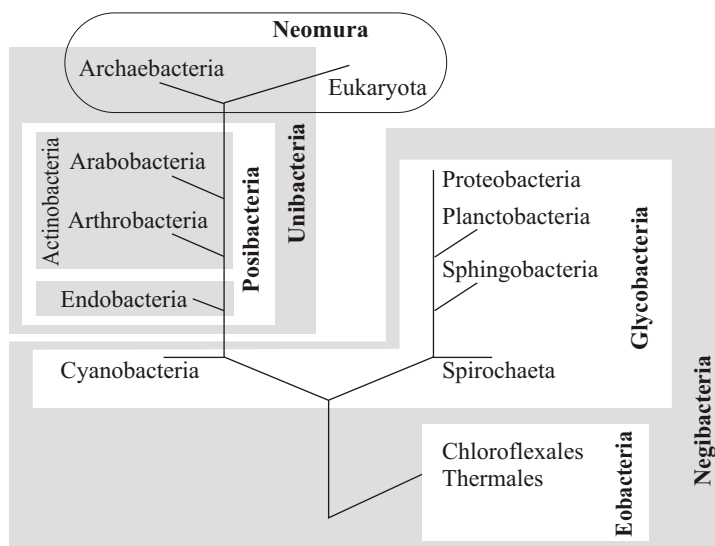


Рис. 1. Результаты филогенетического анализа.

а — по Воезу (Woese) [3] и Шаталкину [4]; б — по Гупте (Gupta) [6]; в — по Кавалье-Смиту (Cavalier-Smith) [7].

Таблица 1

Сравнение трех доминионов жизни на цитологическом уровне

Признаки	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
Ядро	–	–	+
Компартментализация	–	–	+
Пептидогликан клеточных стенок	–	+	–
Липиды мембран	Изопрен Простые эфиры	Фосфолипиды Сложные эфиры	Фосфолипиды Сложные эфиры

соответствии с кладограммой Гупты (рис. 1б) положение архей не определено: археи вместе с эукариотами могут быть сестринской группой грамположительных бактерий или иметь полифилетическое происхождение, при котором галофильные археи произошли от актинобактерий, а метаногены – от клостридий [6]. По результатам филогенетического анализа Кавалье-Смита (Cavalier-Smith) (рис. 1в), из однопленочных *Posibacteria* возникло новое царство Neomura, объединяющее архей и эукарий [7]. При частичном совпадении классификации Гупты [6] и Кавалье-Смита [7] отличаются в определении первоначальных однопленочных или двупленочных клеток соответственно.

В настоящее время в доминионе архей выделяют 4 царства или типа (рис. 1а): 1) Crenarchaeota (термофилы, термоацидофилы, серные анаэробные бактерии); 2) Euryarchaeota (метаногенные и галофильные археи); 3) Nanoarchaeota – единственный известный представитель *Nanoarchaeum equitans* – симбионт или паразит гипертермофильного вида архей *Ignicoccus*, обитающих в гидротермальных системах США, Исландии и на Камчатке; 4) Korarchaeota – ДНК обнаружены в геотермальных источниках США, Исландии, на рисовых полях Японии, культивируемые виды пока неизвестны [4].

Экология

Впервые археи были обнаружены в экстремальных условиях, свободных от представителей других царств. Экстремофилов условно разделяют на термофилов (устойчивых к температурам 45–113 °C); психрофилов (размно-

жающихся при температурах от –10 до +15 °C); ацидофилов (резистентных к средам с pH 1–5); алкалофилов (репродуцирующихся при pH 9–11), барофилов (выдерживающих давление до 700 атм.); галофилов (способных к выживанию в 25–30 % NaCl) и ксерофилов (обитающих в необычайно сухих условиях) [1, 4]. Однако в реальных условиях несколько факторов одновременно оказываются экстремальными. Так, в старых шахтах с большим содержанием железного колчедана FeS происходит его окисление до серной кислоты с выделением тепла. Обитающая на таких угольных отвалах *Thermoplasma acidophilum* имеет оптимальный рост при 55 °C и pH 2 [4]. В настоящее время очевидно, что археи распространены более широко, чем изначально предполагали. По оценкам специалистов, суммарная биомасса архей 10¹⁴ тонн превышает биомассу всех ранее известных форм жизни на Земле [1, 4].

Археи найдены на слизистых оболочках кишечника, урогенитального тракта и ротовой полости людей [9], в желудочно-кишечном тракте животных, внутри пресноводных и морских простейших [4]. Среди архей-симбионтов наиболее распространены метаногены и сульфат-редуцирующие микроорганизмы [10]. В рубце коров метаногены *Methanobrevibacter ruminantium* и *Methanomicrobium mobile* производят 200–400 л метана в день [4]. Эмиссия метана из прямого кишечника происходит, в среднем, у 37 % мужчин и 63 % женщин, что может свидетельствовать о присутствии метаногенных архей [11]. Образование метана достигает максимума у лабораторных крыс после периода грудного вскармливания в про-

цессе стабилизации формирования собственной микрофлоры кишечника [11], следовательно, этот приобретённый признак зависит от окружающей среды. Недавно в ротовой полости у 36 % больных периодонтитом методами количественной ПЦР и флуоресцентной гибридизации выявлены метаногенные археи, среди которых доминирует *Methanobrevibacter oralis* [9]. Хотя количество геном-эквивалентов архей локально уменьшается при лечении [9], это не может служить доказательством их патогенности. Общепринято, что патогенные свойства микроорганизмов могут быть доказаны при соблюдении трех постулатов Коха:

1. Возбудитель обнаруживается во всех случаях данного заболевания;
2. Возбудитель выделен в «чистой культуре»;
3. Возбудитель вызывает заболевание у восприимчивых лабораторных животных.

Поскольку более 99 % видов прокариот – не культивируемые, а идентифицируемые только по анализу ДНК, то нарушается второй постулат Коха. Следовательно, до настоящего времени патогенность архей для людей, животных, растений или других бактерий не доказана. Несмотря на наличие токсинов в клетках архей, их токсичность для людей и животных не доказана. Удивительно, что горизонтальный обмен генами не привёл к миграциям «островков патогенности» из геномов бактерий в ДНК архей [12].

Метаногенные археи найдены даже в цитоплазме эукариотических клеток [12].

На основании анализа полноразмерных геномов изолятов ацидофильных экстремофилов из старых шахт найдены природные сообщества из архей и бактерий, некультивируемые *in vitro* [13]. Подобная реконструкция пока возможна только для биофильмов, содержащих небольшое число доминирующих видов с низким уровнем геномных перестроек.

Морфология

Средний диаметр клеток архей 1 мкм, типичный для большинства известных прокариот. Клетки *Nanoarchaeum equitans* – самые маленькие среди архей, диаметром до 0,4 мкм [4]. Помимо обычных для прокариот

форм клеток в виде кокков (в том числе, с выступами или с дольками) или палочек (прямых или спиралевидных) (рис. 2), среди архей также найдены клетки в виде почтовых марок и треугольников. Жгутики архей могут располагаться на 1–2 полюсах клеток (рис. 2) или по всей поверхности. Поскольку белок флагеллин, составляющий основу жгутиков зубактерий, неустойчив в кислой среде, то у архей он замещается гликопротеинами, из которых состоят бактериальные пили. Собственно пили у архей не описаны [4].

У архей отсутствует пептидогликановая клеточная стенка (табл. 1), поэтому они устойчивы к пенициллину [4, 5]. Над плазматической мембраной они имеют слой белков или гликопротеинов. Грамположительные археи характеризуются наличием псевдомуреина в стенках, в состав которого помимо N-ацетилглюкозамина, присутствующего и в зубактериальных муреиновых клеточных стенках, входит ранее неизвестная N-ацетилгалактозаминуроновая кислота (рис. 3). Однако при окрашивании псевдомуреин часто разрушается. Поэтому лишь некоторые метаногены (в частности, *Methanobacterium formicicum* и терминальные пробки *Methanospirillum hungatei*) имеют грамположительную окраску [5].

Мембраны архей отличаются от мембран клеток из других доминионов по 3 основным признакам (рис. 4):

1. L-изомер глицерина – вместо D-глицерина в мембранах бактерий и эукариот;
2. Насыщенный полиизопрен – фитанил (3,7,11,15-тетраметилгексатрисил) (C₂₀) с 4 боковыми CH₃-группами вместо неразветвлённых жирных кислот длиной 16–18 атомов углерода для ранее известных мембран;
3. Простые эфирные связи между L-глицерином и фитанилом, имеющие лишь один атом кислорода [4].

Ветвление боковых цепей может приводить к объединению молекул фитанила внутри одного слоя или с другим слоем с образованием бифитанила (C₄₀) в составе особых «монослойных» мембран, характерных для термофилов, таких, как *Thermoplasma* и *Sulfolobus*. Наличие циклопентана уменьшает латеральную подвижность молекул в мембранах термофильных архей [4]. Уникальные липиды – макроциклический ар-

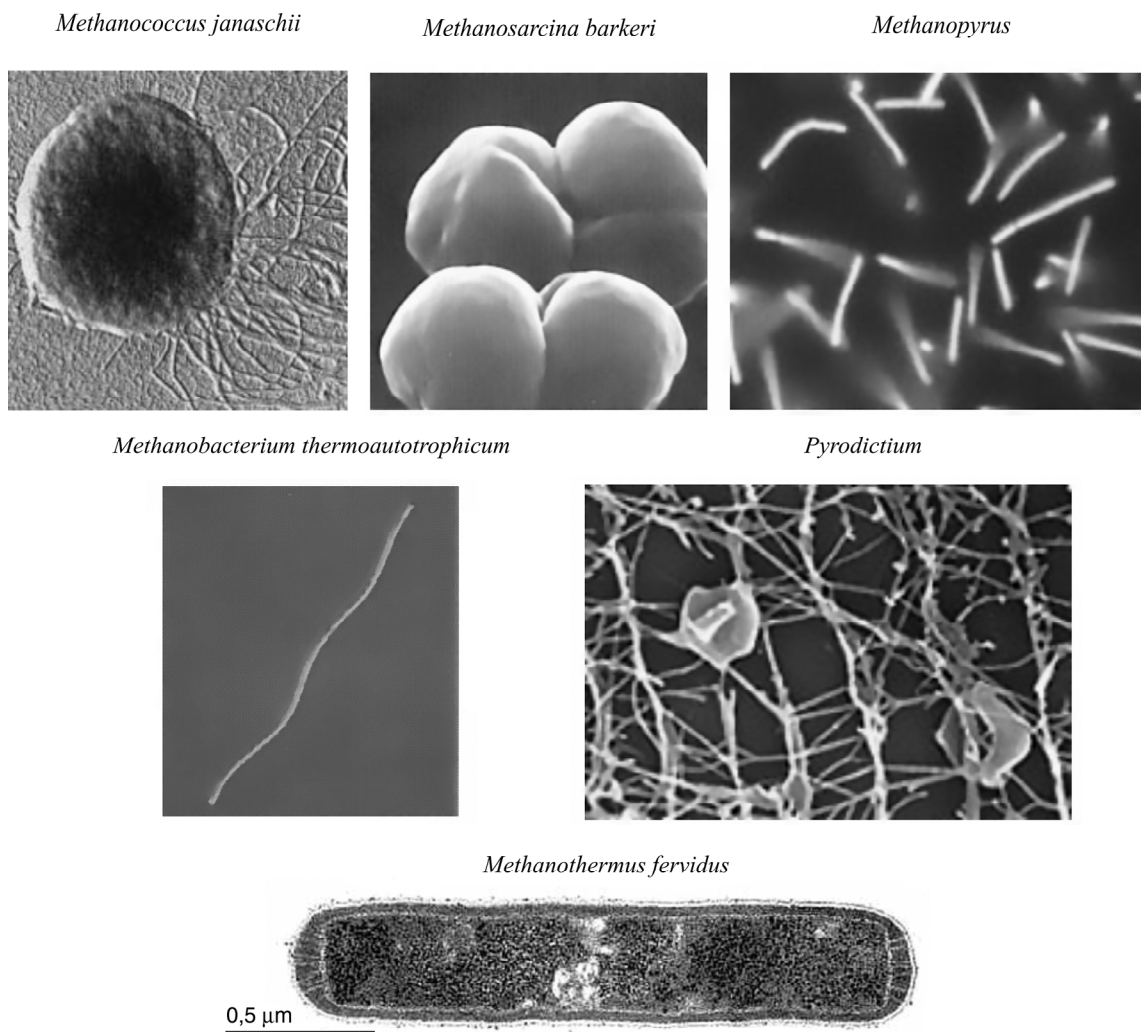


Рис. 2. Формы клеток архей (слева направо): кокки с монополярными жгутиками, бугорчатые кокки, прямые и искривлённые палочки. Масштаб указан в левой нижней части рисунка.

хеол и трансмембранный калдархеол – снижают проницаемость мембран в 10–17 раз. Археобактериальные мембраны *in vitro* образуют везикулы диаметром 20–150 мкм, для которых поверхностное натяжение на границе воздух–вода 32–37 мН/м при 20–70 °С (для сравнения – поверхностное натяжение мембранных липидов эубактерий – 54–56 мН/м при 20–70 °С) [14]. В отличие от бактерий в мембранах архей и эукариот присутствует фосфатидилинозит. Необходимо отметить высокую стабильность мембран архей и способность к длительному хранению в липосомах из таких мембран ^{14}C -сахарозы, карбокси-флюоресцеина, а также их слабое окрашивание солями тяжёлых металлов (уранилацетатом и

натриевой солью фосфорновольфрамовой кислоты), что является причиной низкой контрастности при электронной микроскопии [14].

Геном архей состоит из двухцепочечной кольцевой ДНК длиной $(5\text{--}40) \times 10^5$ н.п. и кольцевых плазмид размером от 2813 до 41229 н.п. Размер генома *Nanoarchaeum equitans* 490.885 н.п. является самым маленьким среди архей, геном термоплазмы – 17×10^5 н.п., а *Methanocaldococcus jannaschii* – 40×10^5 н.п. [4]. До настоящего времени определены нуклеотидные последовательности 18 полноразмерных геномов архей, а также более 5.000 плазмид представителей родов *Sulfolobus*, *Halobacterium*, *Haloferax*, *Thermoplasma* и отдельных генов или фраг-

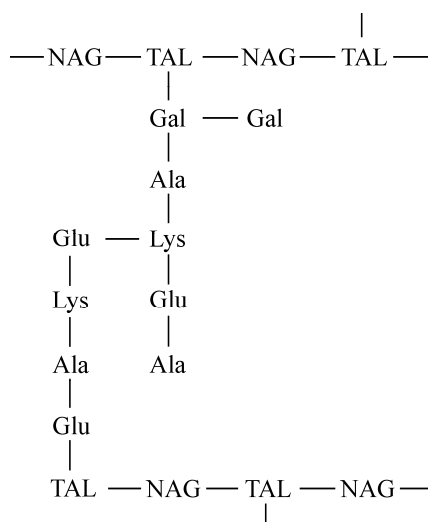


Рис. 3. Строение псевдомуреина клеточных стенок архей. NAG – N-ацетилглюкозамин; TAL – N-ацетилгалактозаминуроновая кислота.

ментов генома, наиболее изученными из которых являются гены рибосомных РНК (2230 нуклеотидных последовательностей для архей, большинство из которых являются некультивируемыми), ДНК-зависимой ДНК-полимеразы (287 видов) и РНК-полимеразы (109 видов) (база данных нуклеотидных последовательностей GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)).

Фаги архей необычайно разнообразны по форме и генетической вариативности [15–17]. Форма большинства вирусов и вирусоподобных частиц мезофильных и умеренно термофильных архей и бактерий из пресноводных и морских источников (4950 из 5100 известных видов (приблизительно 97 %)) характерна для бактериофагов – гексагональная головка с отростком («head-and-tail»). Среди оставшихся 106 вирусов ($\approx 2\%$) – икосаэдрические, 57 ($\approx 1\%$) – нитевидные и только 2 вида имеют необычную форму веретена. Подобные фаги обнаружены и у галофильных архей из Мёртвого моря и солёных озёр [17]. При увеличении температур гипертермальных источников выше 80°C разнообразие морфотипов культивируемых вирусов существенно возрастает [18]. Описано 9 различных морфотипов фагов термофильных архей. Уникальные особенности этих фагов архей привели к необходимости введения 4 новых семейств ви-

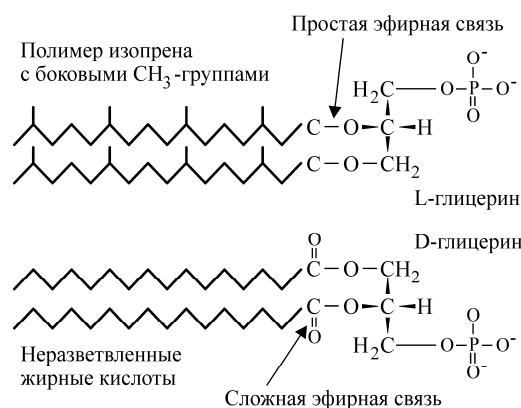


Рис. 4. Особенности строения мембран архей по сравнению с мембранами бактерий и эукариот.

русов с геномными двухцепочечными ДНК: 1) Lipothrixviridae (виды DAFV, TTV1-4, SIFV) – нитевидные вирусы с оболочкой, состоящей из вирус-специфических белков и липидов клетки хозяина, и линейной геномной ДНК; 2) Rudiviridae (представители SIRV1, SIRV2) – палочковидные вирусы без оболочек с линейными геномами; 3) Fuselloviridae (SSV1, SSV2, SSV3) – оболочечные вирусы в форме веретена или лимона, содержащие кольцевые двухцепочечные ДНК, и 4) Guttaviridae (SNDV) – оболочечные вирусы в форме капельки. В каждом семействе вирусы гомогенны по форме и размерам за исключением Lipothrixviridae, представители которого существенно отличаются по длинам и терминальным структурам. Помимо нитевидных, палочковидных и веретенообразных форм обнаружены необычные частицы, ранее не встречавшиеся в природе: плейоморфные частицы с головками в виде стрел и спиралевидными хвостиками; эллипсоидные частицы с 1–2 отростками и частицы в форме застёжки-молнии, состоящей из треугольных субъединиц. Отдельные нитевидные вирусы могут иметь необычные утолщения на концах. Внутри палочковидных вирусоподобных частиц может присутствовать центральная полость без оболочки [17].

Фаги гипертермофильных архей существенно отличаются от ранее известных вирусов не только по формам, но и по скорости накопления мутаций. Геномы фага phi H *Halobacterium halobium* отличаются по не-

скольким областям инсерций, делеций и инверсий, обусловленных IS элементом длиной 12.000 н.п. [15]. Скорость возникновения мутаций у рудивируса SIRV1 составляет 10^{-3} замен на 1 нуклеотидный остаток за 1 цикл репликации, что намного превышает уровень мутагенеза для ДНК-содержащих вирусов и соответствует скорости накопления мутаций у переменных РНК-содержащих вирусов [18]. Каждый изолят этого фага содержит популяцию близкородственных, но отличающихся геномов. При репродукции фага в одной линии клеток архей рода *Sulfolobus* доминируют один или несколько геномов, а при пассировании в новом штамме хозяйских клеток фаговая популяция претерпевает существенные изменения и происходит отбор других преобладающих вариантов [18]. Геномы фагов SIRV1 и SIRV2 состоят из блоков высокоомологичных нуклеотидных последовательностей, разделённых переменными фрагментами, возникающими в результате рекомбинаций, дупликаций генов, горизонтального обмена генами между гомологичными генами фагов и хозяйских клеток археобактерий [19]. Обнаружены участки гомологии между фрагментами геномов фагов семейств Lipothrixviridae или Rudiviridae и участками хромосом или конъюгативных плазмид археобактерий рода *Sulfolobus* [20]. Короткие прямые повторы образуют кластеры в пределах 300 н.п. от каждого из концов линейного генома фагов архей, что напоминает теломерные концы эукариотических хромосом [20]. В остальном механизмы репликации и разделения репликативных интермедиатов рудивирусов соответствуют таковым у эукариотических ДНК-содержащих вирусов с линейным геномом (Poxviridae, African Swine fever virus и *Chlorella virus*) и у фагов архей другого семейства Lipothrixviridae [19]. Приблизительно 90 % генов фагов архей уникальны и только несколько открытых рамок считывания гомологичны для различных фаговых семейств, что свидетельствует об исключительности механизмов адаптации к высоким температурам окружающей среды [21].

Анализ нуклеотидных последовательностей хромосом и внехромосомных генетических элементов (плазмид, транспозонов и

фагов) архей выявил черты сходства с эубактериями (опероны с общей системой регуляции функционально близких генов), с эукариотами (интроны в генах рибосомных (23S и 16S рРНК) и транспортных РНК [4]; многократно повторяющиеся нуклеотидные последовательности, в частности, короткие прямые повторы длиной 25–36 н.п.; гомология археобактериальных и эукариотических генов и их фрагментов, так называемая мозаичная структура генов), а также уникальные для архей особенности организации генома (например, интроны группы II образуют кластеры до 4 интронов без гена обратной транскриптазы [22]). Например, у *Methanococcus jannaschii* 44 % генов имеют гомологов среди эубактерий и эукариот, а 56 % генов уникальны [1]. У метаногенных архей *Methanosarcina acetivorans* обнаружены 21 интрон группы II, 7 из которых не кодируют обратную транскриптазу. Необычен сайт-специфический способ встраивания таких интронов в геном архей с формированием кластера до 4 интронов [22].

Молекулярные механизмы реализации генетической информации

Распространено мнение, что археи по форме подобны бактериям, а по содержанию – эукариотическим клеткам животных и растений. Структуры репликативного комплекса и области начала репликации генома архей гомологичны преимущественно эукариотическим аналогам (табл. 2) за исключением строения топоизомераз [4]. Археобактериальная ДНК-зависимая ДНК-полимераза вместе с α , ϵ и δ ДНК-полимеразами эукариот относится к В-типу полимераз, которые ингибируются афидиколином [4]. У кренархеот ДНК-полимераза D-типа, а у эубактерий – С-типа. Некоторые археобактериальные ДНК-полимеразы обладают 3'-5' экзонуклеазной активностью [1]. С участком начала репликации генома архей и эукариот связывается белковый комплекс ORC (origin replication complex), а у эубактерий – неродственный индивидуальный белок DnaA. У галобактерий *Halobacterium halobium* обнаружен комплекс ДНК-полимеразы-праймазы-обратной транскриптазы [4]. 3'-5'-геликаза – белок Dna2 архей и эукариот не гомологичен белку DnaB

Таблица 2

Сравнение репликативных комплексов архей, бактерий и эукариот

Признак	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
ДНК-зависимая ДНК-полимераза	Тип В Исключение – тип Д у <i>Crenarchaeota</i>	Тип С	3 ДНК-полимеразы (α , ϵ , δ) Тип В
Начало репликации	Ori – ORC	Ori – DnaA	Ori – ORC
Нуклеосомы	+	–	+
ДНК –геликаза	Dna2 (3'-5')	DnaB (5'-3')	Dna2 (3'-5')
Топоизомеразы	Торо IA термофилов Торо IIА галобак- терий Торо VI <i>Methanococcus jannaschii</i>	Торо IA Торо IIА	Гомолог ТороIIВ

эубактерий с активностью 5'-3'-геликазы. Топоизомеразы архей семейств IA и IIА гомологичны обратной гиразе и гиразе бактерий, кроме этого у гипертермофильных архей *Methanococcus jannaschii* при отсутствии генов ДНК-гираз обнаружен особый тип топоизомераз Торо VI, являющийся прототипом эукариотической топоизомеразы ТороIIВ [4] (табл. 2).

Устойчивость ДНК к денатурации в экстремальных условиях обитания архей может обеспечиваться ДНК-связывающими белками – аналогами гистонов эукариот (табл. 2) [4], полиаминами [23], относительно высоким содержанием нуклеотидных остатков G и C у термофилов или высокими внутриклеточными концентрациями солей у некоторых галофилов. Связывание гистонов с эукариотическими ДНК приводит к отрицательной спирализации, в то время как для комплекса ДНК с белком HMf архей *Methanobacteriales* характерна положительная суперспирализация. Клеточные полиамины, стабилизирующие ДНК и вторичные структуры РНК, разнообразны по структуре у экстремофильных архей [23]. Линейные триамины (спермидин, норспермидин и гомоспермидин), тетраамины (спермин и норспермин), пента- и гексаамины, гуанидоамин (агматин), четвертичный разветвлённый пентаамин N⁴-бис(аминопропил)спермидин и ацетилированный пентаамин

распределены неравномерно в клетках различных родов архей, однако в целом их структурное разнообразие и относительное содержание превышают таковые для бактерий и эукариот [23].

Для защиты генетической информации от экзогенных генетических элементов действует система рестрикции-модификации, характерная для большинства известных прокариотических клеток. Тем не менее нестабильность геномов и горизонтальный обмен генами между археями и их фагами нарушают привычные нормы [15, 17–21].

Механизмы транскрипции архей также больше соответствуют эукариотическому способу экспрессии генов, чем бактериальному (табл. 3). Число субъединиц археобактериальных РНК-полимераз составляет 6–14 [15], которые в большей степени гомологичны 15 известным субъединицам эукариотических РНК-полимераз, чем 4 субъединицам бактериальных полимераз (α , β , β' -субъединицы и σ -фактор) [4]. Однако у архей единый ферментативный транскрипционный комплекс, а у эукариот – 3 ядерные РНК-полимеразы I, II и III. Промотор для РНК-полимераз архей – это АТ-богатая последовательность на расстоянии от -32 до -25 н.п. от старта транскрипции, которая по структуре гомологична ТАТА-боксу эукариот. Археи и эукариоты сходны и по транскрипционным факторам, необходимым для инициа-

Таблица 3

Сравнение механизмов транскрипции у архей, бактерий и эукариот

Признак	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
ДНК-зависимая РНК-полимераза	6–14 субъединиц	4 субъединицы	15 субъединиц
Промотор	TATA-бокс	Бокс Прибнова	TATA-бокс
Транскрипционные факторы	TFB, TFIIB, TBP	Нет	TFIIB, TBP
Активаторы и репрессоры	Прокариотические	Прокариотические	Эукариотические

ции транскрипции (TBP, TFB [24] и TFIIB [4]) (табл. 3). Однако система активаторов и репрессоров архей ближе к системе эубактерий [25].

Интроны генов тРНК у архей и эукариот сходны по размеру и положению. Кроме того, обнаружены интроны в генах 16S и 23S рРНК. Сплайсинг происходит в сплайсосомах у эукариот, состоящих из 5 малых ядерных РНК: U1, U2, U4, U5 и U6 (50–200 н.о.) и нескольких белков, включая фибрилларин. У метаногенных архей также найден гомолог гена фибрилларина [4].

Более всего отличий архей от бактерий и эукариот найдено в механизмах трансляции (табл. 4). Несмотря на сходство прокариотических рибосом 70S по размеру, археи и бактерии отличаются по устойчивости к антибиотикам [4] (табл. 4). Напротив, дифтерийный

токсин, инактивирующий фактор элонгации трансляции EF-2 эукариот, также подавляет белковый синтез и у архей. Следовательно, по белковому составу рибосомы архей ближе к эукариотам. Матричные РНК архей имеют 2 консервативных участка: 1) ϕ – на расстоянии 10 н.о. от иницирующего кодона, комплементарен 3'-концу 16S рРНК (соответствует последовательности Shine-Dalgarno эубактерий для правильной ориентации мРНК на рибосомах); 2) α – на расстоянии 20–35 н.о. от иницирующего кодона [26]. Археобактериальная РНКазы Р, катализирующая гидролиз 5'-лидерной последовательности от тРНК, является полисубъединичным ферментом, состоящим из 4 белков (Mth11, Mth1618, Mth687, Mth688) и 1 молекулы РНК, которые гомологичны эукариотическим аналогам [27]. У архей и эукариот к

Таблица 4

Сравнение механизмов трансляции у архей, бактерий и эукариот

Признак	<i>Archaea</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>
Рибосомы	70S	70S	80S
Чувствительность к тетрациклину, эритромицину, стрептомицину, кирромицину и хлорамфениколу	–	+	–
Чувствительность к дифтерийному токсину	+	–	+
3'-ССА тРНК	Посттранскрипционное присоединение ССА	Удаление 3'-концевых н.о.	Посттранскрипционное присоединение ССА
Аминоацил-тРНК-синтазы	Эукариотические	Прокариотические	Эукариотические

3'-концам тРНК посттранскрипционно присоединяется ССА-последовательность, а у бактерий происходит ферментативное удаление концевых нуклеотидных остатков [4]. Относительное содержание модифицированных нуклеотидных остатков в тРНК архей, образующихся посредством посттранскрипционного замещения стандартных оснований дигидроуридином, риботимидином, псевдоуридином и др., может достигать 10 %. При этом псевдоуридинсинтетаза архебактерий гомологична эукариотической. У архей нет формилметионина [4].

Универсальный генетический код дополнен кодоном UGA для 21-й основной аминокислоты – селеноцистеина у некоторых архей, бактерий и эукариот, включая человека. Недавно у метанобактерий в составе фермента, катализирующего распад метиламинов с образованием метана, и у некоторых эубактерий открыта 22-основная аминокислота – пирролизин, кодируемая UAG-кодоном, ранее считавшимся стоп-кодоном [4].

Посттрансляционная модификация белков ограничена N-гликозилированием, которое происходит одновременно с трансляцией, как у эукариот [4]. Другие типы модификации белков для архей пока не описаны. Защита архебактериальных белков от денатурации в экстремальных условиях обеспечивается посредством увеличения содержания неполярных аминокислотных остатков (например, для белков *Pyrococcus furiosus* соотношение неполярных и полярных аминокислотных остатков составляет 3 : 1) и обилия шаперонов. Термостабильные белки теплового шока (шапероны семейств Hsp60 и Hsp70) при связывании с другими белками делают их также устойчивыми к нагреванию. Так, у термофильных архебактерий рода *Pyrodictium* (рис. 2), живущих вблизи вулканов, 80 % цитоплазматических белков – шаперонины, состоящие из нескольких субъединиц – шаперонов семейства Hsp60. Шаперонины архей близки по строению эукариотическим, состоят из 3 различных белков, образующих 8- и 9-членные кольца [4]. Шапероны семейства Hsp90 у архей пока не найдены [28].

Регуляторные функции у архей выполняет цАМФ, синтез которого катализируется аденилатциклазами только III класса из 6

известных классов аденилатциклаз, наиболее распространенного класса среди архебактерий, эубактерий и эукариот [29]. Универсальных бактериальных эффекторов стресса ppGpp и pppGpp у архей не обнаружено [30]. По-видимому, в ответ на экстремальные условия окружающей среды у архей происходит запуск других биохимических реакций.

Кофакторы ферментов архей, такие, как метаноптерин, метанофуран, коферменты В и М, факторы F₄₂₀ и F₄₃₀, кобамиды, бензотиофены или метанофеназины, галоцианин в клетках бактерий и эукариот не синтезируются [12]. Столь существенное отличие кофакторов метаболизма не соответствует постулату о сестринских филогенетических связях архей и эукариот (рис. 1а).

Поскольку на универсальном филогенетическом дереве жизни (рис. 1а) гипертермофильные археи и бактерии расположены близко к общему предшественнику всех живых существ, а их фаги не только необычайно разнообразны по формам и структурам геномов, но и гомологичны ряду вирусов эукариот [18–21], то можно предположить, что вирусные геномы предшествовали происхождению клеточных форм жизни [17]. Следовательно, сохранившиеся до наших дней виды мезофильных вирусов имели предшественников среди фагов гипертермофильных архей. К сожалению, проверка этой гипотезы посредством сравнения известных геномов вирусов едва ли возможна, поскольку быстрая эволюция вирусных генов препятствует установлению родственных связей. Несомненно, что всесторонние научные исследования архей и их фагов приведут к решению биотехнологических проблем [1].

Литература

1. Madigan M.T., Marrs B.L. Extremophiles // Sci. Amer. 1997. V. 4. P. 82–87.
2. Fox G.E., Magrum L.J., Balch W.E., Wolfe R.S., Woese C.R. Classification of methanogenic bacteria by 16S ribosomal RNA characterization // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 4537–4541.
3. Woese C.R., Fox G.E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 5088–5090.

4. Шаталкин А.И. Высший уровень деления в классификации организмов. 2. Археобактерии, эубактерии и эукариоты // Журн. общ. биологии. 2004. Т. 65, № 2. С. 99–115.
5. Шаталкин А.И. Высший уровень деления в классификации организмов. 3. Одноплёночные (Monodermata) и двуплёночные (Didermata) организмы // Журн. общ. биологии. 2004. Т. 65, № 3. С. 195–210.
6. Gupta R.S. Protein phylogenies and signature sequences: a reappraisal of evolutionary relationships among Archaeobacteria, Eubacteria, and Eukaryotes // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998. V. 62. P. 1435–1491.
7. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 1998. V. 73. P. 203–266.
8. Esser C., Ahmadijead N., Wiegand C., Rotte C., Sebastiani F., Gelius-Dietrich G., Henze K., Kretschmann E., Richly E., Leister D., Bryant D., Steel M.A., Lockhart P.J., Penny D., Martin W. A genome phylogeny for mitochondria among α -Proteobacteria and a predominantly eubacterial ancestry of yeast nuclear genes // Mol. Biol. and Evol. 2004. V. 21, № 9. P. 1643–1660.
9. Lepp P.W., Brinig M.M., Ouverney C.C., Palm K., Armitage G.C., Relman D.A. Methanogenic Archaea and human periodontal disease // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 6176–6181.
10. Robichaux M., Howell M., Boopathy R. Growth and activities of sulfate-reducing and methanogenic bacteria in human oral cavity // Curr. Microbiol. 2003. V. 47. P. 12–16.
11. Florin T.H., Zhu G., Kirk K.M., Martin N.G. Shared and unique environmental factors determine the ecology of methanogens in humans and rats // Am. J. Gastroenterol. 2000. V. 95. P. 2872–2879.
12. Martin W. Pathogenic archaeobacteria: do they not exist because archaeobacteria use different vitamins? // BioEssays. 2004. V. 26. P. 592–593.
13. Tyson G.W., Chapman J., Hugenholtz P., Allen E.E., Ram R.J., Richardson P.M., Solovyev V.V., Rubin E.M., Rokhsar D.S., Banfield J.F. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment // Nature. 2004. V. 428. P. 37–43.
14. Kitano T., Onoue T., Yamauchi K. Archaeal lipids forming a low energy-surface on air-water interface // Chemistry and Physics of Lipids. 2003. V. 126. P. 225–232.
15. Schnabel H., Schnabel R., Yeats S., Tu J., Gierl A., Neumann H., Zillig W. Genome organization and transcription in archaeobacteria // Folia Biol. (Praha). 1984. V. 30. P. 2–6.
16. Zillig W., Prangishvili D., Schleper C., Elferink M., Holz I., Albers S., Janekovic D., Gotz D. Viruses, plasmids and other genetic elements of thermophilic and hyperthermophilic *Archae* // FEMS Microbiol. Rev. 18. P. 225–236.
17. Prangishvili D. Evolutionary insights from studies on viruses of hyperthermophilic archaea // Res. in Microbiol. 2003. V. 154. P. 289–294.
18. Peng X., Kessler A., Phan H., Garrett R.A., Prangishvili D. Multiple variants of the archaeal DNA rudivirus SIRV1 in a single host and a novel mechanism of genomic variation // Mol. Microbiol. 2004. V. 54, № 2. P. 366–375.
19. Peng X., Blum H., She Q., Mallok S., Brugger K., Garrett R.A., Zillig W., Prangishvili D. Sequences and replication of genomes of the archaeal rudiviruses SIRV1 and SIRV2: relationships to the archaeal lipothrixvirus SIFV and some eukaryal viruses // Virology. 2001. V. 291. P. 226–234.
20. Bettstetter M., Peng X., Garrett R.A., Prangishvili D. AFBV1, a novel virus infecting hyperthermophilic archaea of the genus *Acidianus* // Virology. 2003. V. 315. P. 68–79.
21. Prangishvili D., Garrett R.A. Exceptionally diverse morphotypes and genomes of crenarchaeal hyperthermophilic viruses // Biochem. Soc. Trans. 2004. V. 32. P. 204–208.
22. Dai L., Zimmerly S. ORF-less and reverse-transcriptase-encoding group II introns in archaeobacteria, with a pattern of homing into related group II intron ORFs // RNA. 2003. V. 9. P. 14–19.
23. Hamana K., Tanaka T., Hosoya R., Niitsu M., Itoh T. Cellular polyamines of the acidophilic, thermophilic and thermoacidophilic archaeobacteria, *Acidilobus*, *Ferroplasma*, *Pyrobaculum*, *Pyrococcus*, *Staphylothermus*, *Thermococcus*, *Thermoplasma* and *Vulcanisaeta* // J. Gen. Appl. Microbiol. 2003. V. 49. P. 287–293.
24. Qureshi S.A., Bell S.D., Jackson S.P. Factor requirements for transcription in the Archaeon *Sulfolobus shibatae* // EMBO. 1997. V. 16. P. 2927–2936.
25. Kyrpides N.C., Ouzounis C.A. Transcription in Archaea // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 8545–8550.
26. Fuglsang A. Compositional nonrandomness upstream of start codons in archaeobacteria // Gene. 2004. V. 332. P. 89–95.
27. Boomersshine W.P., McElroy C.A., Tsai H.-Y., Wilson R.C., Gopalan V., Foster M.P. Structure of Mth11/Mth Rpp29, an essential protein

- subunit of archaeal and eukaryotic RNase P // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 15398–15403.
28. Stechmann A., Cavalier-Smith T. Evolutionary origins of Hsp90 chaperones and a deep paralogy in their bacterial ancestors // *J. Eukaryot. Microbiol.* 2004. V. 51. P. 364–373.
29. Shenoy A.R., Visweswariah S.S. Class III nucleotide cyclases in bacteria and archaeobacteria: lineage-specific expansion of adenylyl cyclases and a death of guanylyl cyclases // *FEBS Letters*. 2004. V. 561. P. 11–21.
30. Cellini A., Scoarughi G.L., Poggiali P., Santino I., Sessa R., Donini P., Cimmino C. Stringent control in the archaeal genus *Sulfolobus* // *Res. Microbiol.* 2004. V. 155. P. 98–104.