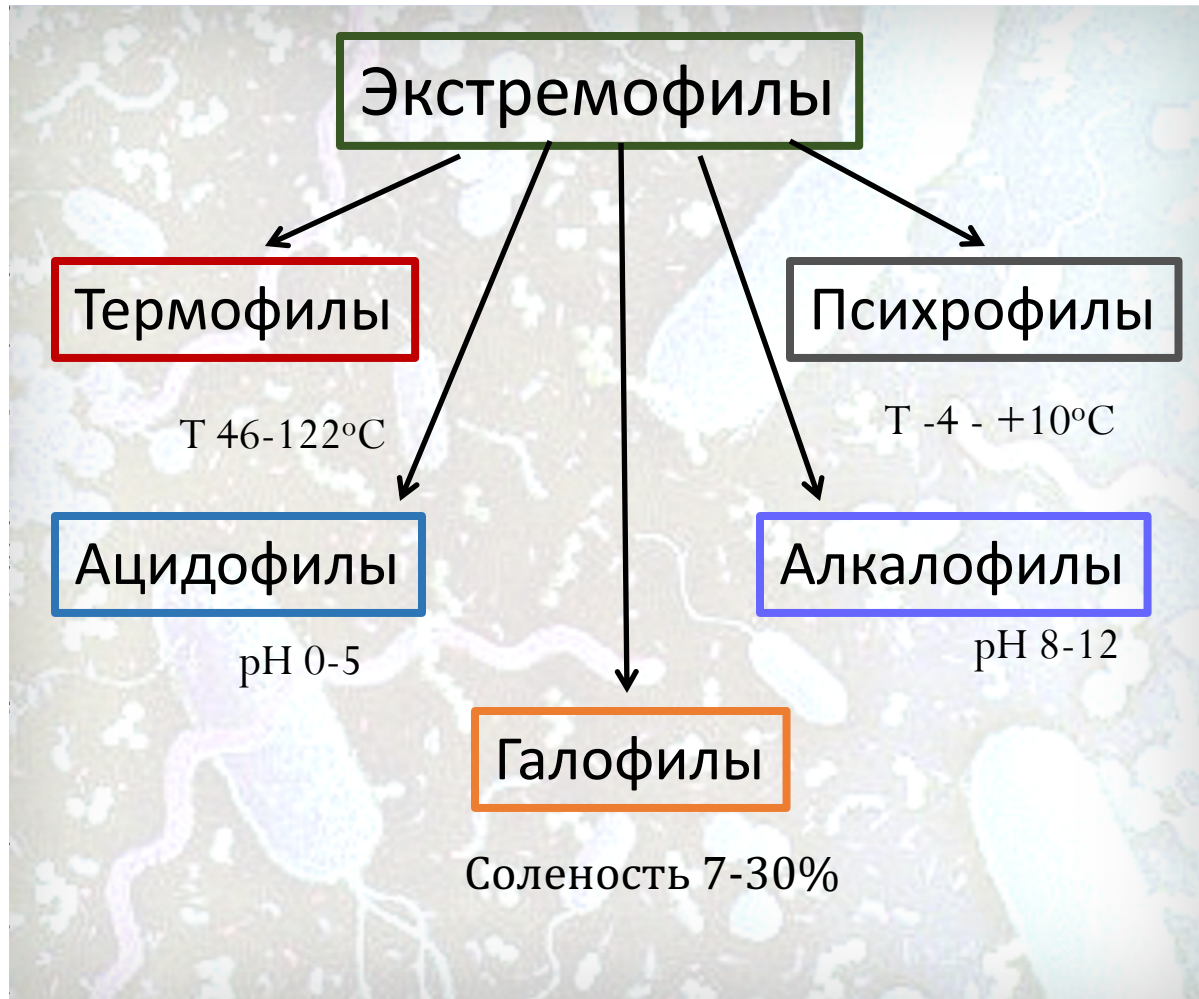


# Микробиология в XXI веке



Лекция 9  
Экстремофильные  
микроорганизмы

**Экстремофилы: микроорганизмы, обитающие при крайних значениях физико-химических параметров среды**



**!** Следует различать экстремофилов и экстремотолерантные микроорганизмы **!**

Термофилы – микроорганизмы с температурным оптимумом роста  $>46^{\circ}\text{C}$  (одно из определений)

Умеренные термофилы ( $40_{\text{min}} - 50-60_{\text{opt}} - 70_{\text{max}}^{\circ}\text{C}$ )

Экстремальные термофилы ( $60_{\text{min}} - 70-75_{\text{opt}} - 80_{\text{max}}^{\circ}\text{C}$ )

Гипертермофилы ( $80_{\text{min}} - >85_{\text{opt}} - >95_{\text{max}}^{\circ}\text{C}$ )

Максимальная температура роста, известная в настоящее время –  $122^{\circ}\text{C}$  (*Methanopyrus kandlerii*)

## История исследования: «золотой век термофилов»



Природные термальные  
местообитания **1966**

**Йеллоустоунский Национальный Парк, США**

Экстремальные термофилы с  $T_{opt}$  роста  $70^{\circ}\text{C}$  и выше:


*Thermus aquaticus*  
*Sulfolobus acidocaldarius* } **аэробы**



**Томас Д. Брок**

## История исследования: «золотой век термофилов»



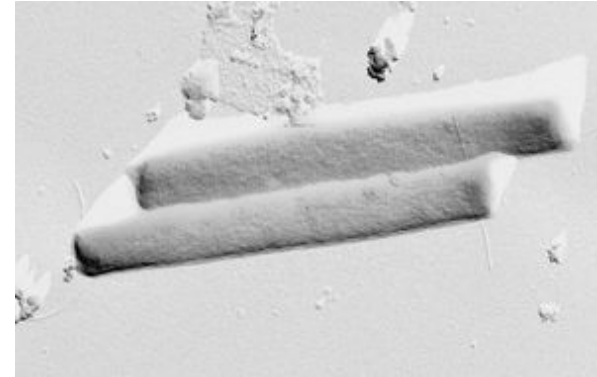
 **Но:** В 50-е годы XX века С.И. Кузнецов обнаружил обильный рост микроорганизмов в горячих источниках Камчатки, в том числе с температурой до 100°C.

*Кузнецов С.И. Микроорганизмы горячих ключей Камчатки. Труды Ин-та микробиологии АН СССР. 1955. Т. 4. С. 130.*

## История исследования: «золотой век термофилов»



**Вольфрам Циллиг, Карл Штеттер**



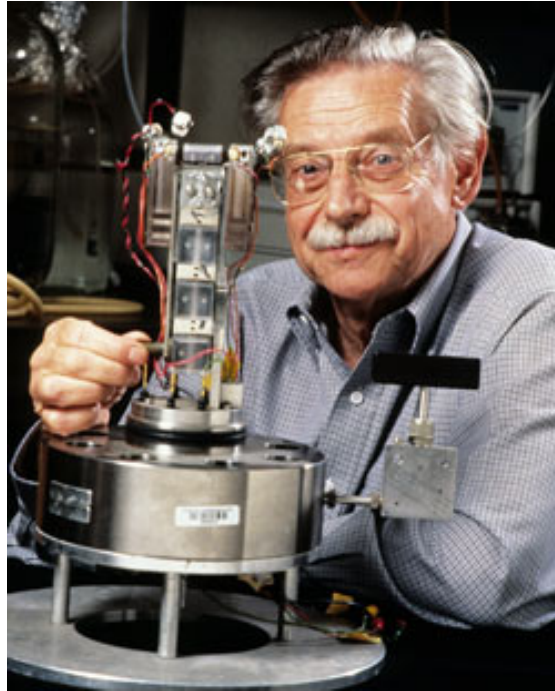
*Thermoproteus tenax*  
Growth opt. at 88°C

**Гипертермофилы 1981**

**Анаэробы**

*Zillig W. et al. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. 1981. C2:205-227*

## История исследования: «золотой век термофилов»



**Хольгер Яннаш**



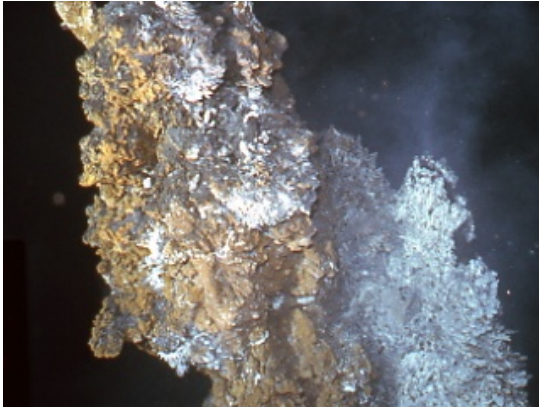
### Открытие глубоководных гидротерм **1984**

Перегретый флюид, несущий восстановленные неорганические субстраты, смешивается с холодной океанической водой, насыщенной кислородом - > симбиотические сообщества беспозвоночных

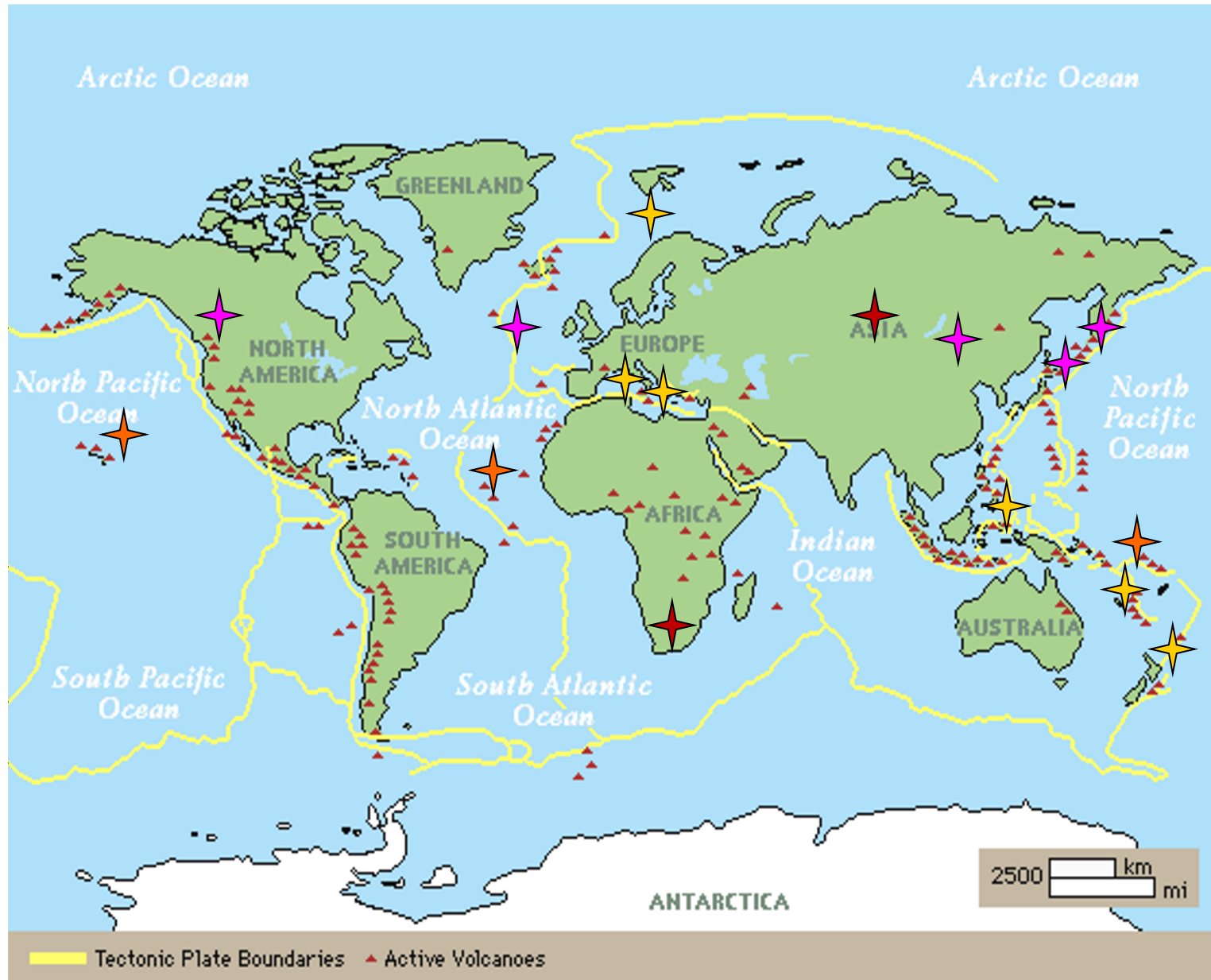
Температура воды достигает 400°C

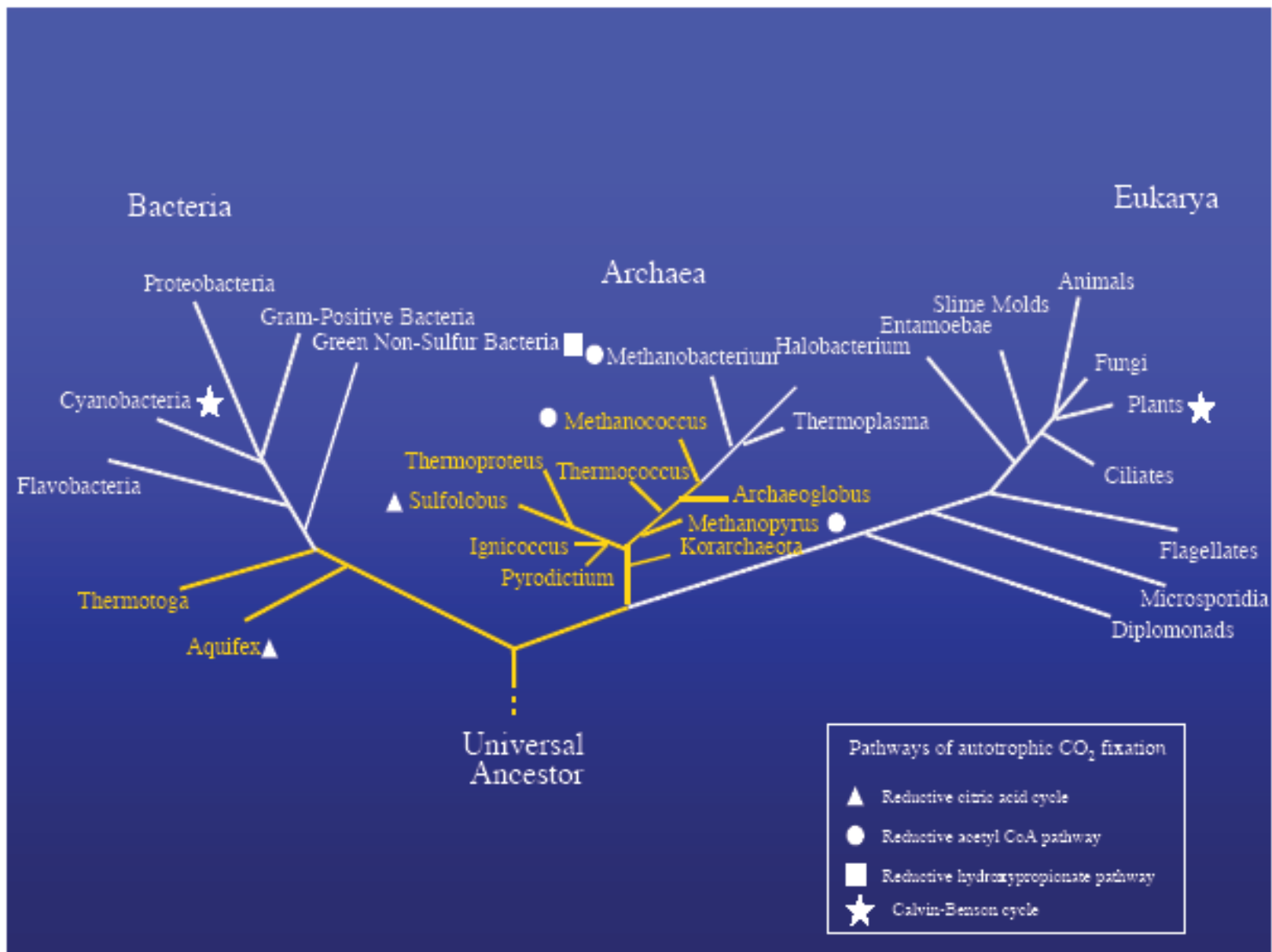
**В глубоководных гидротермах обитают микроорганизмы с наиболее высокими температурными характеристиками роста**

## Термальные местообитания



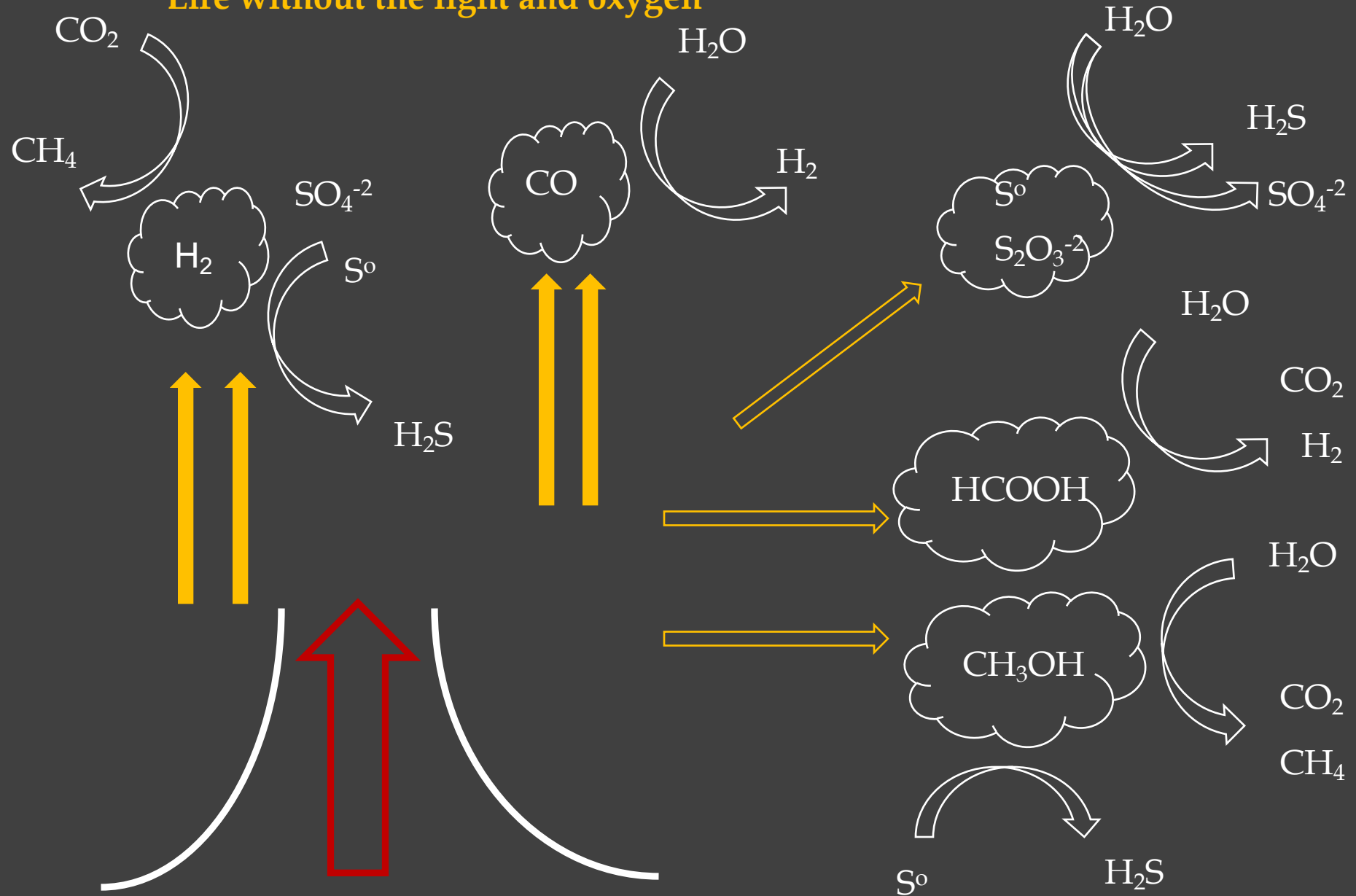






# Метаболическое разнообразие термофилов

## Life without the light and oxygen



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Наземные горячие источники

Происхождение: **вулканическое** или рифтовое

Субстраты:

- Органическое вещество
- Неорганические восстановленные соединения вулканического происхождения:  
водород, аммоний, соединения серы, восстановленные металлы и металлоиды, метан -> **субстраты для литоавтотрофов**



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Цианобактериальные маты

Цианобактерии: одноклеточные (*Synechocystis*), нитчатые (*Phormidium*, *Mastigocladus*)

Фототрофные бактерии (*Chloroflexus aurantiacus*)

Температура от 40 до 70°C

Слоистая структура, возможно, обусловленная суточным циклом роста мата

Спутники – органотрофы, разлагающие вещество цианобактерий

Метаногены, сульфатредукторы, сероредукторы



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Хемолитотрофные обрастания

Цепочки клеток, образующие «страусовые перья» -окисляют растворенный сероводород до серы

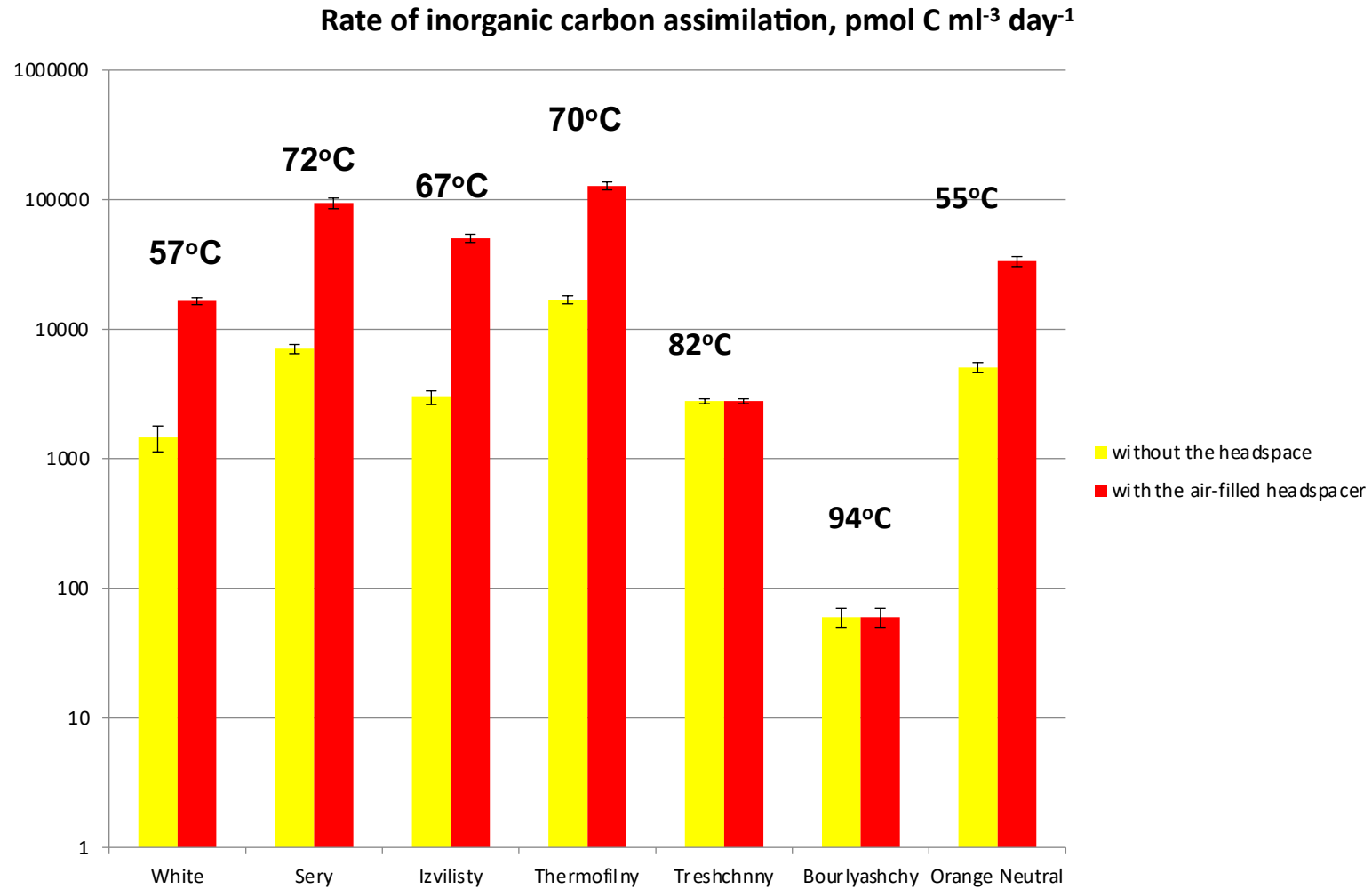
*Thermothrix thiopara*  
*Aquificales - Sulfurihydrogenibium*

Также присутствуют многочисленные спутники

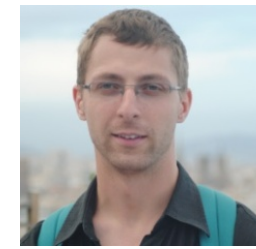
Два типа обрастаний: в проточной воде мощные белые «перья», в бессточных котлах на стенках – серые, гораздо более короткие



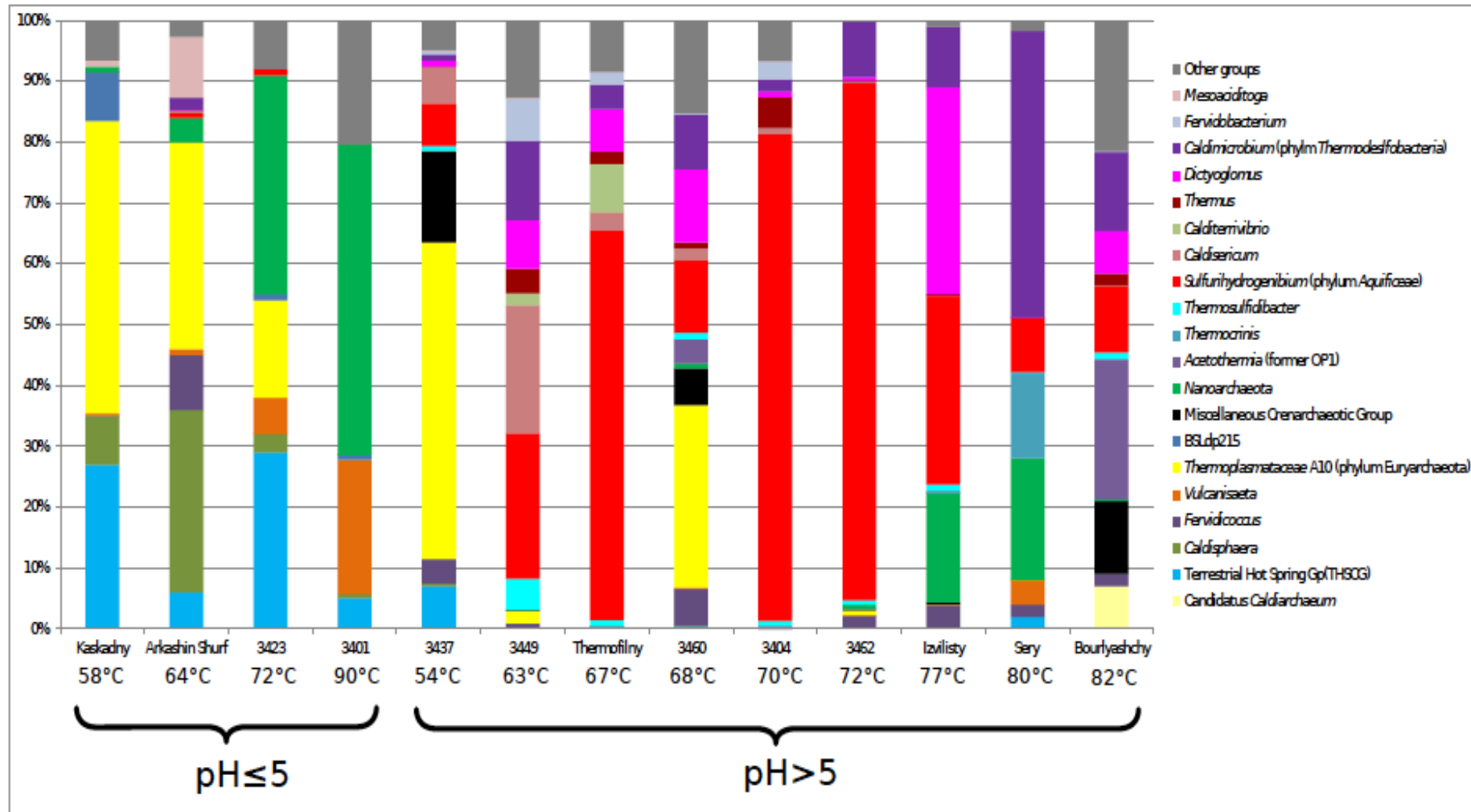
# Rate of inorganic carbon assimilation



# Phylogenetic diversity in Uzon Caldera hot springs



Alexander  
Merkel





# Bourlyashchy Pool



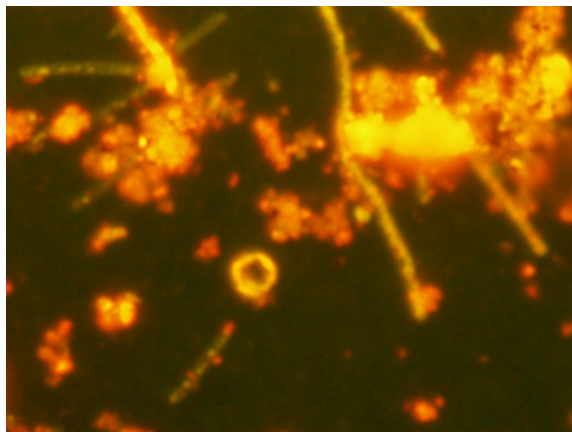
Nikolai  
Chernyh



The hottest pool in Uzon Caldera

Diameter ~ 10 m

Chemical composition of water indicates the predomination of volcanic fluid over meteoric water



Concentrated (x200)  
preparation of cells from  
Bourlyashchy Pool  
sediment stained with  
acridine orange

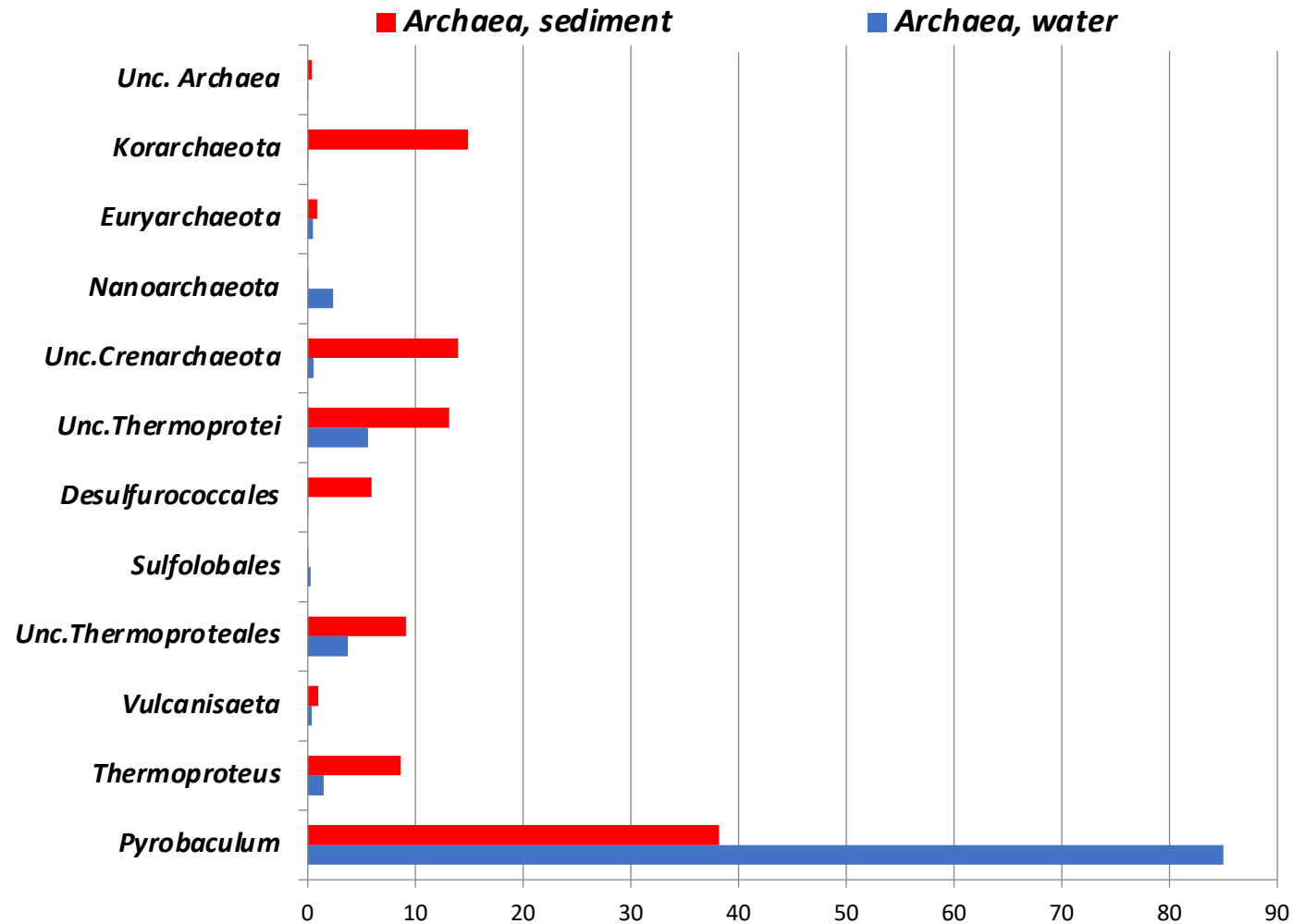
## Bourlyashchy Pool

	2007	2008	2014	2015
ToC	97	87	94	82
Total N of cells*	$6.8 \cdot 10^6$	$2.5 \cdot 10^8$	$1.0 \cdot 10^8$	-
Archaea, %**	46	-	30	22

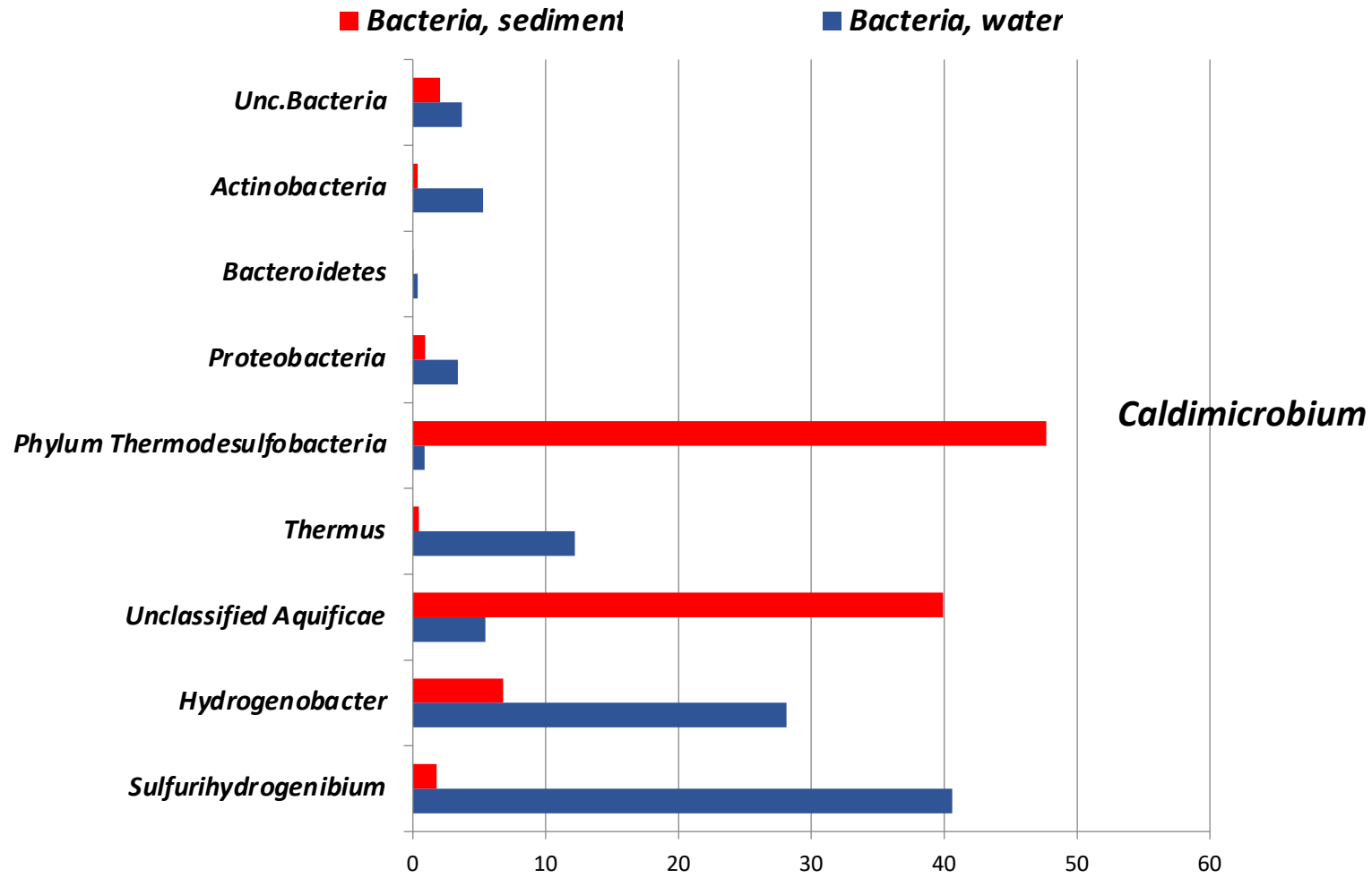
\*Acridine orange or DAPI staining

\*\*FISH or qPCR

# Phylogenetic diversity of archaea in Bourlyashchy Pool



# Phylogenetic diversity of bacteria in Bourlyashchy Pool



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Мелководные морские гидротермы

Активный обмен с окружающей морской средой

Постоянное поступление органики

Меняющиеся окислительно-восстановительные условия

(приливная зона)

Сульфатредукция преобладает над метаногенезом

Археи-гидролитики



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

Представители нового филума *Caldithrichaeota*

Глубоководные гидротермы – *C. abyssi*,  
факультативный водород-использующий автотроф  
Мелководные гидротермы – *C. palaeochoriensis*,  
облигатный органотроф



Гипертермофильная архея *Thermococcus*  
2319x1

Выделен из горячего источника на  
питорали о. Кунашир  
Способен к гидролизу полисахаридов, в  
том числе целлюлозы, с помощью  
уникальной мультидоменной целлюлазы

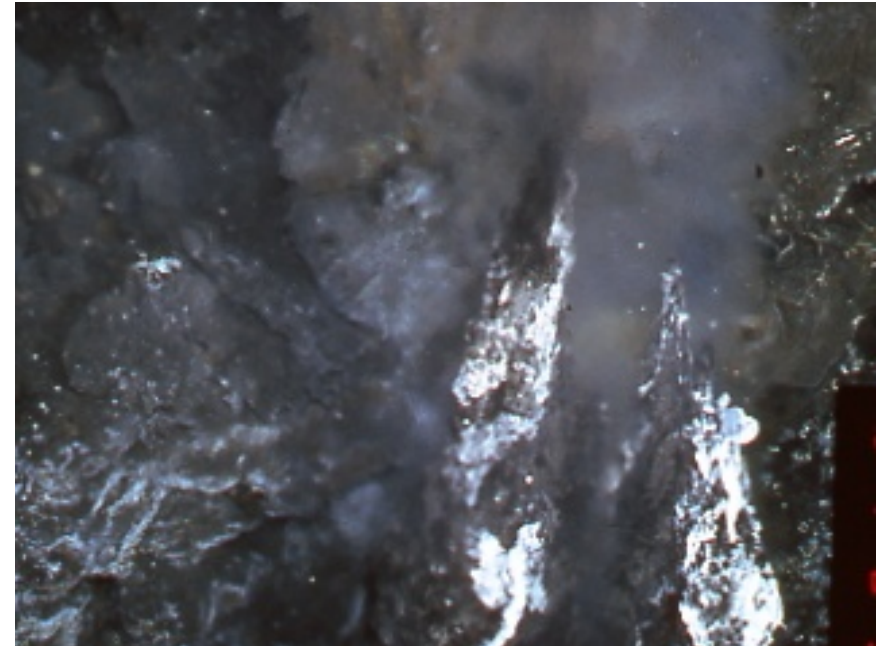


# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Глубоководные гидротермы

«Черные курильщики», зоны высачивания

- Очень высокие температуры
- Высокое гидростатическое давление
- Высокая концентрация растворенных газов
- Резкий градиент всех параметров



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Глубоководные гидротермы

- Гипертермофилы с наиболее высокими температурами роста
- Литотрофы и органотрофы
- Метаногены (высокая растворимость их субстрата – водорода)
- Микроорганизмы цикла серы: серо- и сульфатредукторы; археи и бактерии
- Способность использовать продукты серпентинизации (СО, формиат)
- Литотрофные микроорганизмы дают начало пищевой цепи



***Methanopyrus kandlerii* – самая высокая температура роста – 122°C**



# ТЕРМАЛЬНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

## Подземные местообитания

Высокие температуры

Закрытые экосистемы (нет обмена с современной биосферой)

Богатые органикой:  
нефтяные месторождения; субстрат – захороненное органическое вещество

Бедные органикой:  
шахты добычи других полезных ископаемых (золота) - также существует развитое микробное сообщество, однако исходный энергетический субстрат неясен



# Механизмы устойчивости биополимеров и клеточных структур:

Белки: более плотная упаковка за счет изменений на уровне первичной, вторичной и третичной структуры:

- повышенное содержание аланина и аргинина
- повышенное содержание водородных связей (образование альфа-спиралей и бета-слоев)
- гидрофобные взаимодействия
- ионные взаимодействия
- дисульфидные мостики

Нуклеиновые кислоты:

- суперспирализация за счет активности обратной гиразы

Мембраны:

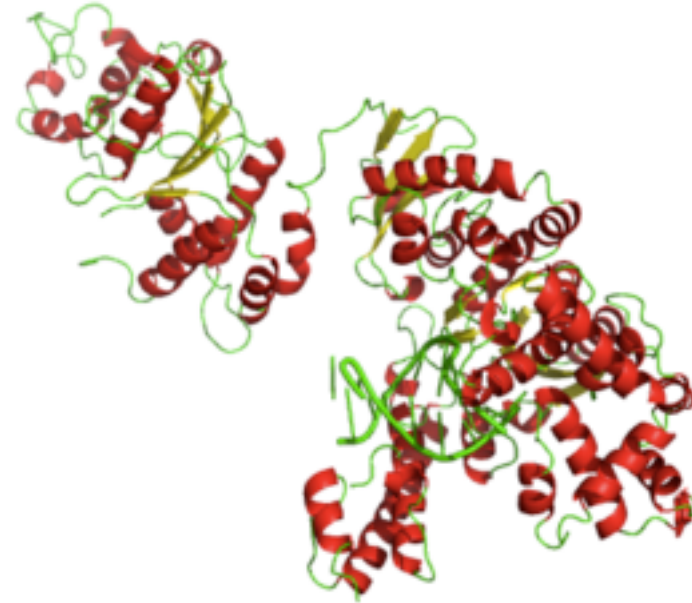
- более длинные и насыщенные жирные кислоты у бактерий
- изопреноидные эфиры у архей

# Тaq- полимераза

ДНК –полимераза из *Thermus aquaticus*

Обладает ДНК-полимеразной и 5',3'-  
эксонуклеазной активностями и  
применяется для  
проведения полимеразной цепной  
реакции (ПЦР).

Была впервые охарактеризована в 1976  
году.



**Период полужизни при температуре 92,5 °С составляет 130 минут**

Не имеет 3'-5' эксонуклеазной активности

## Термостабильные гидролазы

Термостабильные гидролазы из термофильных и гипертермофильных архей и бактерий используются в пищевой, фармацевтической целлюлозно-бумажной промышленности и при производстве детергентов.

Преимущества:

- Высокая стабильность ферментов, не только по отношению к температуре
- Понижение вязкости субстратов, повышение их растворимости
- Нет опасности контаминации

# МЕСТООБИТАНИЯ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТЬЮ

Организмы, растущие при морской солености – 2-7 %

Умеренные галофилы – 7-15 %

Экстремальные галофилы – 15-30 %

# МЕСТООБИТАНИЯ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТЬЮ

## **Осмопротекторы (до 0.5М в клетке):**

сахара – сахароза, трегалоза;

полиолы – глицерин, арабид;

глицинбетаин;

эктоин;

аминокислоты;

метилированные серные соединения

# МЕСТООБИТАНИЯ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТЬЮ

**Гиперсолёные лагуны – до 30% соли**

Продуценты органического вещества –  
*Dunaliella* (зеленые водоросли), *Microcoleus*  
(цианобактерии)

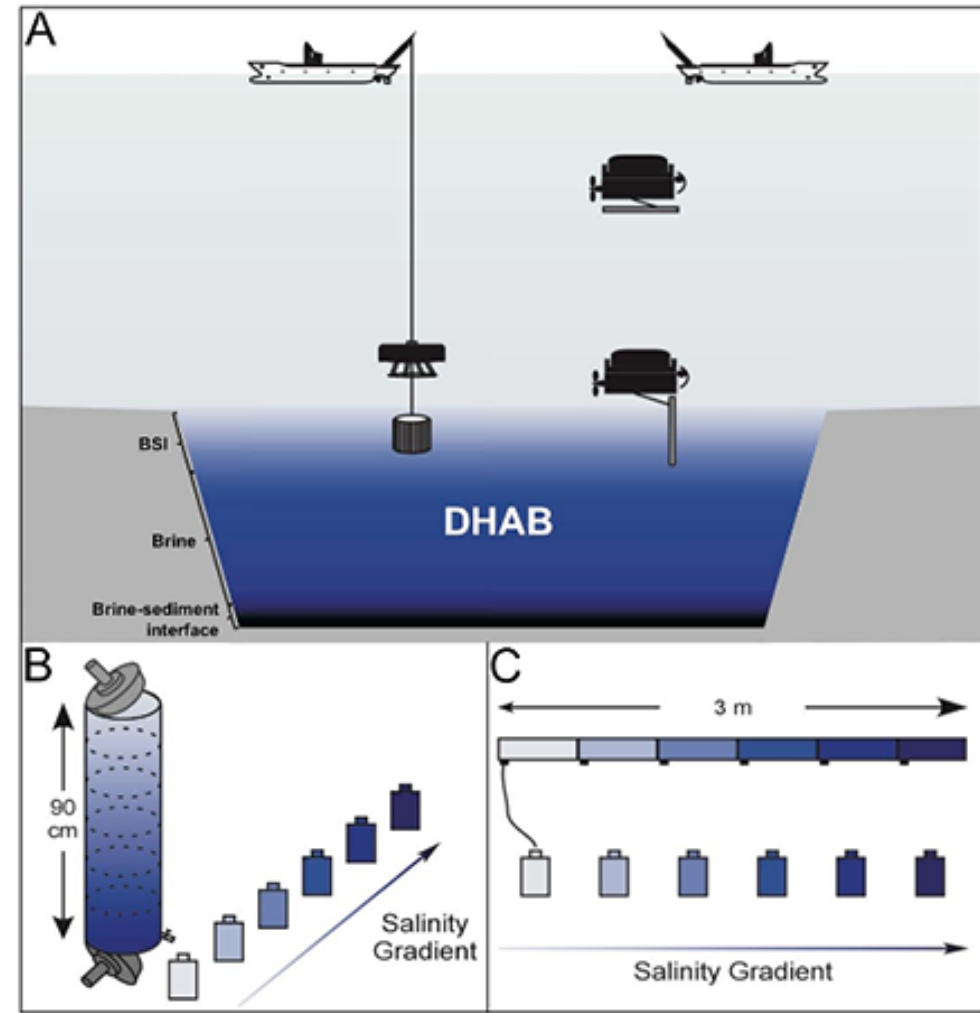
Деструкторы: галофильные археи –  
*Halobacteria*

Анаэробы- органотрофные бактерии  
*Haloanaerobiales*; метаногены,  
сульфатредукторы, ацетогены



# МЕСТООБИТАНИЯ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕНОСТЬЮ

Глубинные гиперсолёные брины





# МЕСТООБИТАНИЯ С ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТЬЮ

## Особенности цикла углерода в экстремально-галофильных местообитаниях:

На осмопротекторы приходится значительная доля углерода

Основные продукты брожения – ацетат и водород - используются галофильными сульфатредукторами

Метаногены используют C1-соединения (метиламины, образующиеся при разложении осмопротекторов (глицинбетаина)

# МЕСТООБИТАНИЯ С ВЫСОКИМ PH

**pH 8-12**

Очень высокая минерализация; от галофильных местообитаний отличаются высоким pH (галоалкалофилы)

Высокое содержание фосфатов -> бурная микробная жизнь

Алкалофильные микроорганизмы:

Продуценты – цианобактерии и фототрофные бактерии  
*Ectothiorhodospira* – пурпурная серобактерия



Ведущий процесс – сульфатредукция  
Ацетогенез  
Метаногенез – из C1-соединений  
Окисление сероводорода в сульфат  
Аммоний- и метан-окисляющие аэробы  
Органотрофы – археи *Natronobacter* и *Natronococcus*

## МЕСТООБИТАНИЯ С НИЗКИМ pH

Кислые горячие источники – низкий pH создается за счет растворения  $SO_2$  вулканического происхождения

Мезофильные местообитания с кислым pH - он понижается за счет микробиологических процессов

Образование органических кислот при деструкции органики (болота)

Окисление сульфидов металлов (рудные отвалы, хвостохранилища)

Мезофильные ацидофилы – в основном аэробы (археи и бактерии)



# НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

Высокоширотные водоемы, морские и пресные  
Высокая растворимость кислорода



Вечная мерзлота

Тундровые болота



# НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЕ МЕСТООБИТАНИЯ

Глубинные воды и осадки океана

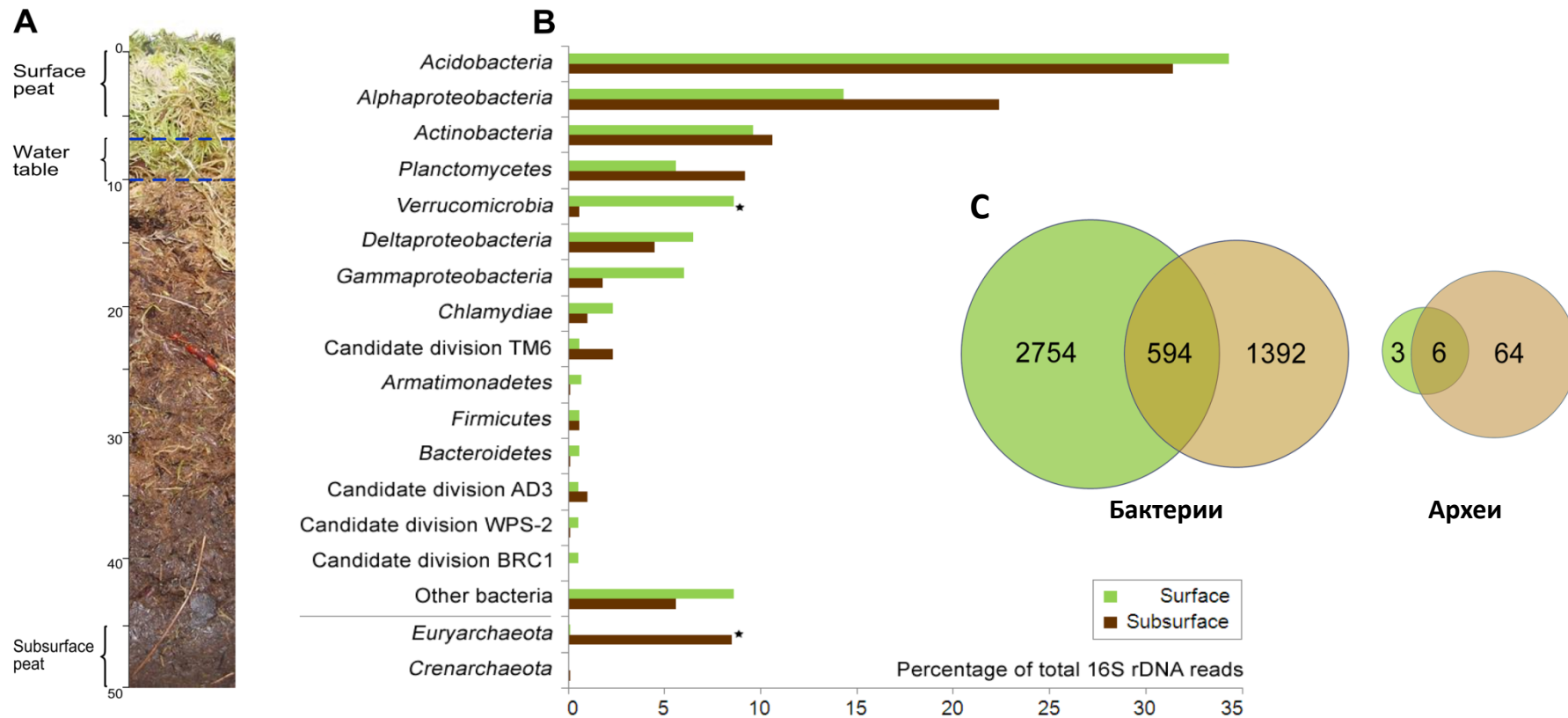
Продукция органического вещества отсутствует  
Энергетические субстраты – органические остатки

Вечная мерзлота  
В основном покоящиеся формы

Болота  
Образование торфа – слаборазложившейся гумифицированной массы растительных остатков  
Продуценты органического вещества – мхи  
Аэробная деструкция (*Planctomycetes, Acidobacteria, Verrucomicrobia*)  
Ультрапресные воды, низкий pH

## Сравнительный анализ состава микробных сообществ в аэробной и анаэробной зонах профиля сфагнового болота с помощью пиросеквенирования генов 16S рРНК.

Получено и проанализировано более 35 тыс. нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК болотных прокариот, относящихся к 27 филам домена *Bacteria* и 4 филам домена *Archaea*.



**A.** Профиль сфагнового болота и зоны отбора образцов.

**B.** Состав микробного сообщества в аэробном (обозначено зелёным) и анаэробном (обозначено коричневым) слоях сфагнового болота.

**C.** Диаграмма, отражающая количество общих и уникальных операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий и архей в верхнем аэробном (зелёный) и анаэробном (коричневый) слоях сфагнового торфа.

## Изучение экстремофильных микроорганизмов

- расширяет наши представления о возможностях жизни и раздвигает границы ее существования;
- открывает наиболее древние группы живых существ и помогают нам понять эволюцию жизни на Земле;
- позволяет моделировать жизнь на других планетах (астробиология);
- позволяет найти новые суперстабильные биополимеры для применения в различных областях биотехнологии.