

БИОХИМИЯ, БИОФИЗИКА,  
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 550.41: 577.37: 553.492: 576.8

**ЗАРОЖДЕНИЕ ХЕМОАВТОТРОФНОГО МЕТАБОЛИЗМА  
В ГИДРОТЕРМАХ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ  
ПРЕДКОВЫХ ТАКСОНОВ БАКТЕРИЙ**

© 2011 г. С. А. Маракушев, О. В. Белоногова

Представлено академиком А.Е. Шиловым 02.03.2011 г.

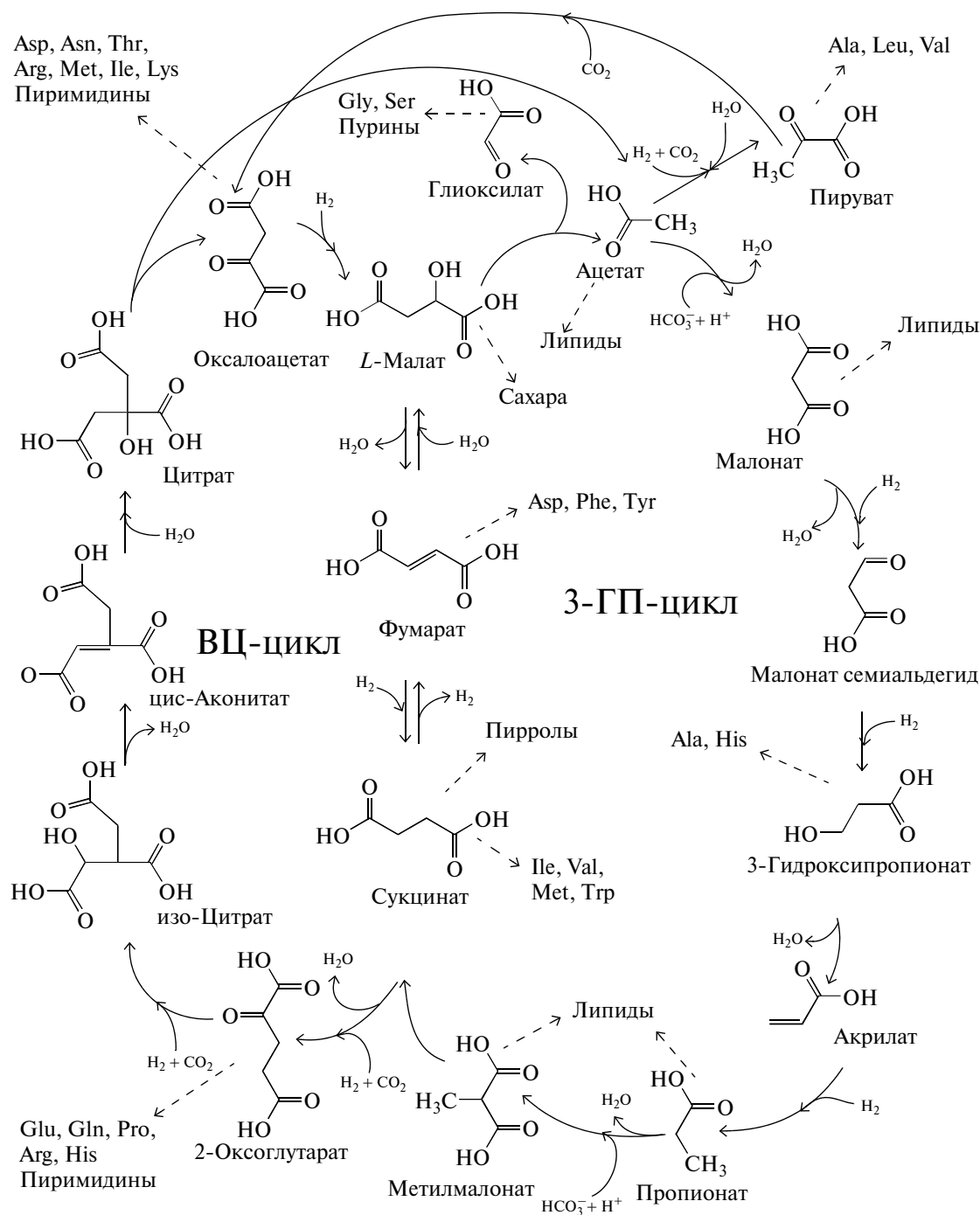
Поступило 02.03.2011 г.

В предыдущей работе [1] обосновывалось, что система архаической хемоавтотрофной фиксации  $\text{CO}_2$  в виде тетрацикла, содержащая комбинированные восстановительный цитратный (ВЦ), 3-гидроксипропионатный (3-ГП), 3-гидроксипропионатный/4-гидроксibuтиратный (3-ГП/4-ГБ) и восстановительный дикарбоксилатный/4-гидроксibuтиратный (ВД/4-ГБ) хемоавтотрофные метаболические системы, являлась основой метаболизма последнего общего клеточного предшественника (last common ancestor – LCA) домена Archaea (субдомен Crenarchaeota). Впоследствии естественный отбор под влиянием гидротермальной окружающей среды привел к дивергенции этих протоцитов LCA в основании субдомена Crenarchaeota на предковые отряды Thermoproteales и Desulfurococcales, а также отряд Sulfolobales, виды которых функционируют на основе ВЦ и/или ВД/4-ГБ, а также 3-ГП и/или 3-ГП/4-ГБ и циклов соответственно. Однако фундаментальные исследования мембранной химии и топологии [2], а также последние филогенетические данные [3] убедительно доказывают, что к корню древа жизни наиболее приближены термофильные таксоны домена Bacteria, а ветвь домена Archaea является значительно более поздней генерацией эволюционирующего древа жизни. Это свидетельствует, что только ВЦ- (Арнона–Баханана) и 3-ГП-циклы фиксации  $\text{CO}_2$  (характерные для бактериального домена жизни) являются первыми зародившимися на древней Земле автокаталитическими метаболическими системами, конкуренция, естественный отбор и эволюция которых рассматриваются в настоящей работе.

На рис. 1 представлена биомиметическая модель сопряженных автокаталитических ВЦ- и 3-ГП-циклов (SAF-бицикл) согласно [4, 5] в качестве ядра метаболизма последнего бактериаль-

ного общего предшественника (last bacterial common ancestor – LBCA). Циклы (ВЦ и 3-ГП) объединены на основе общей последовательности малат  $\longleftrightarrow$  фумарат  $\longleftrightarrow$  сукцинат, реакции в которой идут в противоположных направлениях. Результатом фиксации двух молекул  $\text{CO}_2$  в ВЦ-цикле является ацетат (при диспропорционировании молекулы цитрата на ацетат и оксалоацетат), который возвращается в цикл восстановительным карбоксилированием до пирувата, карбоксилирующегося опять до оксалоацетата. Фиксация двух молекул  $\text{HCO}_3^-$  в 3-ГП-цикле приводит к образованию глиоксилата (диспропорционированием малата на глиоксилат и ацетат). Без рассмотрения пути регенерации молекулы глиоксилата, который репродуцирует очередную молекулу ацетата с сопутствующим образованием пирувата (на схеме не показано), две петли SAF-бицикла (ацетат – малат, 3-ГП-цикл и оксалоацетат – цитрат, ВЦ-цикл) являются самовоспроизводящимися автокаталитическими системами. Автокаталитическая природа ВЦ-цикла рассмотрена в работах [6, 7]. 3-ГП-цикл также представляет собой автокаталитическую петлю синтеза органических кислот, реализующую реакции первого порядка при избытке  $\text{H}_2$  и  $\text{HCO}_3^-$  в окружающей среде. ВЦ- и 3-ГП-циклы являются системами с положительной обратной связью, т.е. продукты реакций циклов катализируют сами эти реакции, а интермедиаты циклов удваиваются, подобно, например, реакции  $3\text{HCO}_3^- + 3\text{H}^+ + 6\text{H}_2 + \text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH}$  (3-гидроксипропионат)  $= 6\text{H}_2\text{O} + 2\text{CH}_2(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH}$  (3-гидроксипропионат): (3-гидроксипропионат  $\rightarrow$  два 3-гидроксипропионата), что создает свойство сетевого автокатализа, предохраняющего промежуточные интермедиаты от их участия в побочных паразитических реакциях. Интермедиаты SAF-бицикла – это исходный материал для синтеза главных классов биологических молекул (рис. 1).

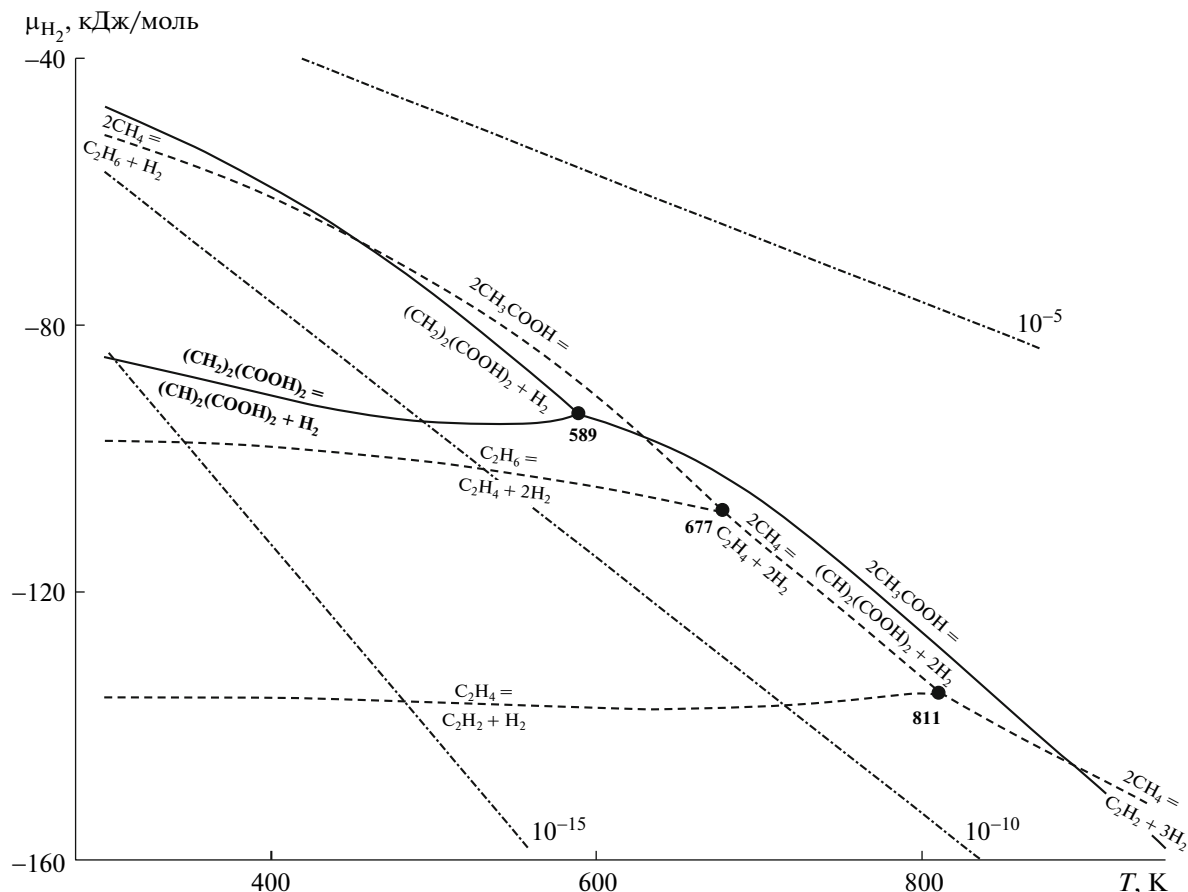
Углеводороды являются источниками интермедиатов SAF-бицикла [4, 5], и на диаграмме хи-



**Рис. 1.** Ядро архаического промежуточного хемоавтотрофного метаболизма (CO<sub>2</sub> archaic fixation (CAF)-бицикл) последнего бактериального общего предшественника (LBCA) в виде сопряженных автокаталитических петель восстановительного цитратного (ВЦ) и 3-гидроксипропионатного (3-ГП) циклов. Равновесия сукцинат–фумарат и фумарат–малат определяют направление потока электронов в бицикле. ВЦ-цикл ассимилирует CO<sub>2</sub>, а 3-ГП-цикл – HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Штриховыми стрелками показаны дальнейшие пути синтеза главных классов биомолекул – пурин, пиримидин, липидов, сахаров и аминокислот.

мический потенциал водорода ( $\mu_{H_2}$ ) – температура (рис. 2) рассматривается система углеводородов, представленных алканами (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>), алкенами (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) и алканами (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>, CH<sub>4</sub>), в гидротермальной среде при давлении 500 бар. Водород переходит

из экстенсивных в интенсивные параметры ( $\mu_{H_2}$ ) наряду с температурой и давлением, а двухкомпонентная система C–H, представленная совокупностью углеводородов, становится однокомпонентной. Штриховые линии на диаграмме,

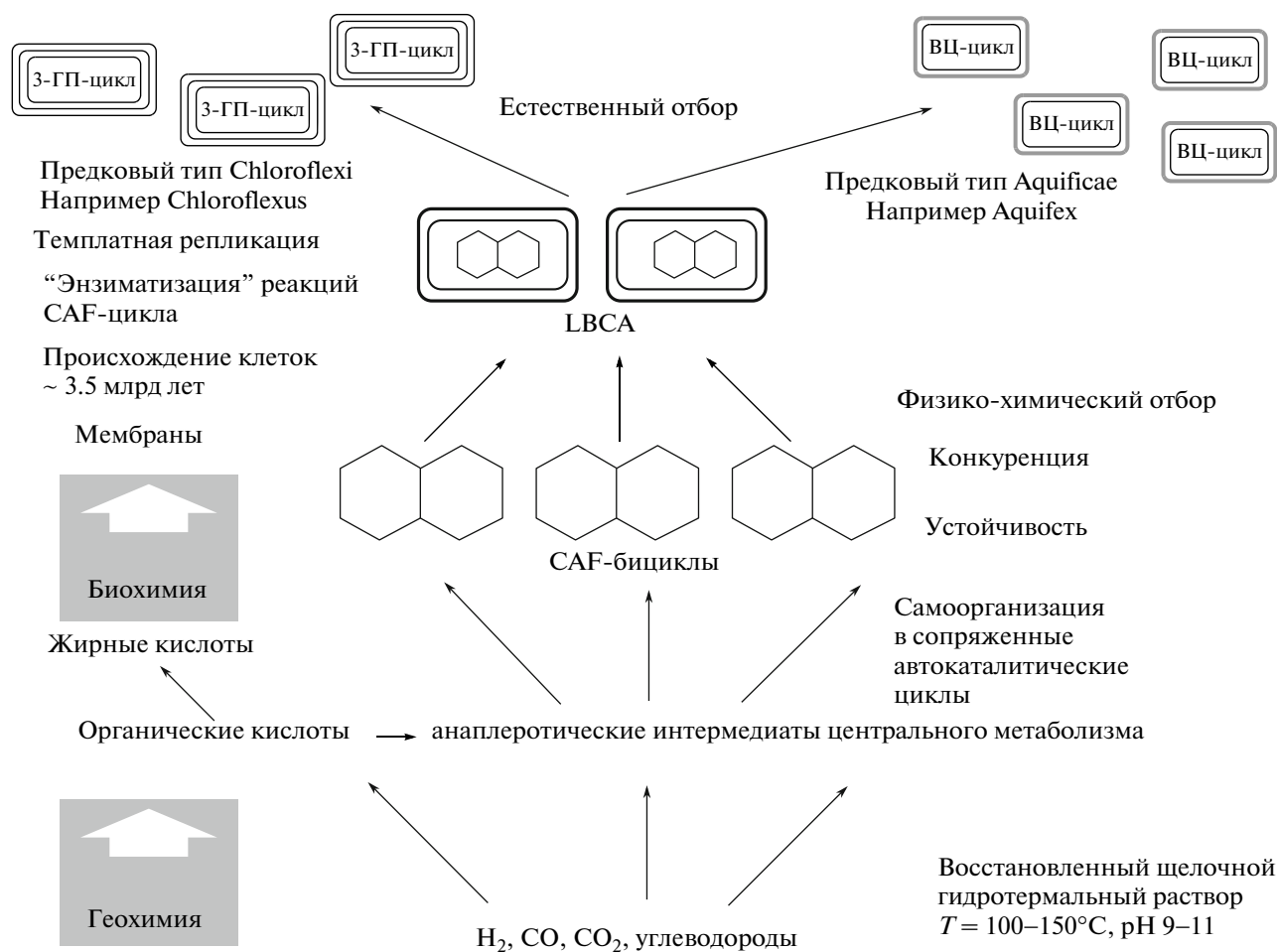


**Рис. 2.** Диаграмма химический потенциал водород  $\mu_{H_2}$ —температура ( $T$ ) при давлении 500 бар, построенная по водным константам и методике, приведенным в работе [5] и ссылки в ней). Система углеводородов, представленных алканами, алкенами, алкинами, показана моновариантными равновесиями в виде штриховых линий. Сплошные линии — моновариантные равновесия карбоновых кислот. Формулы равновесия сукцинат—фумарат выделены полужирным шрифтом. Штрихпунктирные линии — изоактивности молекулярного водорода ( $10^{-n}$  М). Приведены температуры (К) невариантных равновесий (точки).

представляющие собой двухфазные моновариантные равновесия, разделяют дивариантные поля термодинамической устойчивости (фации) углеводородов. Точки, обозначенные значениями температуры, представляют собой трехфазные невариантные равновесия (811 К,  $C_2H_2$ — $C_2H_4$ — $CH_4$  и 677 К,  $C_2H_4$ — $C_2H_6$ — $CH_4$ ). Реальное существование этих метастабильных равновесий в гидротермальных системах было экспериментально обосновано в работе [8]. В фазовом пространстве этой углеводородной системы рассмотрим равновесия сукцинат  $(CH_2)_2(COOH)_2$ —фумарат  $(CH_2)(COOH)_2$ —ацетат  $(CH_3COOH)$ , представляющие собой совокупность двухфазных моновариантных равновесий (сплошные линии), координируемых невариантным трехфазным равновесием при 589 К (рис. 2). Равновесие сукцинат—фумарат является редокс-переключателем, изменяющим поток электронов в направлении ВЦ- или 3-ГП-циклов (рис. 1), что создает конкурентные взаи-

моотношения между ними и определяет возможности дивергенции исходного САФ-бицикла в зависимости от химического потенциала водорода. Это определяет САФ-бицикл как систему с отрицательной обратной связью, позволяющей переключать направления его функционирования. Фазовое пространство выше равновесия сукцинат—фумарат благоприятно для развития реакций ВЦ-цикла, ниже — для 3-ГП-цикла. Область устойчивости сукцината (фация ВЦ-цикла) практически полностью располагается в фации этана, распространяясь до температуры 589 К, и только при высоких потенциалах водорода возникает парагенезис сукцинат—метан. Фумарат (фация 3-ГП-цикла) устойчив в областях низких потенциалов водорода и образует парагенезисы с этаном, этиленом и ацетиленом и парагенезис с метаном в области высоких температур.

При непрерывном потоке вещества и энергии САФ-бицикл может рассматриваться как стацио-



**Рис. 3.** Предлагаемая схема зарождения хемоавтотрофного метаболизма в гидротермальных системах и происхождения предковых таксонов Aquificae и Chloroflexi. Моно- и дикарбоновые кислоты – анаплеротические (возмещающие) интермедиаты бицикла.

нарная система. Превосходной симуляцией ее развития являются глубоководные выбросы срединно-океанических хребтов и в особенности обогащенные серпентином гидротермальные поля Лост Сити в Атлантическом океане, выбрасывающие щелочные флюиды с pH 9–11, содержащие легкие углеводороды и органические кислоты [9], образующиеся при окислении углеводородов [4, 5]. В этих условиях органические кислоты, формирующие автокаталитическую сеть фиксации  $CO_2$ , находятся практически в полностью ионизированном состоянии. В табл. 1 представлены свободные энергии суммарной реакции одного оборота архаических ВЦ- и 3-ГП-циклов в составе CAF-бицикла в щелочных гидротермальных условиях. Изменения свободной энергии  $\Delta G_{298}^0 \rightarrow \Delta G_{473}^0$  свидетельствуют, что высокотемпературные условия гидротермальных полей более благоприятны для архаического 3-ГП-цикла по сравнению с ВЦ-циклом. Сульфидная энергетика автотрофных циклов,

связанная с реакцией  $FeS + H_2S = FeS_2 + H_2$ , имеет смысл только для низкотемпературного ВЦ-цикла, поскольку с повышением температуры свободная энергия этой реакции увеличивается (например,  $\Delta G_{298}^0 = -13.81$  кДж/моль, а  $\Delta G_{473}^0 = 0$ ). В высокотемпературном 3-ГП-цикле, видимо, отсутствует сульфидная энергетика и формируются фосфатная (вместо активированных тиоэфиров органических кислот функционируют ацилфосфаты, например, энергия гидролиза ацетилфосфата  $\Delta G_0' = -43$  кДж моль $^{-1}$ ). Конкуренция между архаическими хемоавтотрофными циклами в составе CAF-бицикла (рис. 1) в условиях древней Земли должна была приводить к физико-химическому отбору, основными факторами которого являлись температура, редокс-потенциал и минеральный состав окружающей гидротермальной среды. Адекватность циклов к этим условиям являлась критерием их отбора.

**Таблица 1.** Свободные энергии Гиббса ( $\Delta G^0$ ) суммарных реакций одного оборота архаических ВЦ- и 3-ГП-циклов в щелочных условиях гидротермальных полей при температурах ( $T$ , К) 298, 373 и 473 К и давлении насыщения паров воды. Константы из работы (см. [5] и ссылки в ней).  $\mu_{H_2}$  — химический потенциал водорода

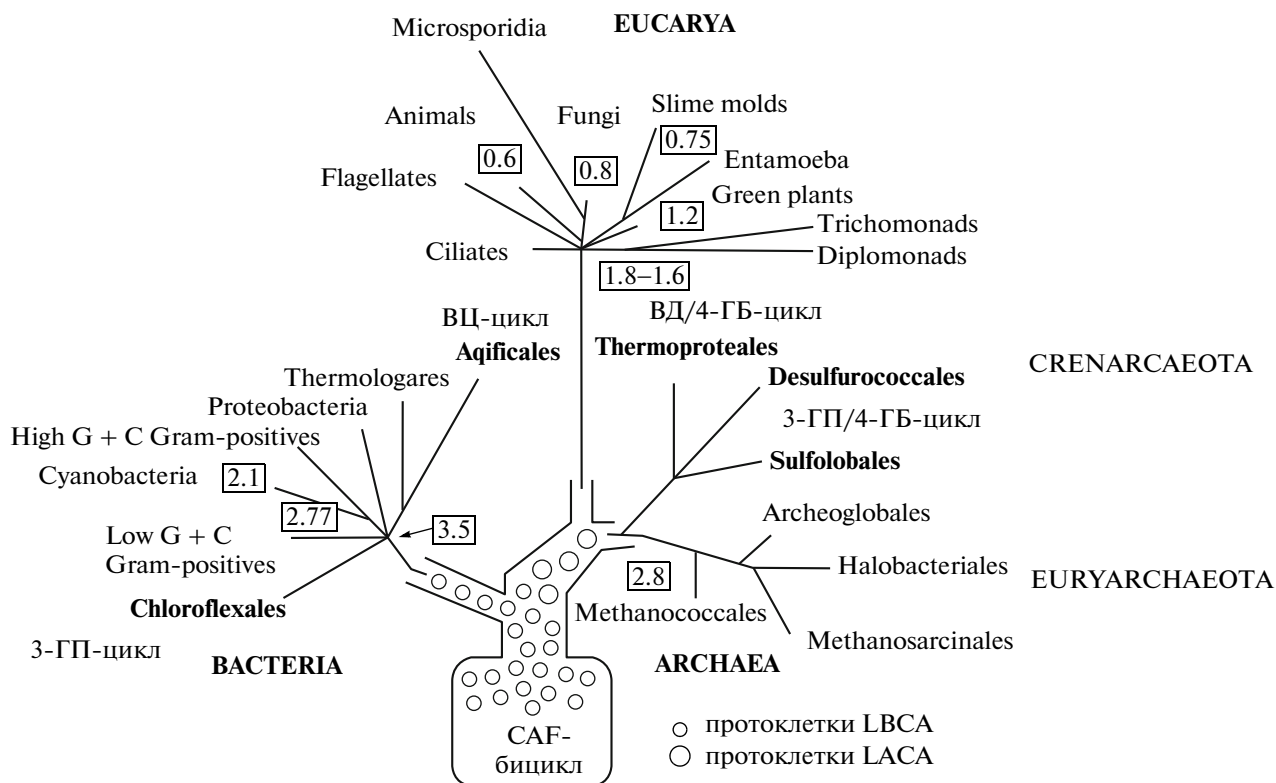
Реакция	$\Delta G_{298}^0$ , кДж/моль	$\Delta G_{373}^0$ , кДж/моль	$\Delta G_{473}^0$ , кДж/моль	$\Delta G_{298}^0 - \Delta G_{473}^0$ , кДж/моль	Архаи- ческие циклы	Характеристики циклов
$2CO_2 + 4H_2 =$ $= CH_3COO^-$ (Ацетат <sup>-</sup> ) + + $H^+ + 2H_2O$	-142.61	-117.24	-65.66	-76.95	ВЦ	1. Низкие $T$ 2. Участие сульфидов металлов в реакциях 3. Высокий $\mu_{H_2}$ (рис. 2)
$2HCO_3^- + H^+ + 2H_2 =$ $= OCHCOO^-$ (Глиокси- лат <sup>-</sup> ) + $3H_2O$	-33.40	-33.81	-35.28	+1.88	3-ГП	1. Высокие $T$ 2. Низкий $\mu_{H_2}$ (рис. 2)
$FeS + H_2S = FeS_2 + H_2$	-13.85	-8.17	0	-13.85		

Первичная популяция протоклеток, образовавшаяся в результате коэволюции “метаболизм — мембрана” содержала функционирующий САФ-бицикл, являющийся автокаталитическим ядром архаического промежуточного метаболизма. Амфифильные компоненты, самоорганизующиеся в протомембрану, образовывались в гидротермальном синтезе из эндогенных углеводов, пространственно изолируя САФ-бицикл от окружающей среды. Каталитическая самоорганизация тройного флюида из углеводов, амфифилов и воды с САФ-бициклом создавала первую самовоспроизводящуюся протоклетку. Такая первичная автокаталитическая протоклеточная система С—Н—О способна к саморазмножению и накоплению биомассы при стационарном потоке  $H_2$  и  $CO_2$  (а также ряда органических кислот в качестве анаплеротических интермедиатов бицикла) из гидротермального резервуара. Поступление аммиака из гидротермальных флюидов приводило к аминированию кетокислот — интермедиатов цикла с образованием аминокислот, пуринов и пиримидинов (рис. 1). В дальнейшем циклические изменения температуры (термоцикл) приводили к образованию автокаталитической системы пептиды—аминокислоты, пептиды которой в некоторых случаях становились катализаторами реакций САФ-бицикла. “Энзиматизация” реакций бицикла и развитие примитивного генетического аппарата (транскрипция и трансляция аминокислотной последовательности протоферментов бицикла) привели к формированию клеток архаической популяции последнего бактериального общего предшественника LBCA, содержащих ВЦ- и 3-ГП-хемоавтотрофные метаболические системы фиксации  $CO_2$  в составе САФ-бицикла.

Естественный отбор под влиянием гидротермальной окружающей среды приводил к конкуренции и дивергенции клеток LBCA в направлении предковых типов (phyla) Aquificae и Chloroflexi, современные виды которых функциониру-

ют на основе ВЦ- и 3-ГП-циклов соответственно. Эта фенотипическая диверсификация контролировалась рассмотренными выше факторами отбора, которыми являлись температура, редокс-потенциал и минеральные составляющие (сульфиды, фосфаты и переходные металлы) окружающей среды. При этом популяция протоклеток, содержащая САФ-бицикл, оказавшаяся в восстановительных гидротермальных условиях (фазовое пространство выше равновесия сукцинат—фумарат, рис. 2), сохранила только часть САФ-бицикла, инициируемого реакциями карбоксилирования сукцината и 2-оксоглутарата (рис. 1), а именно, ВЦ-цикл. Эти протоклетки эволюционировали в предковый бактериальный тип Aquificae, находящийся в основании филогенетического древа жизни [3]. Гидрогенотрофная бактерия Aquifex aeolicus рассматривается в качестве главного кандидата для создания модели архаического анаболического промежуточного метаболизма LCA [10]. Ее ВЦ-цикл представляет минимальный метаболизм — молекулярный пул, проявляющий все свойства метаболизма восстановительной хемоавтотрофной бактерии. Aquifex aeolicus имеет один из наименьших геномов среди свободно живущих автотрофных бактерий, проявляя ограниченную метаболическую гибкость.

Популяция протоклеток, содержащая САФ-бицикл, оказавшаяся в гидротермальных окислительных условиях (фазовое пространство ниже равновесия сукцинат—фумарат, рис. 2), сохранила другую часть САФ-бицикла, инициируемого реакциями карбоксилирования ацетата и пропионата — 3-ГП-цикл (рис. 1). Этот цикл, обладающий последовательностью реакций сукцинат → фумарат → малат, является единственным путем фиксации  $CO_2$  в нитевидных термофильных аноксигенных зеленых несерных фототрофных бактериях Chloroflexi, способных к автотрофному росту и использующих молекулярный водород в качестве донора электронов. Эти бактерии



**Рис. 4.** Дивергенция протоклеток в таксоны доменов Bacteria и Archaea. Модифицированное универсальное древо жизни, показывающее эволюционные взаимоотношения организмов в трехдоменной модели Вэзе [15]. В рамках — геологический возраст (млрд лет) согласно данным палеонтологии и филогенетическому анализу последовательностей 16S/18S-рибосомальных РНК. LACA — последний архейский общий предшественник. Показана дивергенция LBCA с образованием бактериальных отрядов Chloroflexales и Aquificales на основе их метаболических систем (3-ГП-цикл и ВЦ-цикл соответственно). Дивергенция LACA в субдомене Archaea (Crenarchaeota) с образованием отрядов Thermoproteales и Desulfurococcales (ВД/4-ГБ-цикл) и Sulfolobales (3-ГП/4-ГБ-цикл) приведена согласно [1]. Бактериальные отряды Aquificales и Chloroflexales, а также архейские отряды Desulfurococcales, Thermoproteales и Sulfolobales выделены жирным шрифтом.

обитают в щелочных кремнеземистых горячих источниках и формируют оранжевые микробные маты, как сами по себе, так и в сообществе с цианобактериями. На основании данных по фракционированию стабильных изотопов углерода показано, что эти маты являются современными аналогами древних формаций строматолитов докембрия [11], которые были сформированы или нитчатыми Chloroflexus, или их предковой более простой вымершей ветвью бактерий, которая могла существовать во времена ~ 3–3.5 млрд лет назад [12].

Филогенетические данные и исследования мембранной топологии показали, что корень бактериального древа жизни находится непосредственно за или внутри предковой Chlorobacteria, в частности, Chloroflexi: “much more intense research into the little-known phylum Chlorobacteria is needed for better understanding the nature of our last common ancestor” [2, с. 111]. Близость Chloroflexi к LBCA подтверждается анализом поляризации инделов (вставок и делеций) [13], а согласно фи-

логенетическому анализу [14] Chloroflexi должен быть расположен близко к Aquificae. Предлагаемая схема зарождения автокаталитических систем хемоавтотрофного метаболизма в гидротермальных системах и дивергенция LBCA, содержащего CAF-бицикл, в направлении предковых таксонов Aquificae и Chloroflexi представлена на рис. 3.

Дивергенция клеток LBCA в бактериальные отряды Aquificales и Chloroflexales представлена также на филогенетическом древе жизни (рис. 4). Главным образом редокс-обстановка окружающей гидротермальной среды определила экологические ниши, благоприятные для развития предковых таксонов Chloroflexi и Aquificae в основании домена Bacteria. Так, предковый Aquifex обосновался в восстановительных условиях глубоководных сульфидных гидротерм, а предковый Chloroflexus распространился в более окислительных высокотемпературных ареалах при геодинамическом сдвиге гидротерм в фотическую зону.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН (программа фундаментальных исследований № 25, подпрограмма 1: “Происхождение биосферы и эволюция геобиологических систем”).

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Маракушев С.А., Белоногова О.В.* // ДАН. 2010. Т. 433. № 2. С. 262–268.
2. *Cavalier-Smith T.* // Phil. Trans. Roy. Soc. London. B. 2010. V. 365. P. 111–132.
3. *Lake J.A., Skophammer R.G., Herbold C.W., Servin J.A.* // Phil. Trans. Roy. Soc. London. B. 2009. V. 364. P. 2177–2185.
4. *Маракушев С.А.* // ДАН. 2008. Т. 418. № 3. С. 412–418.
5. *Marakushev S.A., Belonogova O.V.* // J. Theor. Biol. 2009. V. 257. P. 588–597.
6. *Morowitz H.G.* // Complexity. 1999. V. 4. P. 39–53.
7. *Smith E., Morowitz H.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 13168–13173.
8. *Seewald J.S.* // Geochim. et cosmochim. acta. 2001. V. 65. № 10. P. 1641–1664.
9. *Lang S.Q., Butterfield D.A., Schulte M., et al.* // Geochim. et cosmochim. acta. 2010. V. 74. P. 941–952.
10. *Srinivasan V., Morowitz H.G.* // Biol. Bull. 2009. V. 216. P. 126–130.
11. *van der Meer M.T.J., Schouten S., de Leeuw J.W., Ward D.M.* // Environ. Microbiol. 2000. V. 2. P. 428–435.
12. *Schopf J.W.* // Phil. Trans. Roy. Soc. London. B. 2006. V. 361. P. 869–885.
13. *Valas R.E., Bourne P.E.* // Biol. Direct. 2009. V. 4. P. 30–45.
14. *Boussau B., Guéguen L., Gouy M.* // BMC Evolut. Biol. 2008. V. 8. P. 272–289.
15. *Woese C.R., Kandler O., Wheelis M. L.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. P. 4576–4579.