

Сведения о ходе выполнения проекта
«Биогенные сульфиды металлов: геномика и механизмы образования»,
поддержанного Российским научным фондом
Соглашение № 14-14-00427

Руководитель д-р биол. наук, профессор Карначук Ольга Викторовна

2014 год

Проект направлен на изучение биогенных сульфидов металлов, образуемых сульфидогенными микроорганизмами (СГМ). Для исследования были использованы выделенные ранее и устойчивые к металлам СГМ с известными последовательностями геномов. Был проведен поиск предполагаемых систем устойчивости к металлам в доступных геномах. Особое внимание было уделено устойчивости к кадмию, никелю и кобальту. Анализ геномов всех представителей Bacteria и Archaea с известной способностью к сульфатредукции показал, что большинство СГМ имеет различные системы устойчивости к металлам. Всего было проанализировано 97 геномов. Найденные механизмы включают наличие АТФаз Р-типа, RND транспортеров, и белков-фасилитаторов. Биоинформационный анализ выявил повышенное количество транспортеров металлов у устойчивых штаммов (*Desulfovibrio* sp. A2, *Desulfosporosinus* sp. OT) из нашей коллекции. Физиологические эксперименты с микроорганизмами, родственными устойчивым штаммам, показали, что устойчивость не может быть обусловлена только большим количеством транспортеров металлов. Состав биогенных сульфидов металлов, образуемых устойчивыми и чувствительными штаммами СГМ, различался. В целом, СГМ, устойчивые к металлам, более перспективны для получения кристаллических сульфидов металлов.

Местообитания, связанные с добычей руд, характеризуются не только повышенными концентрациями металлов, но и низкими значениями рН. Поэтому микроорганизмы, населяющие такие экосистемы, часто демонстрируют устойчивость к высокому содержанию, как протонов, так и металлов. Все чистые культуры ацидофильных/ацидотолерантных СГМ, выделенные до настоящего времени, принадлежали к роду *Desulfosporosinus*. Для того, чтобы выделить новый ацидо- и метал- толерантный штамм, отличающийся от известных ацидотолерантных СГМ по филогенетическому положению, мы проводили отбор проб из различных отходов добычи руд на месте заброшенного месторождения олова (Шерловая гора, Забайкальский край). Были определены физико-химические параметры исследуемых отходов и получены сульфидогенные накопительные культуры. Молекулярный мониторинг накопительных культур методом ПЦР-ДГГЭ показал, что флотипы, принадлежащие представителям *Desulfosporosinus*, оставались доминирующими в культурах. Другие образцы, полученные из бывшего золоторудного месторождения в Кемеровской области, были использованы для получения альтернативных накопительных культур. Впервые в чистую культуру выделен микроорганизм *Desulfovibrio* sp. TomC, проявляющий устойчивость к низкому рН и высоким концентрациям металлов, и принадлежащий к филуму Deltaproteobacteria. Был секвенирован полный геном выделенной бактерии и при его анализе обнаружено повышенное количество транспортеров металлов. Организм также имеет

многочисленные транспортеры калия, которые могут участвовать в образовании положительного потенциала внутри клетки и защищать её от действия низкого pH.

Были охарактеризованы различные биогенные сульфиды кадмия, никеля, кобальта и меди, образованные устойчивыми к металлам микроорганизмами из нашей коллекции. Они включают: чистый сульфид кадмия (CdS), образованный *Desulfovibrio* sp. A2; миллерит (NiS) и сульфид никеля (Ni₃S₂), образованные *Desulfosporosinus* sp. DB; сульфид кобальта и железа (FeCoS₂), образованный *Desulfosporosinus* sp. DB. Было показано образование кристаллических сульфидов металлов бактериями рода *Tissierella*. Эта анаэробная бактерия не способна к диссимиляционному восстановлению сульфата, но образует сероводород из органических соединений. В культурах *Tissierella* sp. P1 обнаружены редкий сульфид кадмия хаулеит (CdS) и редкий сульфид кобальта линнеит (Co₃S₄).