

OSOBLIWE CECHY BUDOWY I METABOLIZMU ARCHEBAKTERII

Maria Wojtatowicz, Barbara Żarowska,
Xymena Połomska, Monika Milewska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Streszczenie. Archebakterie stanowią bardzo złożoną, a przez to niezwykle interesującą grupę drobnoustrojów, zarówno ze względu na ich uzdolnienia do zasiedlania rozmaitych środowisk, w tym zwłaszcza ekstremalnych, jak również z powodu specyficznej budowy komponentów komórkowych. W ostatnich latach obserwuje się duży rozwój wiedzy na ich temat, co skutkuje pojawieniem się ogromnej puli mniej lub bardziej szczegółowych publikacji. W literaturze polskojęzycznej brakuje jednak prac przeglądowych ujmujących szerzej temat budowy i fizjologii tych organizmów. Niniejsza praca uzupełnia tę lukę, omawiając wybrane elementy komórek Archaea wyróżniające się unikalną budową lub funkcjami, takie jak warstwa S, ściana komórkowa, błona cytoplazmatyczna oraz różnorodne wypustki komórkowe. Ponadto zwrócono uwagę na niektóre niezwykle aspekty metabolizmu archebakterii.

Słowa kluczowe: Archaea, struktury powierzchniowe, błona komórkowa, metanogeneza

WSTĘP

Archebakterie zostały odkryte i po raz pierwszy opisane w literaturze naukowej przed 130 laty. Przez długie lata były kojarzone wyłącznie ze środowiskami ekstremalnymi, charakteryzującymi się wysoką lub niską temperaturą, skrajnymi wartościami pH, wysokim zasoleniem, ciśnieniem hydrostatycznym lub poziomem radiacji i określane mianem ekstremofili [Cavicchioli 2011, Delong, Pace 2001]. Obecnie wiadomo, że archeony bytują również w konwencjonalnych ekosystemach, tj. morzach i oceanach, zbiornikach słodkowodnych, osadach dennych, glebie, korzeniach roślin, przewodzie pokarmowym przeżuwaczy i bezkręgowców oraz jamie ustnej i jelitach ludzi [Gribaldo, Brochier-Armanet 2006, Wose i in. 1990]. Szacuje się, że ich komórki mogą stanowić nawet 20%

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Adres do korespondencji – Corresponding author: Maria Wojtatowicz, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. J. Chelmońskiego 37/41, 51-630 Wrocław, e-mail: maria.wojtatowicz@up.wroc.pl

całej biomasy drobnoustrojów na Ziemi [Delong, Pace 2001]. Pomimo coraz szerszej wiedzy dotyczącej Archaea wciąż lepszego poznania wymagają ich rola ekologiczna oraz sposoby czerpania energii ze środowisk, w których żyją [Robertson i in. 2005].

Archeony, ze względu na budowę komórkową, w tym zwłaszcza brak wyodrębnionego jądra i organelli komórkowych, były początkowo wraz z bakteriami zaliczane do Prokaryota [Konings i in. 2002]. W toku rozpoczętych w drugiej połowie lat 70. ubiegłego wieku prac nad konstrukcją uniwersalnego drzewa genealogicznego na podstawie sekwencji genów rybosomalnego RNA okazało się, że prokarionty nie tworzą pojedynczej, filogenetycznie spójnej grupy. W 1977 r. Woese i Fox po raz pierwszy sklasyfikowali archebakterie jako odrębną grupę organizmów prokariotycznych, którą nazwali Archaeobacteria w odróżnieniu od bakterii właściwych, nazwanych Eubacteria. Obie te grupy były traktowane jako królestwa do czasu wprowadzenia jednostki taksonomicznej wyższego rzędu o nazwie „domena” i zaproponowania podziału świata żywego na trzy domeny: Bacteria, Archaea i Eukarya [Woese i in. 1990]. Podział ten jest obecnie akceptowany przez większość mikrobiologów.

W pierwszej wersji drzewa genealogicznego przedstawionej w końcu lat 70. ubiegłego wieku w obrębie domeny Archaea wyróżniono dwa królestwa: Euryarchaeota i Crenarchaeota. Jak dotąd, udało się wyhodować w laboratorium większość znanych gatunków należących do Euryarchaeota, podczas gdy klasyfikacja Crenarchaeota w dużej części opiera się na sekwencjach rRNA wyizolowanych wprost ze środowiska [Robertson i in. 2005]. Królestwo Crenarchaeota obejmuje przede wszystkim organizmy hipertermofilne, które zgrupowano w jednej klasie o nazwie *Thermoprotei* podzielonej na cztery rzędy: *Thermoproteales*, *Caldisphaerales*, *Desulfurococcales* i *Sulfolobales*. Z kolei w królestwie Euryarchaeota dominują metanogeny i halofile przyporządkowane do ośmiu klas: *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Methanomicrobia*, *Halobacteria*, *Thermoplasmata*, *Methanopyri*, *Thermococci*, *Archeoglobi* [Gribaldo, Brochier-Armanet 2006]. Rozrastające się w ostatnich latach bazy danych dotyczące tych mikroorganizmów sugerują istnienie większej liczby królestw w obrębie Archaea, w tym Nanoarchaeota [Huber i in. 2002], Korarchaeota [Elkins i in. 2008], a nawet Thaumarchaeota [Brochier-Armanet i in. 2008]. Przykładowo, Nanoarchaeota reprezentowane są przez pojedynczy gatunek *Nanoarchaeum equitans*. Charakteryzuje się on bardzo małym genomem (0,49 mpz) i co ciekawe, żyje w przestrzeni peryplazmatycznej swojego symbionta *Ignicoccus hospitalis*. Genom *N. equitans* jest pozbawiony wielu genów potrzebnych do autonomicznego funkcjonowania, z których większość najprawdopodobniej jest zlokalizowana w cytoplazmie gospodarza. Sugeruje to istnienie poziomej wymiany materiału genetycznego między tym gatunkiem a *I. hospitalis* [Cavicchioli 2011].

Archeony na poziomie ogólnej budowy komórki najbardziej przypominają bakterie. Z drugiej strony, większość składników komórkowych związanych z organizacją materiału genetycznego, a także z procesami replikacji, transkrypcji i translacji wykazuje znaczną homologię u Archaea i Eukarya, jednocześnie nie występując u Bacteria. Archaea mają też cechy indywidualne, niespotykane u pozostałych domen życia, jak struktury powierzchniowe komórki, budowa lipidów membrany cytoplazmatycznej czy zdolność do metanogenezy [Woese i in. 1990, Doolittle, Logsdon 1998]. Z odmiennością budowy i właściwości pewnych elementów komórkowych wiąże się ich niezwykle zdolności adaptacyjne oraz stabilność w środowiskach ekstremalnych [Ellen i in. 2010].

W pracy omówiono wybrane struktury komórkowe Archaea, wyróżniające się unikalną budową lub funkcjami, takie jak warstwa S, ściana komórkowa, rzęski, fimbrie i inne wypustki oraz błona cytoplazmatyczna. Ponadto zwrócono uwagę na niektóre niezwykle aspekty metabolizmu archebakterii.

ARCHEBAKTERYJNE OSŁONY KOMÓRKOWE

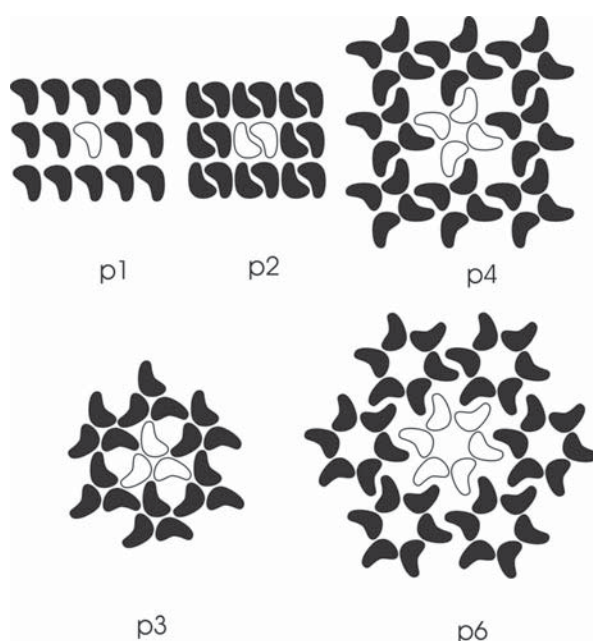
Większość Archaea ma na swojej powierzchni sztywną ścianę, która określa kształt komórki, nie dopuszcza do jej wnętrza większych cząstek pożywienia i daje pewną ochronę przed czynnikami zewnętrznymi. Wyjątek stanowią przedstawiciele rodzajów *Terroplasma* i *Ferroplasma* pozbawione ściany komórkowej *sensu stricte* [Golyszhina, Timmis 2005]. Błona cytoplazmatyczna tych archebakterii jest stabilizowana przez glikopeptyd bogaty w mannozę oraz liposacharyd. Łańcuchy cukrowe tych związków są skierowane na zewnątrz błony, gdzie tworzą glikokaliks, czyli rodzaj szczątkowej ściany komórkowej.

Archaea nie wytwarzają mureiny, czyli peptydoglikanu stanowiącego główny składnik ściany komórkowej prawie wszystkich przedstawicieli domeny Bacteria, z wyjątkiem *Chlamydia*, *Mycoplasma* i *Planctomyces*. Wobec braku mureiny do budowy zewnętrznej osłony komórkowej wykorzystują szeroką gamę biopolimerów o różnej naturze chemicznej [Kandler, König 1998].

Warstwa S. Znakomita większość poznanych dotąd gatunków Archaea to organizmy Gram-ujemne. Na swojej powierzchni mają one monomolekularną krystaliczną warstwę białkową, tzw. warstwę S (ang. S-layer), jako jedyną osłonę komórkową. Pojedyncze elementy warstwy S składają się z jednej, dwóch, trzech, czterech lub sześciu identycznych podjednostek (gliko)proteinowych. Są one zorganizowane w przestrzenną siatkę warstwy S, która ma symetrię skośną (dla 1p, 2p), tetragonalną (4p) lub heksagonalną (3p, 6p) i całkowicie pokrywa błonę cytoplazmatyczną (rys. 1). Wśród Archaea dominuje symetria heksagonalna [Ellen i in. 2010, Sara, Sleytr 2000]. Warto dodać, że do kompletnego pokrycia komórki o kształcie pałeczki potrzeba około 500 tys. monomerów warstwy S [Pum i in. 2013]. Archebakteryjna warstwa S jest zakotwiczona bezpośrednio w błonie cytoplazmatycznej za pośrednictwem hydrofobowych fragmentów białkowych „kolumn” (ang. stalk-like structures), tworząc w ten sposób quasi-peryplazmatyczną przestrzeń ściany (rys. 2). Wzmiankowane kotwice białkowe przypuszczalnie działają jako struktury immobilizacyjne dla lipidów i białek, lecz ich wpływ na właściwości membrany pozostaje na razie nieznany. Ważne jest również to, że w odróżnieniu od innych białek błonowych nie pływają one swobodnie w fazie lipidowej [Alberts i in. 2006, Engelhardt 2007]. Warstwa S występuje również u licznych przedstawicieli domeny Bacteria, lecz nie ma ona żadnego kontaktu z membraną cytoplazmatyczną. U bakterii Gram-dodatnich podjednostki warstwy S są przytwierdzone do peptydoglikanu ściany komórkowej, natomiast u bakterii Gram-ujemnych są powiązane z powierzchniowymi komponentami zewnętrznej membrany, np. lipopolisacharydami [Sara, Sleytr 2000].

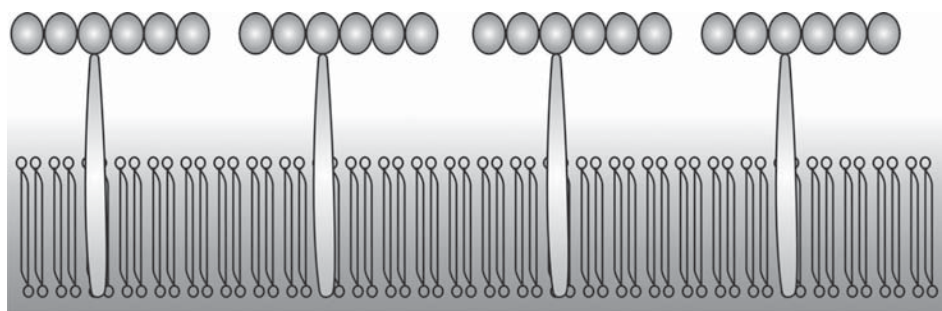
Warstwa S u większości Archaea ma grubość 5–15 nm, gładką powierzchnię i nieco bardziej pofałdowaną stronę wewnętrzną. Występują w niej liczne pory, o wyrównanej wielkości i morfologii, zajmujące od 30 do 70% całej powierzchni. Białka warstwy S cechują się dużą zawartością kwasu asparaginowego i glutaminowego (do 15 mol%),

podczas gdy aminokwasy siarkowe nie są obecne lub występują tylko w niewielkiej ilości [Sleytr, Sara 1997]. Zwraca uwagę szerokie rozpowszechnienie glikozylacji białek warstwy S w domenie Archaea. Łańcuchy cukrowe są połączone z rdzeniem białkowym najczęściej za pomocą wiązań N-glikozydowych. U przedstawicieli domeny Bacteria białka warstwy S są glikozylowane rzadziej i przeważają wiązania O-glikozydowe [Sara, Sleytr 2000, Jarrell i in. 2010]. Jedną z intrygujących cech białek warstwy S jest ich wrodzona zdolność do samoorganizowania się w mono- lub dwuwarstwy w roztworach lub na granicy faz [Pum i in. 2013].



Rys. 1. Podjednostki białkowe (p) warstwy S u Archebakterii o symetrii skośnej (dla 1p, 2p), tetragonalnej (4p) lub heksagonalnej (3p, 6p)

Fig. 1. The protein subunits (p) of archaeal S-layers arranged in lattices with different symmetry: oblique (p1, p2), square (p4) or hexagonal (p3, p6)



Rys. 2. Schemat archebakteryjnej osłony komórkowej (warstwy S), składającej się z białek powierzchniowych i kolumn białkowych zakotwiczonych w błonie komórkowej

Fig. 2. Model of archaeal cell envelope (S-layer) composed of surface-covering proteins and protein stalks inserted in cell membrane

Powszechne występowanie u Archaea warstwy S jako jedynej bariery oddzielającej protoplast od otoczenia zewnętrznego sugeruje, że pełni ona ważne funkcje. Engelhardt [2007] do jej pierwszoplanowych funkcji zalicza mechaniczną, termiczną i osmotyczną stabilizację komórki, natomiast jako funkcje drugoplanowe wskazuje: udział w przedziałowości komórki (przestrzeń peryplazmatyczna), ochronę przed czynnikami zewnętrznymi (pozaokórkowe enzymy, małe lipofilne cząsteczki, różne toksyny) oraz uczestnictwo w interakcjach środowiskowych (pułapka jonowa, wiązanie metali, adhezja do powierzchni, receptor fagów, immobilizacja białek).

Ściana komórkowa. Przedstawiciele rzędu *Methanobacteriales* oraz rodzaju *Methanopyrus*, czyli Gram-dodatnich, metanogennych Archaea mają ścianę komórkową zawierającą pseudomureinę, która strukturalnie i funkcjonalnie jest podobna do mureinowej ściany komórkowej bakterii właściwych. Jednakże, pseudomureina w porównaniu z mureiną jest fundamentalnie innym typem peptydoglikanu. Jego część cukrowa składa się z kwasu N-acetylotalozaminuronowego (zamiast kwasu mureinowego) i N-acetyloglukozaminy połączonych wiązaniem β -1,3-glikozydowym (w mureinie wiązania β -1,4-glikozydowe), a N-acetyloglukozamina jest często zastępowana przez N-acetylogalaktozaminę. Natomiast część peptydowa pseudomureiny zawiera wyłącznie L-aminokwasy, podczas gdy w mureinowych mostkach peptydowych przeważają D-aminokwasy [Kandler, König 1998, Steenbakkers in. 2006].

Pseudomureina jest oporna na lizozym i inne bakteryjne hydrolazy, lecz niedawno zostały odkryte dwie pseudomureinowe endoizopeptydazy (PeiW i PeiP), które hydrolizują wiązanie ϵ (Ala)-Lys w mostkach peptydowych, prowadząc do rozpadu struktury siatki pseudomureinowej. Oba te enzymy są stosowane do otrzymywania protoplastów i izolacji DNA z metanogennych Archaea, a ponadto PeiW zwiększa szybkość wnikania sond hybrydizacyjnych i umożliwia fluorescencję *in situ* (FISH) [Visweswaran i in. 2010].

U niektórych metanogennych archeonów pseudomureinową ścianę pokrywa białkowa warstwa S [Alberts i in. 2006]. Ostatnie badania Rohlin i in. [2012], angażujące proteomikę i bioinformatykę, ujawniły w rodzinie *Methanosarcinaceae* obecność niespotykanych u innych Archea białek związanych z architekturą powierzchni komórki.

Poza pseudomureiną w skład ściany komórkowej niektórych archebakterii mogą wchodzić również inne polisacharydy. Jednym z nich jest metanochondroityna, zbudowana z kwasu glukuronowego lub galakturonowego, galaktozaminy i glukozy. Występuje ona u *Methanosarcina* i przypomina siarczan chondroityny, polimer związany z tkanką łączną kręgowców. Innym przykładem może być heteropolisacharyd z dużą zawartością grup siarczanowych, wchodzący w skład sztywnej ściany ekstremalnie halofilnego gatunku *Halococcus morrhuae*, który składa się z mieszaniny cukrów, aminocukrów, kwasów uronowych, kwasu glukozaminuronowego i glicyny [Kandler, König 1998].

Niespotykaną u innych Archaea strukturę osłony komórkowej stwierdzono u hipertermofilnego archeona *Ignicoccus* [Rachel i in. 2002]. Przypomina ona zewnętrzną błonę ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, ma szerokość ok. 10 nm i jest jedyną zewnętrzną osłoną tej archebakterii. Jednocześnie, w przestrzeni peryplazmatycznej, o zmiennej szerokości od 20 do 400 nm, wykazano obecność pęcherzyków wydzielniczych związanych z błoną cytoplazmatyczną. Fakt ten stanowi kolejną cechę upodabniającą Archaea do organizmów eukariotycznych.

Pomimo dużego zróżnicowania typów osłon komórkowych u archebakterii mechanizm wzrostu ściany komórkowej jest u nich analogiczny do bakteryjnego. I tak,

gatunki o kształcie kulistym (np. *Pyrococcus furiosus*) wbudowują nowe elementy ściany w regionie tworzenia septy podziałowej, natomiast u gatunków o kształcie pałeczki (np. *Methanopyrus kandleri*) obserwowano wbudowywanie nowych materiałów rozproszone na całej długości komórki [Wirth i in. 2011].

WYPUSTKI KOMÓRKOWE

Dotychczasowe badania genetyczne, biochemiczne i obserwacje w mikroskopie elektronowym szerokiej palety gatunków Archaea pokazały występowanie u nich wielu różnego typu struktur powierzchniowych. Niektóre z nich, jak rzęski i fimbrie (pile), podobne na pierwszy rzut oka do swoich bakteryjnych odpowiedników w istocie znacznie się od nich różnią. Inne, w tym kanule, hami czy bindosomy, wydają się być unikalnymi strukturami domeny Archaea.

Szczególny postęp został dokonany w badaniach archaeli (rzęsek archebakterii) oraz pili, na co złożyło się zarówno użycie modelowych organizmów, jak i najnowszych, zaawansowanych narzędzi genetycznych. Pokazały one powszechne wykorzystanie bakteryjnego modelu pili typu IV przy tworzeniu wielu powierzchniowych struktur archebakterii oraz szerokie rozpowszechnienie posttranslacyjnej glikozylacji archaelin (archebakteryjne flageliny) i pilin, białek wchodzących w skład, odpowiednio, rzęsek i pili [Craig, Li 2008, Jarrell i in. 2013].

Rzęski. Urzęsienie komórki jest cechą charakterystyczną prawie wszystkich grup Archaea. Występuje ono u ekstremalnych halofili, haloalkalofili, metanogenów, hipertermofili, termoacidofili, a nawet u przedstawicieli *Thermoplasma*, nieposiadających ściany komórkowej [Jarrell i in. 1996, Ng i in. 2008]. Rzęska archebakterii jest strukturą znacznie różniącą się od rzęski bakteryjnej, tak pod względem architektury, kompozycji, jak i sposobu powstawania. Ma ona dużo cieńszy filament (10–15 nm w porównaniu z 20 nm u bakterii), złożony z różnej liczby podjednostek białkowych, flagelin, podobnych do bakteryjnych pilin typu IV [Alberts i in. 2006, Alberts, Pohlschroder 2009, Wang i in. 2008]. Podjednostki flagelinowe archaeli są zoorganizowane w prawoskrętny helikalny filament, który zawiera centralny rdzeń, najprawdopodobniej utworzony poprzez *coiled-coil* interakcję N-terminalnych hydrofobowych domen tych podjednostek, podobnie jak w bakteryjnej pili typu IV [Craig i in. 2004, Szabo i in. 2007]. Pozostaje to w sprzeczności z filamentem rzęski bakteryjnej, gdzie występuje pusty kanał o średnicy 2 nm, przez który białka flagelinowe mogą być transportowane do wierzchołka rzęski podczas jej wzrostu. Archebakteryjna rzęska jest składana od podstawy tak samo jak bakteryjna pila [Alberts, Pohlschroder 2009]. Region haka (giętki łącznik między ciałkiem bazalnym i filamentem rzęski) jest słabo poznany u Archaea podobnie jak mechanizm ruchu i rola archealnego haka w rotacji rzęski [Ellen i in. 2010]. Archebakterie są unikalne w sensie użycia do pływania struktury przypominającej bakteryjną pilę typu IV. W dodatku do tej pierwszoplanowej funkcji rzęski ułatwiają archebakteriom przytwierdzanie się do powierzchni abiotycznych, jak również pełnią funkcję łącznika komórek podczas koniugacji [Szabo i in. 2007, Jarrell, McBride 2008].

Fimbrie. Na powierzchni komórek niektórych przedstawicieli domeny Archaea, stwierdzone są włókienkowate wypustki przypominające bakteryjne fimbrie, nazywane też pilami. Po raz pierwszy zaobserwowano je w 1973 r. u *Sulfolobus*, którego komórki

bezpośrednio po pobraniu z gorącego źródła były przytwierdzone do drobinek siarki za pomocą licznych fimbrii o średnicy 5 nm [Ng i in. 2008]. Wiele lat później wykazano, że komórki *Sulfolobus solfataricus* zaczynają agregować i tworzyć fimbrie w odpowiedzi na stress spowodowany promieniowaniem UV i dowiedziono, że obecny w genomach wszystkich *Sulfolobales* operon *ups*, kodujący dwa białka pilinowe UpsA i UpsB, jest silnie indukowany przez UV [Fröls i in. 2008, Alberts, Pohlschroder 2009]. Mutanty z delecją pilin UpsA i UpsB traciły zdolność do łączenia się w agregaty, co sugeruje, że zbudowane z nich struktury, podobne do pili typu IV, są jak u bakterii wykorzystywane w interakcjach komórkowych [Fröls i in. 2008]. Fimbrie Ups są strukturami powierzchniowymi znacznie krótszymi i relatywnie cieńszymi (średnica ok. 7 nm) od rzęsek *S. solfataricus* [Szabó i in. 2007]. Niedawne badania Wang i in. [2008] dowiodły, że archebakteryjne piliny pomimo podobieństwa do pilin bakteryjnych typu IV mogą tworzyć struktury unikalne, nigdy dotychczas niestwierdzone. Badacze ci w strukturze pili pochodzących z gatunku *Methanococcus maripaludis* zidentyfikowali po raz pierwszy dwuskładnikowy typ upakowania, w którym koegzystowały ze sobą filament o helikalnej symetrii, składający się z jednej helisy oraz zbudowana z czterech podjednostek struktura pierścieniowa.

Poza opisanymi powyżej rzęskami i fimbriami zainteresowanie wielu grup badaczy budzą takie struktury jak kanule (ang. cannulae), hami czy bindosomy, widoczne na powierzchni komórek niektórych gatunków Archaea. Wydaje się, że są to struktury wyspecjalizowane pod kątem adaptacji tych mikroorganizmów do nieprzyjanych środowisk bytowania. Wiedza na ich temat jest na razie bardzo ograniczona.

Kanule to system połączonych włókien, w którym pułapkowane są komórki archebakterii. Struktura ta była jak dotąd znajdowana wyłącznie u przedstawicieli rodzaju *Pyrodictum*, archeonów żyjących w hydrotermalnych środowiskach morskich, w zakresie temperatur od 80 do 110°C. Puste włókna kanuli mają zewnętrzną średnicę wynoszącą 25 nm, a ich finalna długość może osiągać 30–150 µm [Ng i in. 2008, Ellen i in. 2010]. Są one zbudowane z co najmniej trzech homologicznych podjednostek glikoproteinowych, nazwanych CanA, CanB i CanC, o masie molowej 20–24 kDa, które cechują się wybitną opornością na wysoką temperaturę i inne czynniki denaturujące [Jarrell i in. 2013]. Badania Nickell i in. [2003] dostarczyły dowodów, że kanule działają jak międzykomórkowe przewody, które wnikają do przestrzeni peryplazmatycznej sąsiadujących komórek, lecz nie do ich cytoplazmy. Stwierdzono ponadto, że kanule mogą być niezbędne do wzrostu *Pyrodictum*, gdyż w kulturach laboratoryjnych tych archebakterii nigdy nie obserwowano spontanicznych mutantów z utraconą zdolnością do tworzenia kanuli. Jakkolwiek funkcje kanuli nie są dokładne znane, to zakłada się, że Archaea wykorzystują je do wiązania i komunikowania się komórek, a także do wymiany składników pokarmowych i materiału genetycznego [Ellen i in. 2010].

Hami stanowią nowy rodzaj wypustek komórkowych o niespotykanej wręcz złożoności. Wykryto je niedawno u niezidentyfikowanego jeszcze archeona, wyizolowanego z zimnego źródła siarczkowego. Każda komórka archeona jest otoczona przez około 100 hami, o długości 1–3 µm i szerokości 7–8 nm. Filament hami charakteryzuje się strukturą helikalną i nie ma centralnego kanału. Wyglądem przypomina drut kolczasty, z powodu trzech kolców (każdy o średnicy 4 nm), które wyłaniają się z niego w stałym odstępnie co 46 nm. Filament zakończony jest potrójnym haczykiem mocującym tę strukturę do podłoża [Moissl i in. 2005].

Hami są zbudowane z podjednostek białkowych o wielkości 120 kDa, które nie zostały jeszcze zidentyfikowane, jak i nieznanym pozostaje mechanizm ich składania w filament. Cechują się one stabilnością w szerokim zakresie temperatur (0–70°C) i wartości pH (0,5–11,5). Są odpowiedzialne za silną adhezję do różnych abiotycznych powierzchni jak i do sąsiadujących komórek oraz uczestniczą w tworzeniu archebakteryjnego biofilmu [Jarrell i in. 2013].

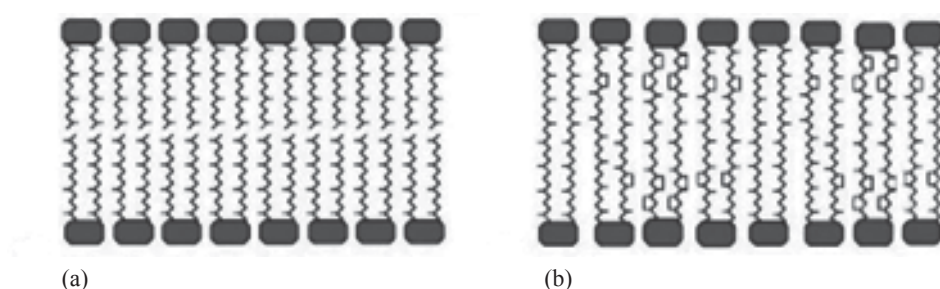
Bindosomy są domniemanymi strukturami powierzchniowymi *Sulfolobus solfataricus* składającymi się z białek wiążących cukry, współdziałającymi z transporterami ABC w pobieraniu cukrów ze środowiska. Białka GlcS i AraS, wiążące odpowiednio glukozę i arabinozę, mają sygnałne peptydy podobne do pilin typu IV, odcinane przez tę samą prepilinową peptydazę (PibD), która w tym archeonie usuwa sygnałne peptydy zarówno z flagelin, jak i pilin. Dlatego bindosomy zostały zaproponowane jako struktury pilusopodobne, zlokalizowane blisko powierzchni komórki [Alberts i in. 2006, Alberts, Pohl-schröder 2009]. Ekspresja GlcS i AraS w osłonie komórki jest sterowana przez system składania bindosomu (Bas), skomponowany z trzech białek pilinowych: BasABC, BasE (PilT-podobna ATP-aza) i BasF (Pil-podobne integralne białko membranowe). Delecja któregokolwiek z genów kodujących powyższe białka przejawiała się spowolnieniem wzrostu w podłożach z glukozą lub arabinozą, sugerując ich dodatkową rolę w składaniu bindosomu, być może dzieloną z pilinami przy składaniu pili typu IV [Jarrell i in. 2010].

Pomimo że badania nad bindosomami są obecnie ograniczone do gatunku *S. solfataricus*, to struktury te mogą być szeroko rozpowszechnione w domenie Archaea, gdyż wiele białek wiążących cukry, które zawierają sygnałne peptydy podobne do tych w pilinach typu IV, identyfikuje się obecnie zarówno w królestwie Crenarchaeota, jak i Euryarchaeota [Jarrell i in. 2013].

BŁONA CYTOPLAZMATYCZNA

Błona cytoplazmatyczna stanowi pierwszą barierę oddzielającą cytoplazmę od środowiska zewnętrznego. Ponadto ma ona za zadanie kontrolować transport składników odżywczych i jonów do wnętrza komórki oraz sekrecję metabolitów i zbędnych jonów. Z tego powodu jest ona wybiórczo przepuszczalna dla określonych cząsteczek, a jednocześnie całkowicie nieprzepuszczalna dla innych [Konings i in. 2002]. Właściwości błony wynikają bezpośrednio z jej budowy.

U wszystkich organizmów główną strukturą błony cytoplazmatycznej jest dwuwarstwa (rzadziej monowarstwa) lipidowa, w której całkowicie lub częściowo zanurzone są białka o rozmaitej budowie i funkcjach. Lipidy wchodzące w skład błony są w większości fosfolipidami. Są one ułożone w taki sposób, że zarówno zewnętrzna, jak i wewnętrzna strona błony jest hydrofilowa (tworzą ją polarne głowy fosfolipidów), podczas gdy hydrofobowe wnętrze błony jest utworzone przez łańcuchy węglowodorowe. Pomimo ogólnego podobieństwa budowy skład komponentów błony różni się zasadniczo u poszczególnych grup organizmów. Bakteryjne i eukariotyczne lipidy błonowe zawierają dwa łańcuchy węglowodorowe kwasów tłuszczowych związane estrowo z glicerolem oraz hydrofilową zasadę organiczną, przyłączoną do trzeciej grupy hydroksylowej glicerolu poprzez resztę fosforanową lub glikozylową. Takie lipidy przyjmują zawsze formę dwuwarstwy (rys. 3).



Rys. 3. Przykłady membran cytoplazmatycznych u Archaea: (a) dwuwarstwa dietyrowa, (b) monowarstwa tetraeterowa

Fig. 3. The structure of cell membrane of Archaea: (a) diether bilayer, (b) tetraether monolayer

Błona komórkowa u Archaea jest zbudowana inaczej niż u przedstawicieli pozostałych domen. Koga i Morii [2007] wskazują cztery unikalne cechy archebakteryjnych fosfolipidów. Należą do nich:

1. Konfiguracja przestrzenna szkieletu glicerofosforanowego: łańcuchy węglowodorowe są połączone z glicerolem w pozycjach *sn*-2 i *sn*-3, podczas gdy bakteryjne i eukariotyczne lipidy mają łańcuchy *sn*-1 i *sn*-2. W konsekwencji, archebakteryjny *sn*-glicerol-1-fosforan (G-1-P) jest enancjomerem *sn*-glicerol-3-fosforanu (G-3-P) bakteryjnych i eukariotycznych fosfolipidów.

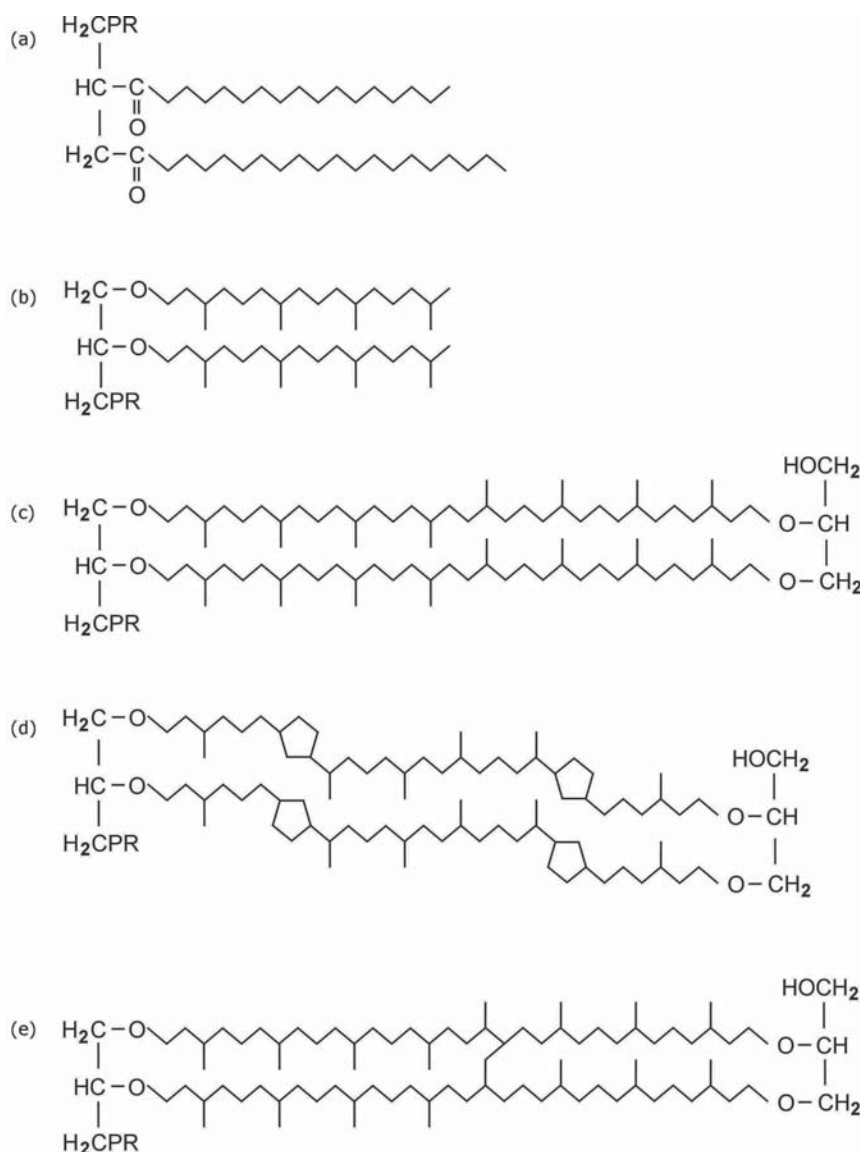
2. Wiązania eterowe: łańcuchy węglowodorowe w archebakteryjnych polarnych lipidach są połączone z glicerolem za pomocą wiązań eterowych w przeciwieństwie do bakteryjnych analogów, które w większości mają wiązania estrowe między kwasami tłuszczowymi i glicerolem.

3. Izoprenoidowe łańcuchy węglowodorowe: łańcuchy węglowodorowe polarnych lipidów u Archaea są rozgałęzionymi izoprenoidami z licznymi metylowymi odgałęziami, podczas gdy ich bakteryjnymi i eukariotycznymi kontrpartnerami są głównie prostołańcuchowe kwasy tłuszczowe.

4. Bipolarne tetraeterowe lipidy występujące u dużej liczby gatunków archebakterii; sprzegają one membranę do formy monowarstwy.

Typową strukturą lipidów membran archebakteryjnych jest standardowy archeol, zawierający głównie łańcuchy alkilowe $C_{20,20}$ oraz/lub kaldarcheol z łańcuchami węglowymi $C_{40,40}$ [Urlüh i in. 2009]. Ponadto zidentyfikowano wiele ich pochodnych, np.: archaeole ze zwiększoną liczbą izoprenoidowych C_5 podjednostek, cykliczne archeole, kaldarcheole zawierające pierścienie cyklopentanowe i dodatkowo pierścienie cykloheksanowe czy kaldarcheole w kształcie litery H [Koga, Morii 2005]. Przykładowe struktury lipidów membranowych przedstawiono na rysunku 4.

Archeole (dieterowe lipidy) są znajdowane u prawie wszystkich Archaea, natomiast kaldarcheole (tetraeterowe lipidy) głównie u metanogennych, termofilnych oraz psychrofilnych archebakterii. Wśród tetraeterowych struktur znacznie częściej spotykane są formy zawierające cyklopentanowe pierścienie niż formy acykliczne [Benvegnu i in. 2008]. Warto wspomnieć, że w ostatniej dekadzie został dokonany ogromny postęp w zakresie metod analitycznych oraz występowania i rozpoznawania źródeł tetraeterowych lipidów, a także ich aplikacji jako biomarkerowych lipidów w obszarze organicznej geochemii [Schouten i in. 2013].



Rys. 4. Struktury lipidów membranowych: (a) typowa struktura fosfolipidów bakteryjnych i eukariotycznych, (b-e) przykładowe struktury archeobakteryjnych lipidów membranowych: (b) archeol (2,3-di-O-difytanyl-sn-glicerol), (c) kaldarcheol (2,2',3,3'-tetra-O-dibifytanyl-sn-diglicerol), (d) kaldarcheol zawierający pierścień cyklopentanowy i (e) kaldarcheol w kształcie litery H

Fig. 4. Membrane lipid structures: (a) typical structure of bacterial and eukaryotic phospholipids (b-e) selected structures of archaeal membrane lipids: (b) archaeol (2,3-di-O-diphytanyl-sn-glycerol), (c) caldarchaeol (2,2',3,3'-tetra-O-dibiphytanyl-sn-diglycerol), (d) cyclopentane-containing caldarchaeol and (e) H-shaped caldarchaeol

W przeciwieństwie do opisanych powyżej czterech różnic w budowie membranowych lipidów u archebakterii, w porównaniu z ich bakteryjnymi i eukariotycznymi odpowiednikami, polarne głowy fosfolipidów są w zasadzie podobne u wszystkich trzech domen. Występują w nich: etanoloamina, L-seryna, glicerol, inozytol, a także cholina. U niewielkich tylko gatunków Archaea wykazano obecność nietypowych polarnych grup, zawierających trimetyloaminopentantetrol, glukozylaminoinozytol czy glukozylinozytol [Koga, Morii 2007].

Należy także odnotować, że niektóre ekstremalnie halofilne Archaea, głównie przedstawiciele klasy *Halobacteria*, jako fragment membrany cytoplazmatycznej mają tzw. czerwoną membranę. Ważnym jej składnikiem jest bakteriorodopsyna, retinolowe białko zdolne do absorpcji światła o długości fali 500–650 nm i przekształcania go w gradient elektrochemiczny, który jest następnie wykorzystywany do syntezy ATP. Niezwykłe właściwości tego białka oraz opracowane efektywne procedury jego izolacji i oczyszczania sprawiły, że już dziś znajduje ono praktyczne zastosowanie, głównie w urządzeniach optycznych, ale również w medycynie i badaniach naukowych [Trivedi i in. 2011, Shiu i in. 2013].

Archebakteryjne membrany cytoplazmatyczne są zdecydowanie bardziej stabilne od membran bakteryjnych i eukariotycznych. Wynika to bezpośrednio z różnic w ich budowie. Główne znaczenie mają rozgałęzienia łańcuchów izoprenowych i wynikająca z nich mniejsza ruchliwość trzeciorzędowego węgla, co wpływa na redukcję zarówno krystalizacji (lipidy membranowe w otaczającej temperaturze są w stanie ciekłokrystalicznym), jak i przepuszczalności membrany (grupy metylowe jako przestrzenna przeszkoda). Nie bez znaczenia są też wiązania eterowe, bardziej stabilne niż estrowe w szerokim zakresie wartości pH. Natomiast nasycone łańcuchy alkilowe zapewniają ochronę przed oksydacyjną degradacją, a niezwykła stereochemia szkieletu glicerolowego – ochronę przed atakiem fosfolipaz uwalnianych przez inne organizmy [Yang i in. 2007, Jacquemet i in. 2009].

Błona komórkowa, aby spełniać swoje biologiczne funkcje, musi znajdować się w stanie ciekłokrystalicznym i mieć wysoką barierę przepuszczalności. Eterowe lipidy archebakteryjnych membran charakteryzują się znacznie niższą temperaturą przemiany fazowej (pomiędzy -20 i -15°C) w porównaniu z normalnymi estrowymi fosfolipidami membranowymi (40–50°C). Dlatego pozostają one w fazie ciekłokrystalicznej w szerokim zakresie temperatur od 0 do 100°C, w których większość archebakterii może rosnąć. W przeciwieństwie do nich diestrowe fosfolipidy membrany bakteryjnej są przy tym samym zakresie temperatur w fazie żelowej albo w fazie ciekłokrystalicznej, co jest uzależnione od składu kwasów tłuszczowych. Z kolei badania z użyciem tetraeterowych liposomów dowiodły, że membrany archebakterii cechują się ekstremalnie niską przepuszczalnością substancji rozpuszczonych, która zwiększa się tylko nieznacznie ze wzrostem temperatury od 0 do 100°C. Natomiast przepuszczalność klasycznych liposomów estrowych wzrasta drastycznie ze wzrostem temperatury [Koga, Morii 2005, Koga 2012].

Zdolność do rozwoju w warunkach niesprzyjających organizmom mezofilnym jest możliwa między innymi dzięki dostosowaniu struktury i składu membrany cytoplazmatycznej. Należy jednak podkreślić, że mechanizmy tej adaptacji są odmienne w przypadku ekstremofilnych bakterii i ekstremofilnych archeonów, a także zależą od charakteru zasiedlanej niszy. Jakkolwiek przyjmuje się, że archebakteryjne lipidowe membrany nie muszą regulować swojego składu, aby spełnić oba warunki adaptacji do temperatury

(płynność i niska przepuszczalność), gdyż są one już spełnione dla szerokiego zakresu temperatur [Koga 2012], to jednak strukturalne modyfikacje mają również miejsce w membranach archebakterii celem lepszego ich dostosowania do ekstensywnych warunków życiowych [Yang i in. 2007].

Dane literaturowe wskazują, że na ponad 80% biosfery Ziemi panuje permanentnie temperatura poniżej 5°C [Vosseberg i in. 1998]. Liczne analizy potwierdzają powszechne występowanie na tych obszarach gatunków psychrofilnych. Zmiany, które zachodzą w błonach komórkowych pod wpływem aklimatyzacji do warunków stresowych, mają często charakter odwracalny. W przypadku adaptacji do zimna może dochodzić do genetycznie uwarunkowanych modyfikacji strukturalnych, które są nieodwracalne. Ma to miejsce w przypadku psychrofilnych bakterii i jest jedną z przyczyn braku zdolności tych organizmów do wzrostu w temperaturach typowych dla mezofili [Chintalapati i in. 2004, Yang i in. 2007]. W celu utrzymania odpowiedniego stopnia płynności błony cytoplazmatycznej bakterie stosują takie mechanizmy jak: zwiększanie ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych, skracanie łańcucha acylowego, jak również zwiększanie proporcji kwasów tłuszczowych *anteiso* do *iso* [Chintalapati i in. 2004]. Natomiast adaptacja psychrofilnych archeonów polega na ograniczaniu zawartości lipidów tetraeterowych oraz pierścieniowych w strukturze błony w celu zachowania jej płynności [Cavicchioli i in. 2000].

Wzrost temperatury środowiska powoduje dokładnie odwrotne procesy adaptacyjne u przedstawicieli obu domen. Archebakterie, pod wpływem szoku cieplnego, zwiększają proporcje kardarcheoli do archeoli oraz stopień cyklizacji łańcuchów węglowodorowych. Taki mechanizm umożliwia ciaśniejsze upakowanie lipidów, a w konsekwencji zapobiega nadmiernemu upłynnieniu membrany [Konings i in. 2002, Jacquemet i in. 2009, Matsumi i in. 2011].

Organizacja błony ma bezpośredni wpływ na selektywność transportu protonów i jonów sodu, co z kolei umożliwia zachowanie odpowiedniego gradientu tych cząstek po obu jej stronach. Dlatego maksymalna temperatura wzrostu organizmów jest determinowana przepuszczalnością błony. Zmiany w budowie lipidów mają zatem na celu zachowanie homeostazy w przepuszczalności protonów (ang. homeo-proton permeability) [Konings i in. 2002]. Vosseberg i współpracownicy [1999] badali wpływ zmian pH i zasolenia na przepuszczalność błon alkalo-halofilnych Archaea, wykazując, że liposomy wytworzone na bazie lipidów *Halobacterium salinarum* i *Halorubrum vacuolarum* zachowują stabilność przy zasoleniu sięgającym 4M NaCl i KCl. Ponadto, ich przepuszczalność była niezależna od stężenia soli i pozostawała niezmienną w przedziale od pH 7 do pH 9. Na tej podstawie stwierdzono, że membrany alkalo-halofilnych archeonów są nieprzepuszczalne dla protonów oraz jonów sodu, co umożliwia komórkom zachowanie odpowiedniego turgoru w środowisku o dużej osmomolalności.

Membrany cytoplazmatyczne Archaea ze względu na swoją unikalną budowę i fizyczne właściwości stanowią w ostatniej dekadzie intrygujący model badań. Szczególne zainteresowanie budzą aspekty kontroli cech liposomów i sztucznych membran takich jak płynność, sztywność i przepuszczalność poprzez modulowanie składu dieterowych i tetraeterowych lipidów, a także ich chemicznej struktury. Przykładem może być nowa generacja liposomów o nazwie archeosomy, które są rozwijane jako innowacyjne systemy dostarczania leków i genów [Benvegna i in. 2009].

WYBRANE ASPEKTY METABOLIZMU

Powszechne występowanie Archaea w wielu niszach ekologicznych skutkuje znacznym zróżnicowaniem metabolizmu w obrębie tej domeny. Obejmuje ona bowiem zarówno organizmy autotroficzne wykorzystujące CO_2 jako jedyne źródło węgla, jak i heterotroficzne o szerszej lub węższej specyficzności względem substratów organicznych. Odnotowano dodatkowo występowanie gatunków o fakultatywnej zdolności do samożywnego lub cudzożywnego wzrostu w odpowiednich warunkach. Co więcej, przedstawiciele Archaea mogą wykorzystywać, w zależności od gatunku, związki organiczne (organotrofy), nieorganiczne (litotrofy) lub nawet energię słoneczną (fototrofy) w charakterze źródła energii [Kates i in. 1993].

Gрупę autotrofów o dużym znaczeniu środowiskowym stanowią nityfikatory. Do niedawna sądzono, że za pierwszy etap procesu nityfikacji, czyli utlenianie amoniaku do jonu azotynowego, są odpowiedzialne wyłącznie autotroficzne bakterie. Tymczasem, szeroko zakrojone badania metagenomiczne, a następnie sukcesy w hodowlach *ex vivo* pokazały, że archebakterie są również zdolne do przeprowadzania tego procesu. Zhang i in. [2010] odnotowali obecność archeonów należących do klasy *Thaumarchaea* w różnych próbkach gleby i potwierdzili ich autotroficzny wzrost, związany z procesem utleniania amoniaku. Z kolei Löscher i in. [2012] wykryli w dużych partiach oceanu dominację archebakterii utleniających amoniak (AOA, ang. archaeal ammonia-oxidizer) nad ich bakteryjnymi kontrpartnerami (AOB) i postawili hipotezę, że to raczej AOA niż AOB odgrywają kluczową rolę w oceanicznej produkcji gazu cieplarnianego, jakim jest N_2O (produkt uboczny nityfikacji) i że proces ten będzie się nasilać, zwłaszcza w morzach tropikalnych, w związku z przewidywanym obniżaniem się poziomu tlenu rozpuszczonego.

Zarówno badania bazujące na czystych kulturach, jak i badania środowiskowe wskazywały, że przynajmniej niektóre AOA odznaczają się wysokim powinowactwem z amoniakiem i są zdolne do wzrostu w ekstremalnie oligotroficznych warunkach. Natomiast analiza pierwszych dostępnych genomów AOA ujawniła znaczące różnice ich metabolizmu, w porównaniu z metabolizmem AOB, obejmujące systemy utleniania amoniaku i transportu elektronów wysoce zależne od miedzi, jak również nową drogę wiązania CO_2 , niedawno odkrytą w hipertermofilnych Archaea. Dostarczyły one również dowodów na to, że AOA są przedstawicielami odrębnego, nowego królestwa nazwanego *Thaumarcheota*, które może być nawet starszą linią ewolucyjną od wcześniej wyróżnionych Cren- i Euryarchaeota [Schleper, Nicol 2010]. Dodatkowo zespół Offre [2013] stwierdził, że zdolne do utleniania amoniaku *Thaumarcheota* stanowią grupą archebakterii najliczniej rozwijających się w środowiskach lądowych i morskich z dostępem do tlenu.

Archaea przeprowadzają szereg katabolicznych szlaków metabolicznych w podobny sposób jak pozostałe domeny. Zaliczyć tu można między innymi szlak Entnera-Doudoroffa, stanowiący zmodyfikowaną formę glikolizy czy też kompletny lub niepełny cykl Krebsa [Falb i in. 2008]. Wykorzystują one również szlak glioksylanowy, służący do syntezy węglowodanów ze związków dwuwęglowych, na co wskazuje obecność kluczowych enzymów tego szlaku: liazy izocytrynianowej i syntazy jabłczanowej w halofilnym archeonie *Haloferax volcanii* [Serrano i in. 1998].

Analiza aparatu enzymatycznego związanego z asymilacją węgla u autotroficznych przedstawicieli Crenarchaeota wykazała cztery możliwe szlaki wiązania CO_2 , a mianowicie:

cykl Kalwina, reduktywny cykl kwasu cytrynowego, reduktywny szlak acetylo-CoA i cykl kwasu 3-hydroksypropionowego. Dystrybucja tych szlaków koreluje z opartym na budowie 16S-rRNA podziałem filogenetycznym tego królestwa [Hugler i in. 2003].

Archaea zgrupowane w klasie *Halobacteria* wykorzystują promieniowanie słoneczne jako źródło energii do syntez komórkowych. Są one określane mianem fototrofów. Jednakże grupa *Halobacteria*, w przeciwieństwie do fototroficznych organizmów w domnach Bacteria i Eukarya, nie ma zdolności wiązania CO₂ przy użyciu światła. Źródłem węgla dla halobakterii są związki organiczne, w tym: cukry (heksozy, pentozy), glicerol, kwasy organiczne, aminokwasy. Modelowym archeonem o uzdolnieniach fototroficznych jest gatunek *Halobacterium salinarum* bytujący w środowiskach o wysokim zasoleniu (4M i większym), czyli w nasyconych roztworach NaCl. Zawiera on cztery białka retinolowe: bakteriorodopsynę, halorodopsynę oraz sensoryczną rodopsynę I i II, stanowiące fotosyntetyczne barwniki z grupą chromoforową retinolu, zlokalizowane w błonie cytoplazmatycznej. Retinol jest bezpośrednio odpowiedzialny za przemieszczanie się jonów przez membranę, dzięki zmianom jakie zachodzą w jego strukturze pod wpływem światła. Wzmiankowany gatunek *H. salinarum* wykorzystuje światło jako jedyne źródła energii szczególnie dzięki aktywności bakteriorodopsyny. Białko to stanowi aktywowaną światłem pompę jonową, która umożliwia zamianę energii świetlnej na gradient protonów, wykorzystywany do generowania energii chemicznej magazynowanej w cząsteczkach ATP [Jin i in. 2008, Gonzalez i in. 2009]. Co więcej, *H. salinarum* jest gatunkiem niezwykle elastycznym bioenergetycznie. Może również pozyskiwać energię na drodze oddychania tlenowego i fermentacji argininy. Wykazano, że degradacja argininy, uważana powszechnie za alternatywny sposób pozyskiwania energii, zachodzi symultanicznie z oddychaniem tlenowym lub fotosyntezą. Uważa się, że ta niezwykła właściwość *H. salinarum* wynika najprawdopodobniej z jego adaptacji do środowisk o dużych wahanach poziomu składników pokarmowych, utrzymujących się przez długi czas [Gonzalez i in. 2009].

Metanogenne Archaea wyróżniają się niezwykłym typem metabolizmu, który umożliwia im użycie CO₂ + H₂, kwasu mrówkowego, metylowanych związków jednowęglowych lub kwasu octowego w charakterze źródeł węgla i energii. Metan jest końcowym produktem ich metabolizmu, wytwarzanym w unikalnym procesie generującym energię [Deppenmeier 2002]. Metanogenami są ściśle beztlenowe gatunki Archaea sklasyfikowane w obrębie pięciu rzędów (Methanobacteriales, Methanopyrales, Methanococcales, Methanomicrobiales i Methanosarcinales) w królestwie Euryarchaeota. Organizmy te są wysoce zróżnicowane pod względem rozmiarów i kształtów, a rozpowszechnienie w przyrodzie zawdzięczają dużym zdolnościom adaptacyjnym. Wzrost metanogenów możliwy jest w temperaturze od 4 do 110°C oraz przy pH 6–9. Naturalne siedliska metanogeny Archaea stanowią osady wodne (stawy, bagna, oceany), przewody pokarmowe ludzi i przeżuwaczy, a także ścieki, wysypiska, gorące źródła i wiele innych [Garcia i in. 2000]. Ich rozwój w wymienionych ekosystemach jest ściśle uzależniony od współwystępujących tam heterotroficznych bakterii, które degradują złożone biopolimery i dostarczają substratów do procesu metanogenezy. Metanogeneza stanowi czwarty i ostatni etap beztlenowego rozkładu materii organicznej przez mikroorganizmy. Wcześniej polisacharydy, białka, lipidy i kwasy nukleinowe zostają rozłożone do monomerów (cukry, aminokwasy, kwasy tłuszczowe, puryny, pirymidyny), które następnie podlegają fermentacji z wytworzeniem kwasów organicznych (propionowy, masłowy, octowy, mrówkowy,

bursztynowy, mlekowy), alkoholi (etanol, propanol i butanol) i innych związków (H_2 , CO_2 , ketony). Produkty fermentacji o liczbie atomów węgla powyżej jednego są sukcesywnie przekształcane do octanu i C_1 związków, w procesie octanogenezy prowadzonej przez bakterie octanogenne i syntrofowe. Z kolei, archebakterie zużywają te substancje jako źródło węgla i energii do produkcji metanu [Deppenmeier 2002]. Biorąc pod uwagę obieg węgla w przyrodzie, metanogeneza jest uważana za jeden z najważniejszych procesów biologicznych na Ziemi [Garcia i in. 2000].

Metan może być produkowany przez archebakterie na trzech drogach różniących się substratem węglowym i źródłem potencjału redukcyjnego. Najbardziej rozpowszechniony wśród metanogennych Archaea jest szlak hydrogenotrofowy. Polega on na redukcji CO_2 przy udziale H_2 jako donora elektronów i obejmuje siedem etapów prowadzących do powstania metanu. Na szlaku tym może być wykorzystywany również mrówczan, stanowiący jednocześnie źródło elektronów i węgla. Pozostałe dwie drogi metanogenezy: szlak octanowy i metylotrofowy są obecne u przedstawicieli rzędu Methanosarcinales. W pierwszej z nich kwas octowy ulega rozpadowi do grupy metylowej i CO. Tlenek węgla jest stopniowo utleniany, uwalniając elektrony niezbędne do redukcji grupy metylowej do metanu. Natomiast droga metylotrofowa jest stwierdzana również u przedstawicieli Methanobacteriales i ma przypuszczalnie szereg wariantów. W najlepiej poznanej wersji jednowęglowe związki, takie jak metyloaminy lub metanol, są wykorzystywane jednocześnie jako donor elektronów oraz ich akceptor. Jedna cząsteczka C-1 związku jest utleniana celem pozyskania elektronów do zredukowania trzech kolejnych cząsteczek do ostatecznego produktu, jakim jest metan [Baptiste i in. 2005]. W proces metanogenezy zaangażowanych jest wiele unikalnych koenzymów (metanofuran, tetrahydrometanopteryna, koenzym F_{420} , koenzym M, HS-koenzym B) i przenośników elektronów (metanofenazyna) [Garcia i in. 2000]. Warto też wspomnieć, że ponad 200 genów koduje syntezę enzymów, koenzymów i grup prostetycznych włączonych w proces redukcji CO_2 do metanu i jego sprzężenie z fosforylacją ADP [Kaster i in. 2011]. Uważa się, że hydrogenotrofowe metanogeny stanowią ewolucyjnie pierwotną grupę Archaea, o czym świadczy występowanie u wszystkich gatunków genów odpowiedzialnych za produkcję metanu w prawie niezmienionej formie [Baptiste i in. 2005].

PODSUMOWANIE

Archaea są ważnym składnikiem wszystkich ekosystemów na naszej planecie. Jednocześnie przedstawiciele tej domeny obejmują najszerszy zakres adaptacji ekologicznych; są psychrofilami i hipertermofilami, tolerują największe rozpiętości pH i stężenia soli, korzystają ze wszystkich typów substratów zarówno organicznych, jak i nieorganicznych. Zdolność przeżywania w najbardziej ekstremalnych warunkach na Ziemi zawdzięczają m.in. unikalnej budowie powierzchniowych struktur komórkowych i lipidów membranowych. Choć ostatnie 15-lecie przyniosło ogromny postęp w zakresie poznania budowy i właściwości tych struktur, to nadal wyjaśnienia wymagają ich funkcje w Archaea oraz mechanizmy wpływające na stabilność tych struktur w warunkach stresu środowiskowego, co bez wątpienia przyczyni się również do poszerzenia zakresu ich biotechnologicznych aplikacji.

PIŚMIENNICTWO

- Albers S.V., Pohlschroder M., 2009. Diversity of archaeal type IV pillin-like structures. *Extremophiles*, 13, 403–410.
- Albers S.V., Szabó Z., Driessen A.J.M., 2006. Protein secretion in the Archaea: multiple paths towards a unique cell surface. *Nat. Rev. Microbiol.*, 4, 537–548.
- Bapteste E., Brochier C., Boucher A.Y., 2005. Higher-level classification of the Archaea: evolution of methanogenesis and methanogens. *Archaea*, 1, 353–363.
- Benvegna T., Lemiegre L., Cammas-Marion S., 2008. Archaeal lipids: innovative materials for biotechnological applications. *Eur. J. Org. Chem.*, 4725–4744.
- Benvegna T., Lemiegre L., Cammas-Marion S., 2009. New generation of liposomes called archaeosomes based on natural or synthetic archaeal lipids as innovative formulations for drug delivery. *Rec. Pat. Drug Deliv. & Formul.*, 3, 206–220.
- Brochier-Armanet C., Boussau B., Gibaldo S., Forterre P., 2008. **Mesophilic Crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota.** *Nature Rev. Microbiol.*, 6(3), 245–253.
- Cavicchioli R., Thomas T., Curmi P.M.G., 2000. Cold stress response in Archaea. *Extremophiles*, 4, 321–331.
- Cavicchioli R., 2011. Archaea- timeline of the third domain. *Nature Rev. Microbiol.* 9, 51–61.
- Chintalapati S., Kiran M.D., Shivaji S., 2004. Role of membrane lipid fatty acids in cold adaptation. *Cell. Mol. Biol.*, 50(5), 631–642.
- Craig L., Li J., 2008. Type IV pili: paradoxes in form and function. *Curr. Opinion Str. Biol.*, 18(2), 267–277.
- Craig L., Pique M.E., Tainer J.A., 2004. Type IV pilus structure and bacterial pathogenity. *Nature Rev. Microbiol.*, 2(5), 363–378.
- DeLong E.F., Pace N.R., 2001. Environmental diversity of Bacteria and Archaea. *Syst. Biol.*, 50(4), 470–478.
- Deppenmeier U., 2002. The unique biochemistry of methanogenesis. *Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 71, 224–275.
- Doolittle W.F., Logsdon M.J., 1998. Archaeal genomics: Do archaea have a mixed heritage? *Curr. Biol.*, 8(6), 9–11.
- Elkins J.G., Podar M., Graham D.E., 2008. A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. *PNAS* 105(23), 8102–8107.
- Ellen A.E., Zolghadr B., Driessen A.M.J., Albers S.V., 2010. Shaping the archaeal cell envelope. *Archaea*, 10, 1155–1168.
- Engelhardt H., 2007. Are S-layers exoskeletons? The basic function of protein surface layers revisited. *J. Str. Biol.*, 160, 115–124.
- Falb M., Kerstin Muller K., Konigsmair L., Oberwinkler T., Horn P., von Gronau S., Gonzalez O., Pfeiffer F., Bornberg-Bauer E., Oesterhelt D., 2008. Metabolism of halophilic archaea. *Extremophiles*, 12, 177–196.
- Fröls S., Ajon M., Wagner M., Teichmann D., Zolghadr B., Folea M., Boekema E.J., Dreissen A.J., Schleper C., Albers S.V., 2008. UV-inducible cellular aggregation of the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* is mediated by pili formation. *Mol. Microbiol.*, 70, 938–952.
- Garcia J.L., Patel B.K.C., Ollivier B., 2000. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic Archaea, *Anaerobe* 6, 205–226.
- Golyshina O.V., Timmis K.N., 2005. Ferroplasma and relatives, recently discovered cell wall-lacking archaea making a living in wxtremely acid, heavy metal-rich environments. *Environ. Microbiol.*, 7(9), 1277–1288.
- Gonzalez O., Gronau S., Pfeiffer F., Mendoza E., Zimmer R., Oesterhelt D., 2009. Systems analysis of bioenergetics and growth of the extreme halophile *Halobacterium salinarum*. *Comput. Biol.*, 5(4), 1–12.

- Gribaldo S., Brochier-Armanet C., 2006. The origin and evolution of Archaea: a state of the art. *Phil. Trans. R. Soc.*, 361, 1007–1022.
- Huber H., Hohn M.J., Rachel R., Fuchs T., Wimmer V.C., Stetter K.O., 2002. A new phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. *Nature*, 417(6884), 27–28.
- Hugler M., Huber H., Stetter K.O., Fuchs G., 2003. Autotrophic CO₂ fixation pathways in Archaea (Crenarchaeota). *Archaeal Microbiol.* 179, 160–173.
- Jacquemet A., Barbeau J., Lemiegre L., Benvenne T., 2009. Archaeal tetraether bipolar lipids: structure, function and application. *Biochimie*, 91, 711–713.
- Jarrell K.F., Bayley D.P., Kostyukova A.S., 1996. The archaeal flagellum: a unique motility structure. *J. Bacteriol.*, 178(17), 5057–5064.
- Jarrel K.F., Ding Y., Nair D.B., Siu S., 2013. Surface appendages of Archaea: structure, function, genetics and assembly. *Life*, 3, 86–117.
- Jarrell K.F., Jones G.M., Nair D.B., 2010. Biosynthesis and role of N-linked glycosylation in cell surface structures of Archaea with focus on flagella and S layers. *Int. J. Microbiol.* ID 470138.
- Jarrell K.F., McBride M.J., 2008. The surprising diverse ways that prokaryotes move. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6, 285–300.
- Jin Y., Honig T., Ron I., Friedman N., Sheves M., Cahen D., 2008. Bacteriorhodopsin as an electronic medium for biomolecular electronics. *Chem. Soc. Rev.*, 37, 2422–2432.
- Kandler O., Koning H., 1998. Cell wall polymers in Archaea. *Cell. Mol. Life Sci.*, 54, 305–308.
- Kaster A.-K., Goenrich M., Seedofr H., Liesegang H., Wollherr A., Gottschalk G., Thauer R.K., 2011. More than 200 genes required for methane formation from H₂ and CO₂ and energy conservation are present in *Methanothermobacter marburgensis* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*. *Archaea*. ID 973848.
- Kates M., Kushner D.J., Matheson A.T., 1993. *The biochemistry of Archaea*. Elsevier. Amsterdam.
- Koga Y., 2012. Thermal adaptation of the archaeal and bacterial lipid membranes. *Archaea*. ID 789652.
- Koga Y., Morii H., 2005. Recent advances in structural research of ether lipids from Archaea including comparative and physiological aspects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69(11), 2019–2034.
- Koga Y., Morii H., 2007. Biosynthesis of ether-type polar lipids in Archaea and evolutionary considerations. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 71(1), 97–120.
- Konings W.N., Albers S.V., Koning S., Driessen A.J.M., 2002. Cell membrane plays a crucial role in survival of Bacteria and Archaea in extreme environments. *Ant. Leeuw.*, 81, 61–72.
- Löscher C.R., Kock A., Könneke M., LaRoche J., Bange H.W., Schmitz R.A., 2012. Production of oceanic nitrous oxide by ammonia-oxidizing archaea. *Biogeosci.*, 9, 2419–2429.
- Matsumi R., Atomi H., Driessen A.J.M., van der Oost J., 2011. Isoprenoid biosynthesis in Archaea. Biochemical and evolutionary implications. *Res. Microbiol.*, 162, 39–52.
- Moissl C., Rachel R., Briegel A., Engelhardt H., Huber R., 2005. The unique structure of archaeal “hami”, complex cell appendages with nano-grappling hooks. *Mol. Microbiol.*, 56, 361–370.
- Ng S.Y.M., Zolghadr B., Driessen A.J.M., Albersv S.V., Jarrell K.F., 2008. Cell surface structures of Archaea. *J. Bacteriol.*, 190(18), 6039–6047.
- Nickell S., Hegerl R., Baumeister W., Rachel R., 2003. *Pyrodictum canulae* enter the periplasmic space but not enter the cytoplasm, as revealed by cryo-electron tomography. *J. Str. Biol.*, 141(1), 34–42.
- Offre P., Spang A., Schleper Ch., 2013. Archaea in biogeochemical cycles. *Annu. Rev. Microbiol.* 67, 437–457.
- Pum D., Tocka-Herrera J.L., Sleyter U.B., 2013. S-layer protein self-assembly. *Intern. J. Mol. Sci.*, 14, 2484–2501.

- Rachel R., Wyschkony I., Riehl S., Huber H., 2002. The ultrastructure of *Ignococcus*: Evidence for a novel outer membrane and for intracellular vesicle budding in an archaeon. *Archaea*, 1, 9–18.
- Robertson C.E., Harris J.K., Spear J.R., Pace N.R., 2005. Phylogenetic diversity and ecology of environmental Archaea. *Curr. Opin. Microbiol.*, 8, 638–642.
- Rohlin L., Leon D.R., Kim U., Loo J.A., Ogorzalek Loo R.R., Gunsalus R.P., 2012. Identification of the major expressed S-layer and cell surface-layer-related proteins in the model methanogenic Archaea: *Methanosarcina barkeri* Fosaro and *Methanosarcina acetivorans* C2A. *Archaea*. ID 873589.
- Sara M., Sleytr U.B., 2000. S-layer proteins. *J. Bacteriol.*, 182(4), 859–868.
- Schleper Ch., Nicol G.W., 2010. Ammonia-oxidising Archaea – physiology, ecology and evolution. *Adv. Microb. Physiol.*, 57, 1–41.
- Schouten S., Hopmans E.C., Damste J.S.S., 2013. The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: a review. *Org. Geochem.*, 54, 19–61.
- Serrano J.A., Camacho M., Bonete M.J., 1998. Operation of glyoxylate cycle in halophilic archaea: presence of malate synthase and isocitrate lyase in *Haloferax volcanii*. *FEBS Letters*, 434, 13–16.
- Shiu P.-J., Ju Y.-H., Chen H.-M., Lee Ch.-K., 2013. Facile isolation of purple membrane from *Halobacterium salinarum* via aqueous-two-phase system. *Protein Expr. Purif.*, 89, 219–224.
- Sleytr U.B., Sara M., 1997. Bacterial and archaeal S-layer proteins: structure-function relationships and their biotechnological applications. *Trends in Biotechnol.*, 15, 20–26.
- Steenbakkers P.J.M., Geerts W.J., Ayman-Oz N.A., Keltjens J.T., 2006. Identification of pseudomurein cell wall binding domains. *Mol. Microbiol.*, 62(6), 1618–1630.
- Szabo Z., Groeneveld M., Zolghadr B., Schelert J., Albers S.V., Blum P., Boekema E.J., Driessen A.J., 2007. Flagellar motility and structure in the hyperthermoacidophilic archaeon *Supfolobus solfataricus*. *J. Bacteriol.*, 189, 4305–4309.
- Trivedi S., Choudhary O.P., Gharu J., 2011. Different proposed application of bacteriorhodopsin. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences.*, 5, 35–40.
- Ulrich N.P., Gmajner D., Raspor P., 2009. Structural and physicochemical properties of polar lipids from thermophilic archaea. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 84, 249–260.
- van de Vossenberg J.L.C.M., Driessen A.J.M., Konings W.N., 1998. The essence of being extremophilic: the role of the unique archaeal membrane lipids. *Extremophiles*, 2, 163–170.
- van de Vossenberg J.L.C.M., Driessen A.J.M., Grant W.D., Konings W.N., 1999. Lipid membranes from halophilic and alkali-halophilic Archaea have a low H⁺ and Na⁺ permeability at high salt concentration. *Extremophiles*, 3, 253–257.
- Visweswaran G.R.R., Dijkstra B.W., Kok J., 2010. Two major archaeal pseudomurein endoisopeptidases: PeiW and PeiP. *Archaea*. ID 480492.
- Wang Y.A., Yu X., Ng S.Y.M., Jarrell K.F., Egelman E.H., 2008. The structure of an archaeal pilus. *J. Mol. Biol.*, 381(2), 456–466.
- Wirth R., Bellack A., Bertl M., Bilek Y., Heimerl T., Herzog B., Leisner M., Probst A., Rachel R., Sarbu C., Schopf S., Wanner G., 2011. The mode of cell growth in selected Archaea is similar to the general mode of cell wall growth in bacteria as revealed by fluorescent dye analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(5), 1556–1562.
- Woese C.R., Fox G., 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *PNAS*. 74(11), 5088–5090.
- Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L., 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *PNAS*, 87(12), 4576–4579.
- Yang Y., Levick D.T., Just C.K., 2007. Halophilic, thermophilic, and psychrophilic Archaea: Cellular and molecular adaptations and potential applications. *JYI*, 17(4).
- Zhang L.M., Offre R., He J.Z., Verhamme D.T., Nicol G.W., Prosser J.I., 2010. Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea. *PNAS*, 107(40), 17240–17245.

UNUSUAL FEATURES OF ARCHAEOAL CELL STRUCTURES AND METABOLISM

Abstract. Archaea are very complex and thus an extremely interesting group of micro-organisms, both in terms of their abilities to colonize different environments, including extreme conditions, as well as due to the specific structure of cellular components. In recent years, a large development of knowledge about those organisms was observed, what results in the appearance of a huge pool of more or less detailed publications. However, Polish literature lacks the reviews wider endearing structure and physiology of those organisms. The present work complements that gap by discussing selected elements of Archaea cells of unique structure or functions, such as the S layer, the cell wall, cytoplasmic membrane and a variety of cellular appendages. In addition, some of the remarkable aspects of the archaeobacteria metabolism were brought up.

Key words: Archaea, surface structures, cell membrane, metanogenesis

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 30.03.2014

Do cytowania – For citation: Wojtatowicz M., Żarowska B., Połomska X., Milewska M., 2014. Osobliwe cechy budowy i metabolizmu archebakterii. *Acta Sci. Pol. Biotechnol.*, 13 (1), 21–40.

