

Часть 9

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ КРИОЛИТОЗОНЫ.

ДРЕВНИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ: ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

Брушков А.В.

Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова
e-mail brouchkov@geol.msu.ru

Предполагается, что сравнительное исследование геномов бактерий, полученных из древних мерзлых пород, в частности, их структурных и биохимических особенностей, поведения и метаболизма культур в стрессовых условиях позволит найти механизмы их адаптации.

ANCIENT MICROORGANISMS: GEROPROTECTIVE POTENTIAL

It is supposed that comparative research of bacterial genomes received from ancient permafrost as well as their structural and biochemical features, their reactions and metabolism under stress help to find mechanisms of their adaptation.

Считалось, что бактерии, являясь, в некотором смысле, упрощенными копиями клеток высших организмов, живут (или сохраняются в состоянии анабиоза) долго. Однако подтверждения этому нашлись лишь недавно. Было показано, что споры сибирской язвы сохраняются около 105 лет. Некоторые микроорганизмы сохраняются во льду и донных отложениях в течение миллионов лет. Удалось найти следы бактерий, которые были извлечены из янтаря возрастом до 120 миллионов лет (DeSalle et al., 1992; Poinar, 1994; Greenblatt et al., 1999; 2004). Имеются факты присутствия живых бактерий в каменной соли возрастом 250 и более миллионов лет (Sankaranarayanan et al., 2014). Однако перечисленные находки, ввиду их уникальности, по нашему мнению, не позволяют так укрепиться в мысли о большой продолжительности жизни или выживания бактерий, как это сделали исследования вечной мерзлоты.

Многолетнемерзлые породы, занимающие 65% территории России и 25% северного полушария Земли, содержат органическое вещество в форме биогенных газов, продуктов разложения, а часто значительное число (до 10^7 и более на грамм) живых микроорганизмов, разнообразие которых, формы существования и активность изучены недостаточно. Мерзлая часть литосферы традиционно считалась областью биогеохимического покоя, хотя сведения о наличии в мерзлоте живых бактерий появились в России в конце XIX века (Омелянский, 1911; Исаченко, 1912). Во льду Антарктиды обнаружены бактерии, грибы, диатомеи и другие микроорганизмы (Абызов и др., 1989). Цианобактерии были найдены в Антарктиде на глубине 3600 метров, их возраст составляет около 500 тысяч лет. Описаны живые организмы, извлеченные из Гренландского ледника, снега Антарктиды, древней вечной мерзлоты Якутии и Колымы, ледяных жил Аляски. Известен рост бактерий ниже 0°C (Morita, 1997 и др.). Микроорганизмы отличаются устойчивостью к замораживанию; многие из них его легко переносят. Известно, что при температурах до -20°C часть воды в горных породах и тканях остается незамерзшей. Не отрицая вероятности развития микроорганизмов в мерзлых породах, отметим, что их рост затруднен. Даже в лабораторных условиях стареющие культуры прекращают расти. Кристаллизация воды и остановка внешнего обмена веществ уменьшает способность к росту. Толщина прослоев незамерзшей воды при температурах - 3 и - 4°C составляет приблизительно 0.01 - 0.1 микрон, то есть значительно

меньше, чем размеры микроорганизмов, которые составляют около 0.3 - 1.4 микрон и более. Эти проводящие пути с трудом можно использовать для жизнеобеспечения, а о переносе клеток в таком материале говорить трудно. Изучение образцов вечной мерзлоты, возраст которой составляет сотни тысяч и миллионы лет, показало на сканирующем электронном микроскопе показало, что бактериальных клеток очень мало и в основном они рассеяны в объеме, не образуя группы или колонии. Поэтому, учитывая также находки в янтаре и соли, можно со значительной вероятностью предполагать, что бактерии в многолетнемерзлых породах представляют собой древние, ископаемые организмы. Их возраст подтверждается также изучением оптических изомеров аминокислот, и некоторыми другими наблюдениями, например, присутствием в вечной мерзлоте характерных водных, очевидно, привнесенных микроорганизмов. Недавно в многолетнемерзлых породах были найдены и вирусы (бактериофаги).

Микроорганизмы - самая древняя форма жизни на Земле с гигантским ($\sim 10^{12}$) разнообразием бактериальных видов, важная составляющая любых экосистем (включая организм человека), обеспечивающая выполнение биогеохимических функций, лежащих в основе круговорота элементов: синтеза и разложения органического вещества, минерализации, трансформации металлов. Микробиота, состав природных вод и другие составляющие природных условий влияют на особенности физиологии и патологии людей. Стрессы и старение в сочетании с низким потреблением растительных антиоксидантов и витаминов способствует образованию свободных радикалов и патологиям. Повреждается генетический аппарат клетки, что активирует репаративные механизмы, приводит к апоптозу или неопластическому перерождению клеток, сравнительно небольшой продолжительности жизни людей.

При этом не ясны механизмы выживания и развития микробно-вирусных сообществ в экстремальных геологических, геохимических и температурных условиях. Сравнительное исследование геномов, структурных и биохимических особенностей микроорганизмов, обнаруживаемых в вечной мерзлоте, а также исследование их поведения в стрессовых, прежде всего, низкотемпературных условиях, позволит получить представления о механизмах их адаптации. Эти исследования важны для изучения механизма защиты как генома, так и компонентов аппарата клеточного метаболизма. Учитывая, что возраст вечной мерзлоты может достигать миллионов лет, эти механизмы защиты, вероятно, крайне эффективны и могут представлять принципиальный интерес для биотехнологий и медицины. Фундаментальное и прикладное значение феномена длительной жизнеспособности микробно-вирусных сообществ вечной мерзлоты состоит в приближении к решению наиболее важных медицинских проблем, в частности – для лечения рака и продления жизни. Ожидаемое обнаружение значительного количества новых видов микроорганизмов и вирусов, позволит выделить из них наиболее перспективные для практического использования в биотехнологиях и медицине.

Природа длительной жизнеспособности.

Что обеспечивает сохранение в течение тысячелетий в живых клетках структур, часто живущих лишь минуты или сутки, подверженного многочисленным разрушениям генетического аппарата? На клеточные структуры действуют радиация, свободные радикалы, и сам растворитель - вода, подвергнувший их гидролизу. Тепловое движение атомов и молекул является основным и очевидным разрушающим фактором, потому что температура мерзлоты далека от абсолютного нуля. Цитоплазма клетки полностью не замерзает, вероятно, при обычных температурах мерзлоты она не замерзает вообще: ее значения -2° - -5°C недостаточно низки. Поэтому трудно предположить, что организм даже в анабиозе находится в состоянии термодинамического равновесия – он подвержен распаду и разрушению. Данные по тепловой стабильности нуклеотидов показывают, что из-за химической неустойчивости цитозина период полураспада его водного раствора и ДНК в целом, очевидно, составляет

всего несколько сот лет. Известно, что человеческая ДНК, содержащая десятки тысяч генов, подвергается мутации примерно каждые две-три секунды, из них нерепарированными, по разным данным, в каждой клетке тела остаются около нескольких десятков мутаций в год. Большинство видов рака имеет причиной именно эти мутации. Бактерии несут в среднем 3000 генов, а гены типичных бактерий содержат около 1000 пар нуклеотидов. За тысячу лет, если и там повреждения накапливаются с такой же скоростью, в бактериальной хромосоме едва ли не каждый ген подвергнется мутации, а в течение миллиона лет в ДНК, при условии работы известных репарационных систем, не останется «ничего живого». Это подтверждают исследования древней ДНК мумий, мамонтов, насекомых в янтаре и других организмов, которая за сотни и тысячи лет оказывается фрагментированной и частично разрушенной, непригодной для обеспечения жизни клетки. Некоторые выполненные расчеты показывают, что даже небольшие фрагменты ДНК (100–500 нуклеотидов) выживут не более 10000 лет в обычном климате и максимум до 100000 лет в холодных районах из-за гидролиза. Таким образом, представляет загадку, как бактерии, иногда и без образования спор, как видно на многих снимках электронного микроскопа, выживают в тысячелетней мерзлоте. Интересно, что секвенирование геномов, выполненное для микроорганизмов, найденных в древней каменной соли, янтаре и вечной мерзлоте, показало, что они во многих случаях близки, гомологичны к известным и современным видам, что вызвало недоумение и недоверие специалистов, высказывающих мнения о загрязнении, неправильном определении возраста образцов и других ошибках исследований. По-видимому, объяснение заключается именно в удивительной стабильности их геномов. Способность микроорганизмов сохранять жизнеспособность длительное время при температурах, когда химические реакции в клеточном растворе продолжаются, предполагает существование механизма, предотвращающего накопление повреждений и старение. Бактерии из древней мерзлоты должны иметь биохимические особенности, которые их отличают от стареющих живых клеток. Эти особенности могут быть определены, а неизвестные механизмы репарации установлены и, возможно, перенесены в наши собственные живые клетки с помощью современных методов молекулярной биологии.

Сравнительная оценка уровня проделанной работы и перспективы.

Результаты наших исследований в Японии и Якутии (1994-2008 и 2009-2015 гг.), исследования других авторов свидетельствуют, что выявляемые в криолитозоне сообщества психрофильных микроорганизмов выживают или сохраняются в чрезвычайно экстремальных геохимических условиях. Нами исследованы образцы повторно-жильных льдов и мерзлых пород из разреза Мамонтовой горы центральной Якутии на присутствие гетеротрофной микрофлоры. Проведено исследование элементного состава бактериоморфов, которое показало, что они характеризуются пониженным содержанием или неполным спектром основных биогенных элементов. Выполнен анализ физико-химических свойств образцов – гранулометрического состава, влажности, засоленности, плотности, содержания органического вещества. Получены предварительные сведения о филогении мерзлотной микрофлоры и ее свойствах. Проблема длительной жизнеспособности древних микроорганизмов пока далека от разрешения.

Выделенные из мерзлоты микроорганизмы обладают неизвестной стратегией сохранения. Комплексные исследования будут проводиться с образцами мерзлых пород и повторно-жильных льдов мерзлых отложений центральной Якутии. Планируется решение следующих задач:

- Подтверждение возраста микроорганизмов по изомерам аминокислот и другими методами;
- Изучение биологической составляющей микроскопическими методами включая наблюдение микроорганизмов *in vivo*; определение соотношения числа живых, покоящихся и мертвых (с поврежденной мембраной) клеток (в том числе люминесцентный и сканирующий