

С. Д. Варфоломеев

ЖИЗНЬ МОЛЕКУЛ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ



Горячий микромир
Камчатки



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА

С. Д. Варфоломеев

ЖИЗНЬ МОЛЕКУЛ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

**Горячий микромир
Камчатки**



URSS
МОСКВА

Варфоломеев Сергей Дмитриевич

Жизнь молекул в экстремальных условиях: Горячий микромир Камчатки.
М.: КРАСАНД, 2013. — 480 с., цв. вкл.

Книга посвящена исследованию вопроса о том, в каких предельных экстремальных условиях возможно существование биомолекул и, следовательно, возможна жизнь. Обсуждение базируется на более чем тридцатилетнем опыте экспедиционных работ в областях активной вулканической деятельности.

На Земле экстремальные формы жизни проявляются в немногочисленных регионах с экстремальными и экзотическими условиями. Автор подводит итог собственным экспериментальным исследованиям, работам партнеров — специалистов смежных специальностей, а также международному опыту изучения термофилов — организмов, живущих при температурах до 120 С. Книга обобщает богатый опыт международного коллектива, объединенного рядом симпозиумов, проведенных непосредственно на Камчатке. Работа содержит большое количество иллюстраций и дает представление о богатом, необычном и экзотическом природном мире полуострова.

Основой представленного подхода является изучение микробиологической композиции высокотемпературных гидротермов, исследование молекулярно-биологических и биохимических особенностей термофильных организмов и их молекул. Базой для понимания природы экстремальных форм жизни служит физико-химический подход, позволяющий на количественном уровне выявить фундаментальные особенности, обеспечивающие молекулам возможность существовать и функционировать в экстремальных условиях.

Книга дает ответ на вопрос, за счет каких сил при температуре выше 100 С стабильны и активно функционируют белки, нуклеиновые кислоты и липиды. Автором рассмотрены структурные основы стабильности белков и инженерия их термоустойчивости.

Книга предназначена для исследователей, студентов и аспирантов, специализирующихся в области микробиологии, молекулярной биологии, биохимии, физической химии, физико-химической биологии. Она также может быть интересна широкому кругу читателей, поскольку расширяет представления об окружающем нас мире и его богатой природе.

Издательство «КРАСАНД». 117335, Москва, Нахимовский пр-т, 56.

Формат 70×100/16. Печ. л. 30. Зак. № 193

Отпечатано в ООО «Чебоксарская типография №1».

428019, г. Чебоксары, пр-т И. Яковлева, 15.

ISBN 978-5-396-00504-4

© С. Д. Варфоломеев, 2013

© КРАСАНД, 2013

13272 ID 168963



9 785396 005044



Все права защищены. Никакая часть настоящей книги не может быть воспроизведена или передана в какой бы то ни было форме и какими бы то ни было средствами, будь то электронные или механические, включая фотокопирование и запись на магнитный носитель, а также размещение в Интернете, если на то нет письменного разрешения владельцев.

Содержание

Предисловие	8
Введение	12
Экстремофилы	12
Камчатка — Паужетка — Узон	16
Литература	19
Глава 1. Камчатка. Удивительный, прекрасный и неповторимый мир	21
1. Первое знакомство с Камчаткой. Паужетка-1979	21
Команда	23
Петропавловск-Камчатский — Озёрная	24
Лаборатория	26
Термостабильная гидрогеназа	27
Очень редкая болезнь	28
Камбальный перевал	29
Кроноцкое озеро, Кутхины Баты, катастрофа со счастливым концом	30
2. Паужетка-1981	32
3. Узон — Долина гейзеров — 1982	34
Халактырка — Узон	36
Банное озеро	37
Пожар	38
Первое посещение Долины гейзеров. Долина много лет спустя	38
4. Стационарная лаборатория на Узоне	41
Жизнь за счёт тепла Земли и Банного озера	44
Узон летом	46
5. Международные проекты	46

Глава 2. Камчатка-1995. «Высокотемпературная биотехнология» (16–22 августа 1995 года, Петропавловск-Камчатский — Узон — Долина гейзеров)	113
1. Новые термофилы	114
2. Термоферменты	117
3. Молекулярная генетика и молекулярная физиология термофилов	122
Глава 3. Камчатка-2000. «Энзимология, молекулярная биология и биогеохимия термофилов» (6–12 августа 2000 года)	127
1. Новые микроорганизмы, биоразнообразие, новые методы исследования	128
2. Термоферменты и термобелки	133
3. Молекулярная биология, генетика, геномика, биоразнообразие	138
Глава 4. Встречи с Камчаткой: 30 лет. Личные воспоминания Е. А. Бонч-Осмоловской	143
Глава 5. Камчатка-2005. «Биоразнообразие, молекулярная биология и биогеохимия термофилов» (20–25 августа 2005 года)	157
1. Биоразнообразие и молекулярная экология	158
2. Биогеохимия: взаимодействие микроб — минеральная среда	211
3. Генетика и молекулярная биология термофилов	214
4. Термобелки и термоферменты	217
5. Биотехнология	219
Глава 6. Плазмиды и вирусы термофилов. Плазмиды термофильных клостридий	223
1. Плазмиды термофильных клостридий	224
Скрининг бактерий на предмет обнаружения в них плазмид	225
Клонирование плазмид pNB1 и pNB2 и их детальная характеристика	226
Кинетические закономерности репликации гибридных плазмид на основе векторов <i>E. coli</i> и pNB2	228
Секвенирование плазмиды pNB2 и анализ её нуклеотидной последовательности	233

Однонитевая ДНК плазмиды pNB2. Репликация по типу «катящегося кольца»	237
2. Репликационный белок RepN, плазмиды pNB2, мутационный анализ и делеционное картирование доменов, ответственных за его летальное действие	241
Идентификация белка RepN	241
Летальное действие белка RepN не связано с его основной топоизомеразной (релаксазной) активностью	243
Делеционное картирование области белка RepN, ответственной за его летальное действие	244
Литература	246
Глава 7. Камчатка-2010. «Биоразнообразие, молекулярная биология и биогеохимия термофилов» (12–18 августа 2010 года)	249
1. Геомикробиология	250
2. Экология и разнообразие термофилов	252
3. Метаболизм и геномика термофилов	306
Глава 8. Физическая химия термоинактивации и термостабилизации белка	311
1. Термодинамика. Предельные температуры сохранения нативной конформации белка	311
2. Кинетика инактивации ферментов	315
Схемы инактивации, описываемые экспоненциальной функцией	315
pH-зависимость инактивации	319
Диссоциативный механизм инактивации ферментов	322
3. Температура и активность ферментов. Термобелки и белки мезофильных организмов	325
Литература	331
Глава 9. Структурные основы стабильности белков термофилов	333
1. Электростатическое взаимодействие — главный фактор стабилизации белков при высоких температурах	333
Сравнение аминокислотного состава белков мезофилов и гипертермофилов	333

Термоферменты: консервативные аминокислоты в полипептидной цепи	335
2. Консервативные аминокислоты в белках термофилов и гипертермофилов	343
Электростатические взаимодействия в ионных мостиках — уникальные связи, прочность которых увеличивается с ростом температуры	348
3. Стабилизация белков — результат влияния многих факторов	352
Компактность структуры: отношение поверхность/объем, скрытые полости	352
Пролины, напряжённые углы, конформационная энтропия	353
Фиксация подвижных N- и C-концов и подвижных петель	354
Стабилизация белков <i>in vivo</i>	354
4. Термостабильность белков — геномные исследования	356
Литература	358
Глава 10. Инженерия термоустойчивости ферментов	361
1. Фиксация нативных каталитически активных конформаций белка	362
Включение белка в полимерные матрицы	363
Дополнительные внутримолекулярные связи, фиксация на твёрдом носителе	364
Закрепление N- и C-концов полипептидной цепи	366
Введение дополнительных ионных пар (солевых мостиков). Ферменты, построенные с введением в структуру неприродной аминокислоты	367
2. Направленная эволюция	372
Литература	375
Глава 11. Стабилизация нуклеиновых кислот и липидов в термофилах	377
1. Нуклеиновые кислоты	378
Содержание пар гуанин—цитозин	378
Катионы, белки-стабилизаторы, гистоны и гистоноподобные белки	380
2. Липиды	381
Литература	387

Глава 12. Бионефть кальдеры вулкана Узон	389
1. Нефть Узона	389
2. Базовые углеводородные компоненты и химический состав среды накопления нефти Узона	394
3. Идентификация гетероатомных соединений	402
Литература	406
Глава 13. Динамика адаптации микроорганизмов	409
Литература	423
Глава 14. Термоцикл. Движущая сила предбиологического синтеза и отбора биополимеров	425
1. Кинетические модели предбиологической эволюции макромолекул	428
Термоцикл как движущая сила процесса	428
Порядок не может возникнуть из беспорядка самопроизвольно	432
Кинетическое описание	434
2. Кинетические модели полимеризации с включением элементов комплементарного синтеза в режимах ограничений по ресурсу мономеров	444
3. Взаимозависимое сосуществование пептидов, РНК и ДНК	453
4. Синтез и эволюция пептидов	455
Масс-спектрометрия продуктов поликонденсации аминокислот	458
Полимеризация аминокислот в твёрдой фазе в изотермических условиях — ограниченное число структур и эволюция в процессе синтеза	458
Синтез пептидов в термоциклическом режиме. Комплементарность	464
Литература	469
Послесловие	471