

Адаптация *Desulfovibrio gilichinskyi* K3S^T к отрицательной температуре и высокой солености

Рыжманова Я.В., Щербакова В.А.

ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН;
ryzhmanova@gmail.com

Криопэги – древние высокоминерализованные закрытые водные экосистемы морского происхождения, обнаруженные в многолетнемерзлых отложениях Арктики на глубине нескольких десятков метров. Они характеризуются постоянными отрицательными температурами и высокой соленостью, и являются местом обитания психротолерантных и галотолерантных микроорганизмов [1-6].

Из криопэга полуострова Ямал (70°18'64"с.ш. 68°00'00"в.д.) недавно была выделена и описана новая психроактивная галофильная сульфатовосстанавливающая бактерия *Desulfovibrio gilichinskyi* K3S^T, способная расти при отрицательных температурах [7].

Поскольку *D. gilichinskyi* K3S^T является обитателем экосистемы с высоким уровнем минерализации (77.16 г/л) и постоянными отрицательными температурами, бактерия должна использовать ряд адаптационных механизмов, позволяющих функционировать в этих условиях. Цель настоящей работы состояла в анализе генома *D. gilichinskyi* K3S^T для выяснения возможных механизмов молекулярной адаптации в естественной среде обитания.

Для штамма K3S^T проведено секвенирование полного генома (U.S. DOE Joint Genome Institute), депонированного в JGI и GenBank под номерами IMG ID 2708742538 и FWZU00000000, соответственно. Размер генома составил 3962538 п.н. В геноме обнаружено 3648 генов, из них число генов кодирующих белки составило 3576, генов кодирующих ферменты 883, 72 РНК, среди которых только одна копия гена 16S рРНК. Содержание Г+Ц пар в ДНК составило 42.3 мол. %.

Холодовая адаптация бактерий затрагивает различные механизмы, включающие изменения текучести клеточной мембраны, синтез криопротекторных соединений, преодоление низкотемпературного барьера для поглощения углерода, изменения аминокислотного состава и т.п.

Анализ жирных кислот клеточных стенок *D. gilichinskyi* K3S^T показал высокий уровень ненасыщенных жирных кислот (59.8%), включая разветвленные изо/антеизо-жирные кислоты (20.6%). Кроме того, анализ геномных данных с использованием ресурсов JGI (<https://jgi.doe.gov/>) и PATRIC (<https://www.patricbrc.org/>) позволил обнаружить ген десатуразы жирных кислот (EC 1.14.19.1), позволяющий увеличить соотношение ненасыщенных жирных кислот в составе клеточных стенок. Этот ген также обнаружен у *D. profundus*, *D. africanus* и *D. ferrophilus* со сходством аминокислотных последовательностей 73.33, 62.73 и 56.97%, соответственно. Увеличение уровня ненасыщенных жирных кислот приводит к повышению текучести мембраны, что крайне важно для роста бактерии в воде криопэга при постоянных отрицательных температурах.

Анализ геномных данных также показал снижение содержания ряда аминокислот (Arg, Gln, Ala и Pro), в то время как содержание аминокислот с гидрофобными остатками (Leu и Phe) было увеличено по сравнению с ближайшими мезофильными видами. Эти изменения также характерны для психрофильных представителей микробного мира.

Сочетание в экосистеме криопэга двух таких неблагоприятных факторов как отрицательная температура и высокая минерализация предполагает использование осмопротекторов, зачастую выполняющих и криопротекторную функцию. Анализ генома *D. gilichinskyi* K3S^T позволил обнаружить гены транспортной системы глицин бетаина ABC-типа. Анализ аминокислотных последовательностей белков этой транспортной системы показал высокий процент гомологии (92.75-86.97%) с ближайшими

родственниками *D. gilichinskyi* K3S^T - *D. ferrireducens* и *D. frigidus* - также выделенными из арктических экосистем. Кроме того, в геноме *D. gilichinskyi* K3S^T обнаружен ген *treZ* малтоолигосил-трегалоза трегалогидролазы, кодирующий белок TreZ (EC:3.2.1.141), участвующий в TreYZ пути биосинтеза трегалозы.

Таким образом, *D. gilichinskyi* K3S^T разработал эффективные стратегии для выживания в среде с отрицательной температурой и высокой минерализацией. Транспорт из окружающей среды глицин-бетаина и синтез трегалозы - наиболее распространенных микробных осмо/криопротекторов - защищает клетки от дегидратации и повреждающего действия низких температур. Изменение состава жирных кислот и аминокислотного состава позволяет поддерживать мембраны и жгутики в жидкокристаллическом состоянии с повышенной текучестью и пониженной вязкостью, что также защищает бактерию от повреждающего действия холода.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00831). Геномные данные получены U.S. DOE Joint Genome Institute в соответствии с контрактом № DE-AC02-05CH11231.

Литература

1. Gilichinsky D, Rivkina E, Bakermans C, Shcherbakova V, Petrovskaya L *et al.* Biodiversity of cryopegs in permafrost. *FEMS Microbiol Ecol* 2005 53: 117-128.
2. Печерицына С.А., Щербакова В.А., Холодов А.Л., Акимов В.Н., Абашина Т.Н., Сузина Н.Е., Ривкина Е.М. Микробиологический анализ криопэгов Варандейского полуострова на побережье Баренцева моря. *Микробиология*, 2007. Т. 76. № 5. С. 694-701.
3. Shcherbakova VA, Chuvilskaya NA, Rivkina EM, Pecheritsyna SA, Laurinavichius KS *et al.* Novel psychrophilic anaerobic spore-forming bacterium from the overcooled water brine in permafrost: description *Clostridium algoriphilum* sp. nov. *Extremophiles* 2005 9: 239-246.
4. Bakermans C, Ayala-del-Río H, Ponder MA, Vishnivetskaya T, Gilichinsky D *et al.* *Psychrobacter cryohalolentis* sp. nov. and *Psychrobacter arcticus* sp. nov., isolated from Siberian permafrost. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006 56: 1285-1291.
5. Щербакова ВА, Чувильская НА, Ривкина ЕМ, Печерицына СА, Суетин СВ *et al.* Новая галотолерантная бактерия из криопэга в вечной мерзлоте: описание *Psychrobacter muriicola* sp. nov. *Микробиология* 2009 78: 98-105.
6. Shcherbakova V, Chuvilskaya N, Rivkina E, Demidov N, Uchaeva V *et al.* *Celerinatantimonas yamalensis* sp. nov., a cold-adapted diazotrophic bacterium from a cold permafrost brine. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013 63: 4421-4427.
7. Ryzhmanova Y, Abashina T, Petrova D, Shcherbakova V. *Desulfovibrio gilichinskyi* sp. nov., a cold-adapted sulfate-reducing bacterium from a Yamal Peninsula cryopeg. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2019 69(4): 1081-1086.