**Водородиспользующие метаногенные археи в микробных сообществах многолетнемерзлых отложений**

Цель работы состояла в исследовании распространения и разнообразия водородиспользующих метаноархей в микробных сообществах Арктики, изучение физиологических особенностей и адаптационного потенциала метаногенных автотрофных культур, выделенных из вечной мерзлоты.

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить культивируемое разнообразие прокариот в образцах ММО о. Западный Шпицберген;

- исследовать фенотипическую, хемотаксономическую и молекулярно-генетическую характеристику новых водородиспользующего метаногена, выделенного из ММО о. Западный Шпицберген;  
- секвенировать, аннотировать и проанализировать геномы двух штаммов водородутилизирующих метаногенов, выделенных из ММО Арктики ранее;

- исследование геномных механизмов адаптации исследуемых метаногеновк условиям вечной мерзлоты.

- изучить некультивируемое разнообразие водородиспользующих метаногенных архей в постоянно холодных местах обитания, в том числе в вечной мерзлоте Арктики, с использованием доступных баз данных и данных метагеномов образцов ММО различного возраста и происхождения.

ВЫВОДЫ:

1. Изучено культивируемое разнообразие анаэробных и аэробных прокариот в образцах многолетнемёрзлых отложений о. Западный Шпицберген. Численность аэробных органотрофов колебалась в широких пределах, от 1,61×102 до 7,0×104 КОЕ/г при температуре 7-8oC и от 3,29×101 до 4,62×104 при 20oC, и была наибольшей в пробах 1 и 6 (2,89×104 и 7,00×104 КОЕ/г, соответственно). Анаэробные микроорганизмы присутствовали в количестве от 3,0×101 до 2,2×104 кл/г. Полученные данные о численности и распределении микроорганизмов в вечной мерзлоте и активном слое согласуются с данными предыдущих исследований.
2. В процессе работы было выделено 60 штаммов аэробных психрофильных и психротолерантных бактерий. При использовании методов секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и МАЛДИ МС анализа были идентифицированы до рода 27 штаммов аэробных бактерий. Среди полученных изолятов обнаружены представители *Actinobacteria* (58%), *Proteobacteria* (23%) и *Firmicutes* (19%), некоторые из них филогенетически близки к ранее выделенным из ледников и пород о. Западный Шпицберген. Впервые в исследованных образцах ММО были обнаружены метаногенные археи и бактерии, образующие ацетат из Н2 и СО2.
3. Выделен и описан новый штамм метанообразующих архей, названный нами VTT. По результатам филогенетического анализа штамм был отнесён к роду *Methanobacterium* с ближайшим типовым видом *M. lacus* 17A1T.
4. Показано, что новый штамм обладает рядом существенных физиологических отличий от типовых штаммов ближайших видов. Оптимальными условиями для роста являлись температура 20oC, pH 6,6, солёность 0,03-0,05 M. Единственным используемым субстратом для него являлась газовая смесь H2/CO2.
5. Был секвенирован, собран и проанализирован геном нового штамма. Анализ показал, что различия между ним и геномами ближайших валидированных видов существенны. На основании фенотипических, хемотаксономических и молекулярно-генетических данных выделенный нами метаноген был описан как представитель нового вида метанообразующих архей, для которого предложено название ‘*Methanobacterium shpitsbergensis*’ sp. nov. с типовым штаммом VTT(=VKM B-3566T=JCM 39284T).
6. Были секвенированы, аннотированы и проанализированы геномы двух штаммов водородутилизирующих метаногенов M2 и MK4T, выделенных ранее из ММО Арктики. Биоинформационный анализ геномных последовательностей показал, что штаммы, несмотря на фенотипические отличия, являются представителями одного вида. Это свидетельствует о том, что временной отрезок в 3 млн лет не может быть достаточным для изменения генотипа метаногенных архей, генерирующих метан из водорода и СО2.
7. Исследованы геномные механизмы адаптации метанообразующих архей рода *Methanobacterium* к холодным условиям и условиям вечной мерзлоты. Показано, что при переходе к более холодным условиям имеет место замещение кодонов на GC-бедные при кодировании лейцина, изолейцина, тирозина, аланина, серина. У более холодолюбивых штаммов кодируется больше изолейцина, лизина и аспарагина, присутствует общая тенденция к уменьшению количества закодированного глутамина, валина, лейцина и серина. В ходе анализа выявлена обратная взаимосвязь между оптимальной температурой культивирования и размером генома у близкородственных штаммов, что подтверждает отмеченные другими исследователями закономерности.
8. Проведён анализ встречаемости групп генов по различным базам данных у арктических штаммов. У арктических *Methanobacterium* наблюдается увеличение количества генов, связанных с механизмами проведения сигнала, транспортом и метаболизмом неорганических ионов и транспортом и метаболизмом липидов, и уменьшается количество генов, связанных с биогенезом клеточной стенки, транспортом и метаболизмом углеводов и контролем клеточного цикла.
9. Общие для арктических метаноархей гены, не встречающиеся у их ближайших родственников, составляют чрезвычайно малую часть: 8 ортологов при стандартных параметрах поиска. Данный результат может говорить о том, что адаптации представителей *Methanobacterium* к обитанию в вечной мерзлоте на уровне генов индивидуальны. Присутствуют ортологичные флавин-редуктазы, нитроредуктазы и цистеин-гидролазы, заимствованные у разных групп бактерий, а также редко встречающиеся у *Methanobacterium* варианты SAM-зависимой метилтрансферазы I, вероятной каротиноид-1,2-гидратазы и 2 неизвестных белка.