

УДК 577.24

ЭКСПАНСИЯ «НАТРИЕВОГО МИРА» СКВОЗЬ ЭВОЛЮЦИОННОЕ ВРЕМЯ И ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПРОСТРАНСТВО

Обзор

© 2020 М.И. Козлова^{1,2}, И.М. Бушмакин³, Ю.Д. Беляева³, Д.Н. Шалаева¹,
Д.В. Диброва², Д.А. Черепанов⁴, А.Я. Мулкиджанян^{1,2,3*}

¹ Оснабрюкский университет, физический факультет, 49069 Оснабрюк, Германия; электронная почта: amulkid@uos.de

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва, Россия

⁴ Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 01.09.2020

После доработки 27.09.2020

Принята к публикации 27.09.2020

В 1986 г. Владимир Скулачев и его коллеги назвали «Натриевым миром» сообщество организмов, обладающих натрий (Na)-зависимой биоэнергетикой. Хотя к тому времени было обнаружено лишь несколько таких организмов, авторы пронципально отметили, что «большое таксономическое разнообразие организмов, использующих Na-цикл, указывает на повсеместное распространение этого нового типа мембрано-связанного преобразования энергии». Мы применили инструменты биоинформатики, чтобы проследить за расширением «Натриевого мира» в эволюционном времени и таксономическом пространстве. Так, в геномах прокариот были идентифицированы те семейства мембранных белков, которые коррелируют с использованием Na-потенциала для синтеза АТФ. Помимо известных переносчиков Na, было обнаружено множество не охарактеризованных семейств белков; большинство из них негомологичны изученным белкам. Кроме того, элементы натрий-зависимой энергетики были обнаружены у многих новых клад архей и бактерий, недавно идентифицированных методами метагеномики. Полученные данные свидетельствуют в пользу эволюционной первичности натрий-зависимой энергетики и ее преобладания в течение первых двух миллиардов лет истории Земли вплоть до насыщения атмосферы кислородом. Таким образом, полный потенциал натрий-зависимой энергетики для прокариот остается в значительной степени не оцененным. «Натриевый мир» расширился за счет обретения новых функций Na-переносящими системами. В частности, большинство классов рецепторов, ассоциированных с G-белком (GPCR), являющихся мишенью почти половины всех известных лекарств, по-видимому, произошли от Na⁺-переносящих микробных родопсинов. При этом GPCR класса А с 700 представителями в геноме человека сохранили Na⁺-связывающий сайт своими 7-ю трансмембранными спиралями вместе со способностью к транслокации Na⁺. Математическое моделирование показало, что GPCR класса А, по-видимому, используют энергию трансмембранного Na-потенциала для увеличения как своей чувствительности, так и селективности. Таким образом, GPCR, самое большое из представленных в геноме человека белковых семейств, происходит из «Натриевого мира», что говорит о необходимости изучения и других Na-зависимых ферментов эукариот.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биоэнергетика, переносчик натрия, натрий-калиевый гомеостаз, ретиналь-связывающие белки, GPCR, агонист, сравнительная геномика, антибиотики, исследования лекарственных средств.

DOI: 10.31857/S0320972520120052

Мы посвящаем эту статью профессору Владимиру Павловичу Скулачеву по случаю его 85-летия и в знак признания открытия им «Натриевого мира».

ВВЕДЕНИЕ

Владимир Скулачев и его коллеги первыми ввели термин «Натриевый мир» в 1986 г. [1]. К

этому времени наличие протон-зависимой биоэнергетики в митохондриях и хлоропластах эукариотических клеток, а также у многих прокариот было твердо установлено; вклад Скулачева

Принятые сокращения: КОГ – кластер ортологических групп белков; CPR – candidate phyla radiation; GPCR – сопряжённый с G-белком рецептор; GTDB – база данных геномной таксономии; HMM – скрытая марковская модель; LUSA – последний универсальный клеточный предок; MR – микробный родопсин; NaR – Na⁺-переносящий родопсин; NQR – Na⁺-транслоцирующая НАДН-хинон оксидоредуктаза; PMF (proton-motive force) – протон-движущая сила; ФРЦ – фотохимический реакционный центр; RNF – Na⁺-транслоцирующая ферредоксин: НАД(Н) оксидоредуктаза; SMF (sodium-motive force) – Na⁺-движущая сила.

* Адресат для корреспонденции.

и его коллег в это достижение трудно переоценить [2–6]. Было показано, что отдельные мембранные комплексы могут использовать различные источники свободной энергии, такие как окислительно-восстановительный потенциал или свет, для переноса протонов (H^+) через энерго-преобразующие мембраны митохондрий, хлоропластов и прокариот против градиента концентрации. Благодаря активности таких первичных протонных помп энергия временно сохраняется в виде трансмембранной разности электрохимических потенциалов протона (далее протонный потенциал). Также экспериментально было установлено, что возникающая протон-движущая сила (PMF) может быть использована для выполнения работы. В частности, протонный потенциал может обеспечивать синтез АТФ, вращение бактериальных жгутиков и перенос отрицательно заряженных метаболитов в клетку [6, 7].

Однако в 1980 г. Peter Dimroth et al. впервые показали, что мембранный белковый комплекс может функционировать как первичная натриевая помпа [8]. Эти авторы обнаружили, что декарбоксилирование оксалоацетата одним из мембрано-связанных комплексов *Klebsiella aerogenes* приводило к генерации трансмембранной разницы электрохимических потенциалов ионов натрия (далее Na^+ -потенциал). Два года спустя Tokuda и Unemoto продемонстрировали генерацию Na^+ -потенциала за счет переноса электронов в дыхательной цепи от НАДН к хинону у *Vibrio alginolyticus* [9]. Вскоре после этого Скулачев и его коллеги продемонстрировали, что Na^+ -потенциал может вращать жгутики у того же организма [10, 11]. Одновременно были получены доказательства синтеза АТФ за счет Na^+ -потенциала у *Enterococcus hirae* [12]. На основе этих отдельных наблюдений Скулачев и его коллеги предположили существование Na^+ -цикла как отдельного типа мембранной биоэнергетики; в таком цикле Na^+ -помпы генерируют Na^+ -потенциал, и результирующая натрий-движущая сила (SMF) используется для выполнения работы (рис. 1) и [1, 6, 11, 13–15].

Кроме того, Скулачев и его коллеги заметили, что организмы с Na^+ -переносящими мембранными комплексами рассеяны по древу жизни, реконструированном на основании последовательностей 16S рРНК. Основываясь на этом, они заключили, что «*большое таксономическое разнообразие организмов, использующих Na^+ -цикл, указывает на повсеместное распространение этого нового типа мембранно-связанного преобразования энергии. Если это так, то *V. alginolyticus* – это не «уникум», а скорее весточка из*

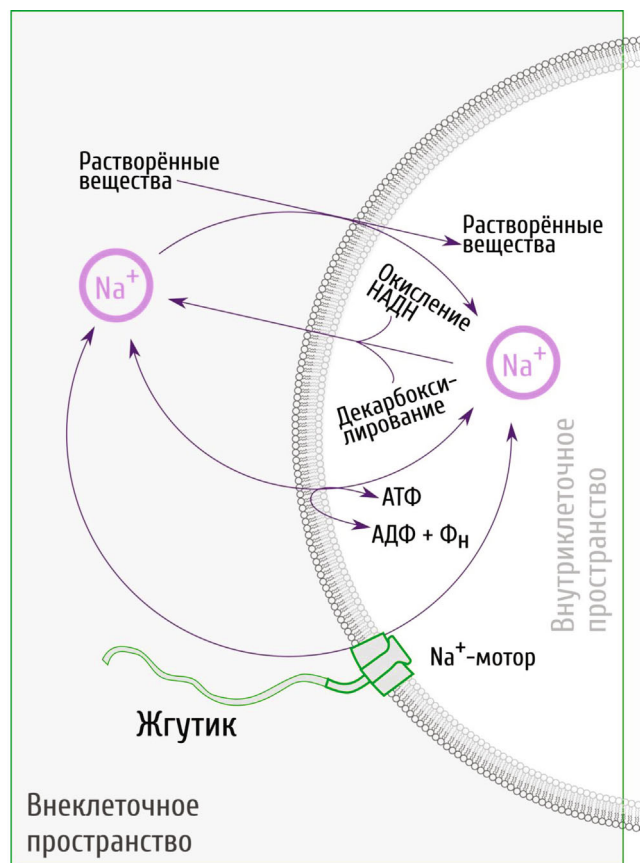


Рис. 1. Исходный Na^+ -цикл, предложенный Скулачевым [13]. Na^+ -потенциал, образующийся за счет окисления НАДН и/или декарбоксилирования некоторых субстратов, используется в качестве движущей силы для синтеза АТФ, накопления некоторых растворимых веществ и вращения жгутика. (С цветными вариантами рис. 1–9 и таблицы можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>)

пока неизвестного, но, возможно, обширного натриевого мира» (цитата из [1]).

Удивительно, как такой всеохватывающий и абсолютно точный вывод удалось сделать на основании столь скудных данных.

В данном обзоре (в продолжение наших предыдущих статей по теме [16–22]) мы рассматриваем свежие данные о Na^+ -переносящих клеточных системах и пытаемся оценить истинные размеры натриевого мира. Мы утверждаем, что мембранная биоэнергетика – не самое важное, хотя и наиболее бросающееся в глаза производное древней системы поддержания Na^+/K^+ -баланса на клеточной мембране. Эта система дала начало не только собственно мембранной биоэнергетике, но и множеству переносчиков Na^+ , связанной с G-белками рецепции у эукариот, а также механизму передачи нервного импульса.

НАСЛЕДИЕ «НАТРИЕВОГО МИРА»

Изначально Na^+ -зависимую биоэнергетику рассматривали как способ адаптации некоторых прокариотических организмов к экстремальным условиям, таким как высокий рН [13, 14] и / или высокие температуры [23]. Однако, с одной стороны, было показано, что многие алкалофильные и термофильные организмы используют протон-зависимую биоэнергетику [24]. С другой стороны, анализ первых секвенированных прокариотических геномов показал, что Na^+ -зависимая биоэнергетика используется многими мезофильными патогенными микроорганизмами [25]. В свете этих данных, роль Na^+ -зависимой биоэнергетики заслуживала дальнейшего изучения.

Эту роль удалось прояснить, сочетав филогеномный и структурный анализ роторных АТФ-синтаз/АТФаз (рис. 2, *a*). Функция этих мембранных комплексов состоит в сопряжении переноса ионов через мембрану с синтезом или гидролизом АТФ. Эти ферментные комплексы являются «динамо-машинами», в которых последовательные химические реакции в торчащем в цитоплазму каталитическом гексамере сочетаются со ступенчатым вращением центральной ножки вместе с кольцом встроенных в мембрану т.н. протеолипидных субъединиц (количество которых варьируется от 8 до 17, в зависимости от организма [26, 27]).

Вращение кольца протеолипидных субъединиц связано с переносом протонов или ионов Na^+ через мембрану. Когда фермент функционирует как АТФ-синтаза, перенос ионов вызывает вращение кольца и прикрепленной к нему центральной ножки. Последовательное взаимодействие элементов вращающейся ножки с тремя каталитическими центрами приводит к образованию молекул АТФ в этих центрах. Если комплекс действует как АТФаза, гидролиз АТФ вызывает вращение центральной ножки и перенос ионов.

Роторные АТФазы присутствуют во всех свободноживущих организмах и с уверенностью приписываются последнему универсальному клеточному предку [Last Universal Cellular Ancestor (LUCA)] [16, 32]. После разделения дерева жизни на бактериальную и архейную/эукариотическую ветви, из предковой роторной АТФазы LUCA образовались хорошо различимые бактериальные, архейные и эукариотические версии комплекса, названные АТФазами F-типа, A-типа и V-типа соответственно (рис. 2, *a*). Хотя большинство известных роторных АТФ-синтаз/АТФаз переносят протоны, Na^+ -транслоцирующие АТФазы об-

наруживаются среди АТФ-синтаз как F-типа, так и A-типа [17, 33].

Как видно на рис. 2, *a*, погруженные в мембрану кольца состоят из небольших ион-связывающих субъединиц. Бактериальные АТФазы F-типа, в основном, имеют небольшие субъединицы, образованные шпилькой из двух трансмембранных α -спиралей (рис. 2). У архей и эукариот ион-связывающие субъединицы вследствие геновой дубликации обычно состоят из двух шпилек и четырех трансмембранных спиралей (рис. 2). Кристаллические структуры Na^+ -переносящих протеолипидных колец показали, что ионы Na^+ связываются в середине мембраны набором специфических остатков (рис. 2, *b*, *c*) [30, 31]. Na^+ -связывающие остатки гомологичны у АТФаз F- и A-типов [17]. Потеря любого из этих остатков приводит к потере способности связывания Na^+ ; способность к переносу протонов обычно сохраняется; протоны не требуют полного набора координирующих остатков и могут связываться даже единственной карбоксильной группой [33].

Поскольку АТФ-синтаза – единственный фермент, способный синтезировать АТФ за счет мембранного потенциала, ионная специфичность роторной АТФ-синтазы обычно определяет природу биоэнергетического цикла в организме [17, 18]. Организмы, которые обладают как Na^+ , так и H^+ -транслоцирующими АТФазами, составляют исключения, и их следует анализировать отдельно в каждом конкретном случае (см. далее).

Na^+ -переносящие АТФазы с наборами одинаковых Na^+ -связывающих остатков были обнаружены в разных бактериальных и архейных ветвях филогенетического дерева. Множественное появление сходных сайтов связывания Na^+ в различных линиях H^+ -переносящих АТФ-синтаз является весьма маловероятным; поэтому было высказано предположение, что общий предковый белок LUCA имел сайт связывания Na^+ [17–19]. В пользу эволюционной первичности Na^+ -переносящих АТФаз свидетельствуют различия в паттернах потери Na^+ -лигандов в различных линиях. Как показано на рис. 2, *d*, протонные АТФ-синтазы различных групп прокариот характеризуются своими специфическими паттернами сохранившихся лигандов Na^+ . Например, большинство цианобактерий утратили только один такой лиганд, тогда как *Vibrio cholerae* (γ -протеобактерия) утратила все лиганды, кроме одного (рис. 2, *d*). Таким образом, сравнительный анализ структур и последовательностей свидетельствует о том, что LUCA обладал Na^+ -связывающей АТФазой с кольцом протеолипидных субъеди-

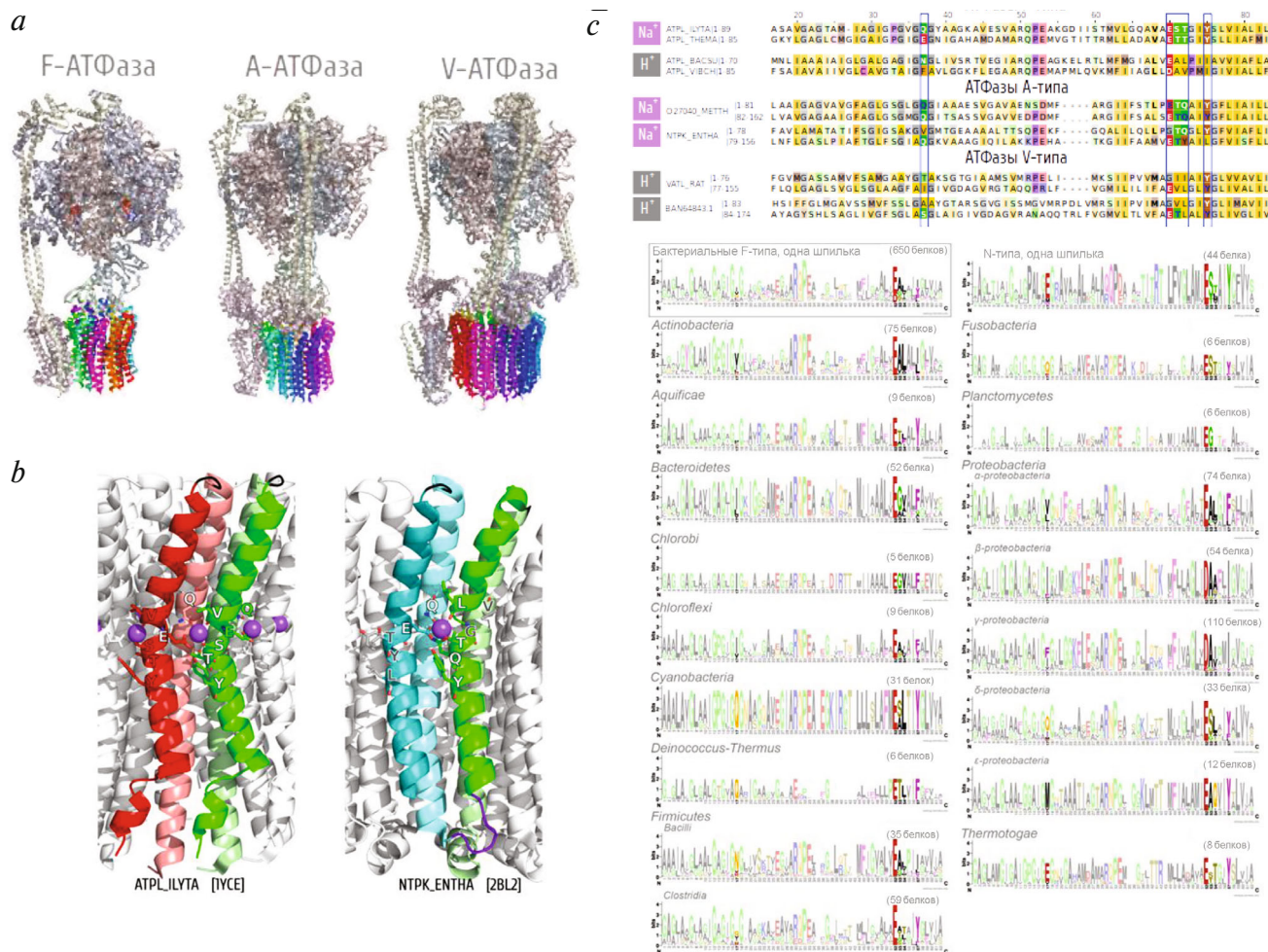


Рис. 2. Роторные АТФ-синтазы и детерминанты связывания ионов в их протеолипидных субъединицах. *а* – Субъединичная организация роторных АТФаз F-, A- и V-типа; кольца протеолипидных субъединиц выделены цветами радуги. Изображены следующие АТФазы: АТФаза F-типа из *E. coli*, PDB ID 6OQW [28], АТФаза A-типа из *Thermus thermophilus*, PDB ID 6QUM [29], АТФаза V-типа из мозга крысы, PDB ID 6VQ6 ([168]); *б* – пространственное расположение сайтов связывания Na⁺. Левая панель – координация иона Na⁺ в АТФазе F-типа из *Ilyobacter tartaricus*, PDB ID 1YCE [30]. Две соседние протеолипидные субъединицы показаны красным и зеленым. Каждая протеолипидная субъединица представляет собой шпильку из двух α-спиралей. Остатки, координирующие ион Na⁺ (сиреневый шар), отмечены белым цветом. В типичной Na⁺-специфичной АТФазе F-типа шесть остатков участвуют в координации иона Na⁺, сайт связывания формируется на стыке между двумя соседними субъединицами. Во время как первая субъединица обеспечивает остаток глутамата или глутамина из своей первой спирали и кислотный остаток из своей второй спирали, вторая субъединица предоставляет оставшиеся лиганды Na⁺ из своей второй альфа-спирали. Остатки, координирующие соседние ионы Na⁺, отмечены, соответственно, красным и зеленым. Правая панель – координация иона Na⁺ в АТФазе A-типа из *Enterococcus hirae*, PDB ID 2BL2 [31]. В V-АТФазах и большинстве A-АТФаз две копии гена протеолипидной субъединицы шиты вместе, и сайт связывания катиона образуется между двумя шпильками одной и той же субъединицы (но не между соседними спиралями разных субъединиц). Первая шпилька четырехспиральной протеолипидной субъединицы показана голубым, а вторая – зеленым. Остатки, координирующие ион Na⁺, помечены белым цветом, окрашенные в серый цвет, утратили свою роль в координации Na⁺ из-за дубликации; *с* – катион-связывающие остатки в аминокислотных последовательностях протеолипидных субъединиц Na⁺ и H⁺- специфичных АТФаз. Остатки, координирующие ион Na⁺ своими радикалами, показаны белым жирным шрифтом. Остатки, которые координируют ион Na⁺ атомами кислорода выделены черным жирным шрифтом. В типичной Na⁺-переносящей АТФазе F-типа (*Ilyobacter tartaricus*, ATPL_ILYTA или *Thermotoga maritima*, ATPL_THEMA) в координации Na⁺ участвуют 6 остатков. Потеря любого из лигандов превращает протеолипидное кольцо из Na⁺-переносящего в H⁺-переносящее. В протеолипидной субъединице *Vibrio cholerae* (ATPL_VIBCH) остался лишь один кислотный ионный лиганд. В V-АТФазах и большинстве A-АТФаз, где две копии гена обычно шиты вместе (см. протеолипидную субъединицу из *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, O27040_METTH), остатки, участвующие в связывании Na⁺ перед дубликацией и экспонированные на стыке соседних субъединиц (показаны синим жирным шрифтом), могут подвергаться замене без потери способности к переносу ионов Na⁺; *д* – паттерны ион-координирующих аминокислотных остатков в основных таксономических группах бактерий, взятых из репрезентативного набора из 711 полных геномов прокариот [70]. Лого-диаграмма для консервативных участков двухспиральных протеолипидных субъединиц были построены с помощью сервиса WebLogo (<https://weblogo.berkeley.edu/>) [167]. Аминокислотные остатки окрашены в соответствии с их химическими свойствами. Остатки, связывающие Na⁺, показаны полностью непрозрачными. Лого для всех одинарных бактериальных протеолипидных субъединиц показано вверху первого столбца. Лого для АТФаз N-типа показано в верхней части второго столбца

ниц, представляющих собой одиночные шпильки [17, 19].

Первичность натриевой биоэнергетики, вытекающая из сравнительного структурного и филогеномного анализа роторных АТФаз, объясняется давней идеей Скулачева, что более высокая проницаемость мембран для протонов может приводить к ситуации, «в которой клетке легче удерживать натриевый, а не протонный градиент» (цитата из [6]). Действительно, экспериментально измеренный активационный барьер для прохождения сквозь мембрану одновалентных катионов, таких как Na^+ , значительно выше (~100 кДж/моль), чем аналогичный барьер для протонов (~50 кДж/моль); современные мембраны в 10^4 – 10^8 раз более проницаемы для протонов, чем для других одновалентных катионов [23, 34–36]. Протоны, в отличие от других одновалентных катионов, могут протекать сквозь мембрану, перемещаясь по образующимся на непродолжительное время коротким трансмембранным цепочкам молекул воды, поддерживаемым полярными атомами липидов и мембранных белков [36]. Следовательно, переход от мембран, малопроницаемых для ионов Na^+ , к мембранам, способным удерживать протонный градиент, должен был потребовать нескольких адаптаций, специально направленных на минимизацию утечки протонов (рис. 3). Одной из таких адаптаций было появление двухвостых липидов, снижающих вероятность образования водной цепи за счет увеличения плотности неполярных гидрофобных групп в середине бислоя [36–38]. Вторая адаптация заключалась в появлении липидов с четырьмя хвостами, таких как кардиолипиды у бактерий и в митохондриях эукариот [37, 39, 40], а также архейных кардиолипидов, таких как *sn*-2,3-ди-*O*-фитанил-1-фосфоглицерин-3-фосфо-*sn*-ди-*O*-фитанилглицерин *Halobacterium salinarum* [41]. Эти липиды имеют коническую форму (рис. 3), благодаря чему довольно специфическим образом влияют на проницаемость мембраны для протонов. Молекулы кардиолипина увеличивают проницаемость липосом, не содержащих белков, видимо, дестабилизируя липидный бислой [39], но делают энергопреобразующие, плотно упакованные белками мембраны менее проницаемыми для протонов [40]. Это противоречие снимается предположением, что конические липиды с четырьмя хвостами, комплементарные гиперболической форме мембранных белков, минимизируют утечку протонов вдоль границ раздела белок–липид и белок–белок (рис. 3, *d*) и [36, 42].

Липиды бактерий и архей принципиально различаются по структуре [43]. В то время как

бактериальные липиды образованы жирными кислотами, соединенными с глицерол-3-фосфатом сложноэфирными связями (рис. 3, *a*, слева), архейные мембранные липиды включают хвосты из разветвленных изопреноидов, образующих простой эфир с другим энантиомером, глицерол-1-фосфатом (рис. 3, *a*, справа). Эукариоты приобрели липиды бактериального типа на ранней стадии своей эволюции посредством горизонтального переноса генов от неких примитивных бактерий. Сходным образом конусообразные липиды с четырьмя хвостами химически различны и, по-видимому, возникли независимо у бактерий и архей (рис. 3, *d*). Бактериальный кардиолипид был приобретен эукариотами позже вместе с бактериальными эндосимбионтами, которые стали митохондриями. Независимое усовершенствование протононепроницаемых мембран у бактерий и архей согласуется с точкой зрения, что мембраны LUCA не были непроницаемыми для протонов и, скорее всего, были построены из изопреноидных липидов с одним хвостом [38]. Следовательно, LUCA мог, в лучшем случае, полагаться лишь на натриевую биоэнергетику [38].

Никаких специфичных для эукариот липидов с четырьмя хвостами пока не обнаружено; и, за исключением богатых кардиолипином митохондриальных мембран, мембраны эукариот весьма проницаемы для протонов, как уже было отмечено Skulachev [6]. Тем не менее мембраны эукариот уникальны своим высоким содержанием холестерина (рис. 3, *c*), который составляет до половины всех мембранных липидов по молярному соотношению [44]. У эукариот холестерин часто связан с мембранными белками [45]; однако неясно, уменьшает ли он протонную проницаемость белок-содержащих мембран. Холестерин образуется путем окисления изопреноидов; его можно рассматривать как производное «однохвостых» изопреноидных липидов, которые, вероятно, были у LUCA [38].

Само появление натриевой биоэнергетики представляет собой пример парадокса курица–яйцо. В самом деле, АТФ-синтаза, переносящая Na^+ , полезна только в присутствии SMF, достаточно большой для синтеза АТФ. В то же время большая SMF, генерируемая натриевыми помпами в отсутствие АТФ-синтазы, была бы бесполезна. В рамках парадигмы Na^+ -биоэнергетики АТФ-синтаза не может производить АТФ без Na^+ -помп, тогда как Na^+ -помпы кажутся бесполезными без АТФ-синтаз.

Вышеизложенный парадокс находит решение в более широком контексте, где первоначальная функция натриевых помп связана не с синтезом АТФ, а с поддержанием клеточного

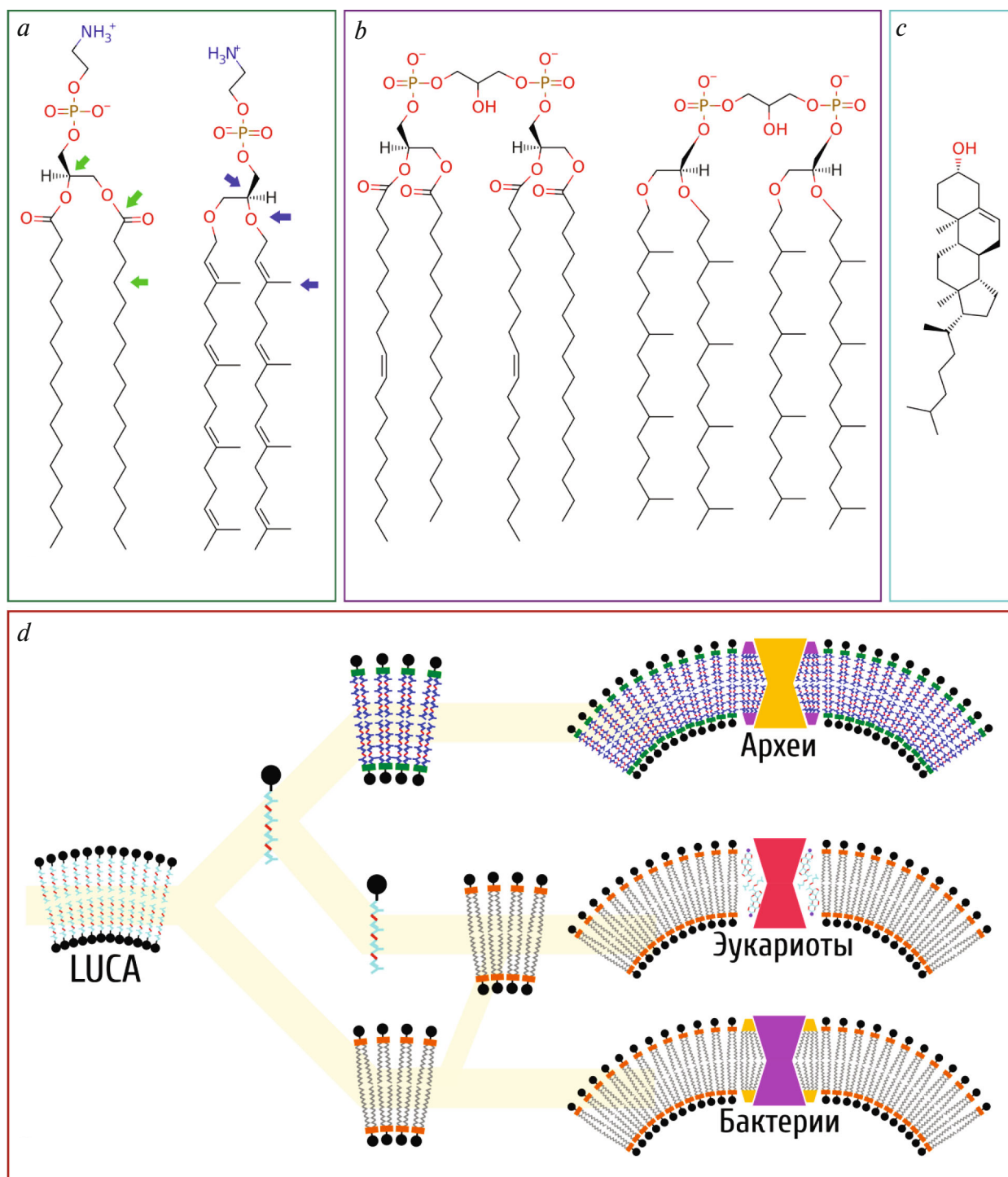


Рис. 3. Химическая структура мембранных липидов и их эволюция в трех доменах жизни. *a* – «Двуххвостые» фосфолипиды бактерий/эукариот (слева, фосфатидилэтанолламин) и архей (справа, дифитанилглицериновый аналог фосфатидилэтанолламина). Различия в химической организации указаны стрелками; *b* – «четырёххвостые» липиды бактерий (слева, кардиолипин) и архей (справа, *sn*-2,3-ди-*O*-фитанил-1-фосфоглицерол-3-фосфо-*sn*-ди-*O*-фитанилглицерол); *c* – холестерин, характерный липид эукариотических мембран; *d* – возможный эволюционный сценарий эволюции мембранных липидов согласно [38]. Предполагается, что мембраны LUCA были построены из одноцепочечных липидов на пренильной основе. Липиды на основе жирных кислот с двумя хвостами, изобретенные предками бактерий, обеспечили иононепроницаемость мембран. Конические молекулы кардиолипина предотвращают утечку протонов вдоль границы белок/липид. В случае мембран архей, состоящих из двуххвостых изопреноидных липидов, утечка протонов дополнительно предотвращается четыреххвостым изопреноидным аналогом кардиолипина. Предки эукариот приобрели аппарат для биосинтеза липидов с двумя хвостами за счет латерального переноса генов от древних бактерий, сохраняя при этом одноцепочечные пренильные липиды, превратившиеся в холестерин

ионного гомеостаза [19, 21, 22, 38]. Цитоплазма клетки содержит необходимые неорганические ионы в концентрациях, резко отличных от ионного состава любой естественной среды обитания. В частности, все активные клетки содержат примерно в десять раз больше ионов K^+ , чем ионов Na^+ , приблизительно 10 мМ фосфата, высокие уровни Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} . Ни соотношение $[K^+]/[Na^+] \gg 1,0$, ни высокие уровни фосфатов или переходных металлов не присущи средам обитания на современной Земле [46]. Как впервые предположил Макаллум почти сто лет назад, цитоплазматические концентрации неорганических ионов могут отражать химию той среды, где могли появиться самые первые клетки с их еще высокопроницаемыми для малых молекул и ионов. [47]. Возможные места обитания первых клеток, вероятно, имевшие отношение к континентальным районам вулканической и геотермальной активности (геотермальным полям), не служат предметом данного обзора и рассматриваются подробно в [21, 22, 48, 49].

Внутриклеточное соотношение $[K^+]/[Na^+] \gg 1,0$ особенно важно, так как является предпосылкой для нормального функционирования нескольких ключевых клеточных систем, включая синтез белка – трансляцию [21, 22, 50, 51]. Система трансляции является эволюционно древней. Две трети универсальных генов, которые приписываются LUCA, кодируют белки и РНК, участвующие в трансляции [52]. Ионы калия служат кофакторами в каталитических центрах рибосомы, а именно в пептидилтрансферазном центре и в центре декодирования; кроме того, $[K^+]/[Na^+] \gg 1,0$ является условием общей стабильности рибосомы [21, 53, 54] и цитируемые там ссылки.

Как правило, в сайтах связывания катионов более мелкие ионы Na^+ могут связываться прочнее чем ионы K^+ , но не могут функционально заменять последние в качестве кофакторов [55]. Следовательно, клетке требуется не только определенное количество ионов K^+ , но и преобладание ионов K^+ над ионами Na^+ ($[K^+]/[Na^+] \gg 1,0$). В частности, при $[K^+]/[Na^+] < 1,0$ синтез белка прекращается [50]. Соответственно, любая попытка первых клеток покинуть свою среду обитания и вторгнуться в другие среды – например, в пресноводные озера (с $[K^+]/[Na^+] \sim 0,3$ и низкими уровнями других незаменимых неорганических ионов) или в море (с $[K^+]/[Na^+] \sim 0,02$) требовала мембранных помп для откачки ионов Na^+ . Действительно, внутренняя среда клетки заряжена отрицательно относительно внешней среды из-за кумулятивного отрицательного заряда молекул РНК и ДНК, так что ионы K^+ и Na^+ электрофоретичес-

ки проникают в клетку (причем более крупные ионы K^+ проникают быстрее). Следовательно, свободноживущие клетки могли поддерживать $[K^+]/[Na^+] \gg 1,0$ просто путем специфического выброса ионов Na^+ из клеток (как они и делают до сих пор).

Клетки, имеющие несколько Na^+ -помп, приводимых в действие различными источниками энергии, получали бы преимущество, заключающееся в меньшей зависимости от окружающей среды. Беспристрастный взгляд на множество генераторов SMF в типичном организме с натриевой энергетикой (см. правую половину рис. 4) обнаруживает, что они, по сути, являются отдельными Na^+ -экспортирующими помпами, способными работать порознь, используя различные источники энергии. Более того, даже роторная АТФ-синтаза полностью обратима и может вращаться в обоих направлениях и работать как ионная помпа, движимая гидролизом АТФ. В свете данных о наличии сайта связывания Na^+ у роторных АТФаз первых клеток, эта белковая машина вполне могла служить АТФ-движимой помпой для выброса Na^+ [19, 22].

В общем, «Натриевый мир», по-видимому, возник во времена LUCA или даже раньше, когда первые клетки пытались вторгнуться в соленые воды с $[Na^+] > [K^+]$. LUCA мог иметь либо только несколько помп для экспорта Na^+ (предположительные Na^+ -транслокаторы LUCA выделены красными прямоугольниками на рис. 4), включая экспортирующую Na^+ -роторную АТФазу, либо уже обладать примитивным Na^+ -циклом (рис. 1) с его Na^+ -переносящей роторной АТФ синтазой, вращающейся в обратном направлении и синтезирующей АТФ. Второму сценарию должны были бы способствовать более высокая соленость и более непроницаемые мембраны.

МАСШТАБЫ «НАТРИЕВОГО МИРА» У ПРОКАРИОТ

Как было отмечено ранее [18], натрий-зависимая энергетика в основном используется анаэробными прокариотами, поскольку она обеспечивает определенные преимущества в бескислородных условиях.

Во-первых, выбор между ионами Na^+ и H^+ в качестве основы энергетики зависит от баланса между (а) количеством свободной энергии, которая может быть «добыта» и храниться в виде PMF или SMF соответственно, и (б) интенсивностью утечки ионов через сопрягающую мембрану. Как уже упоминалось выше, утечка на

«Протонный мир»

«Натриевый мир»

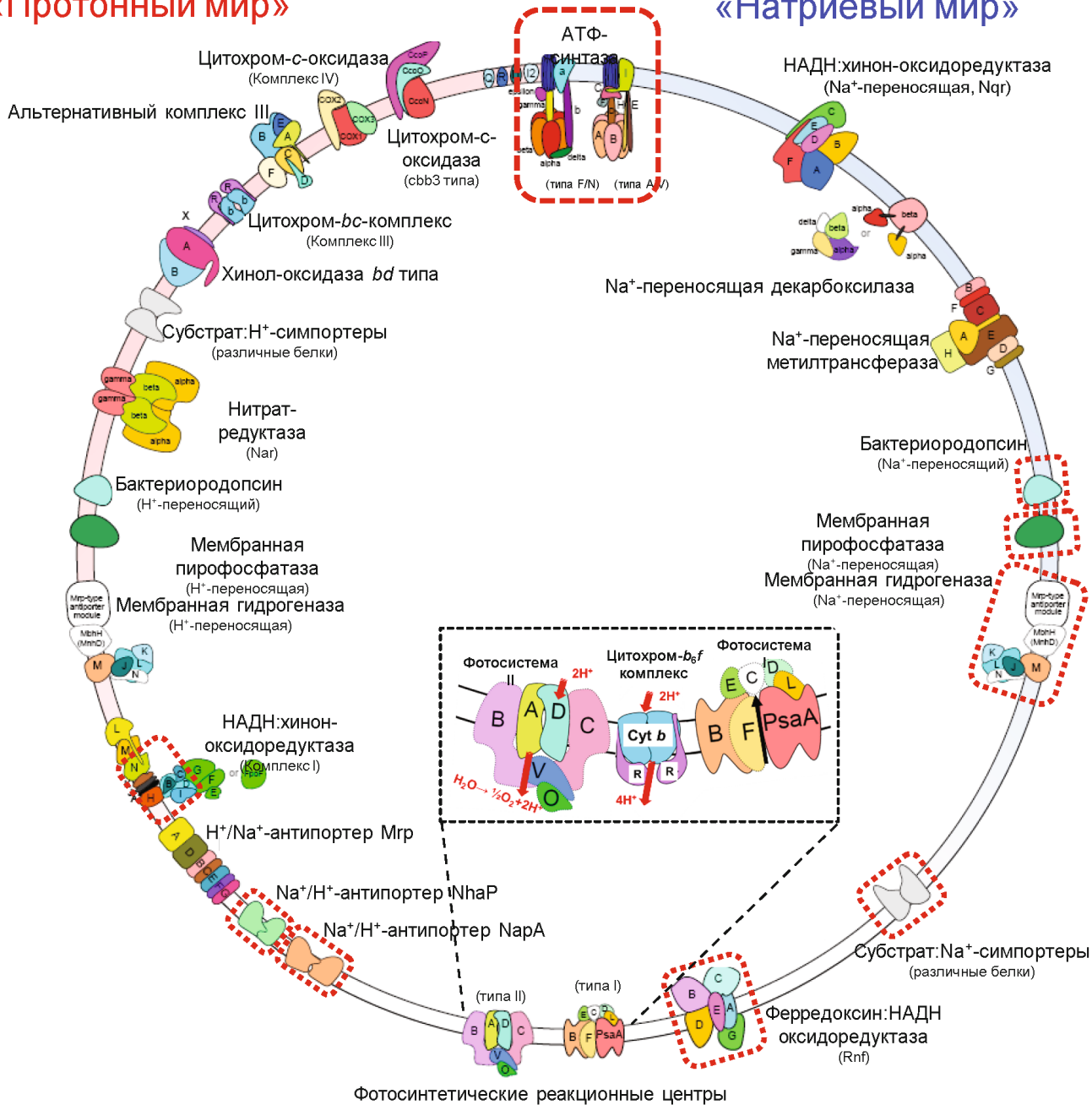


Рис. 4. Мембранные энергопреобразующие белковые комплексы, способные к транслокации Na^+ и H^+ . Слева показаны основные известные белковые комплексы протон-зависимой биоэнергетики; справа – мембранные комплексы натрий-зависимой биоэнергетики. Комплексы схематично изображены в соответствии с их структурой (при наличии последней). Показаны только основные субъединицы. Повсеместно распространенные роторные АТФазы, имевшиеся у LUCA, обведены крупным красным пунктиром. Другие белковые комплексы, которые только предположительно могли иметься у LUCA (см. основной текст), обведены пунктирными красными контурами. В случае НАДН-хинон оксидоредуктазы красный контур окружает только те части ферментного комплекса, которые могли присутствовать у LUCA [82]. Врезка: схематическое изображение реакций в фотосистеме I, фотосистеме II и цитохром- b_6f -комплексе. Красные стрелки – стадии электрогенного переноса протона, черные стрелки – стадии электрогенного переноса электрона. Более подробную информацию об электрогенных реакциях в цепи фотосинтетического переноса электрона можно найти в [56–59]

много порядков выше для протонов чем для ионов Na^+ [23, 34–36]. У дышащих организмов с протон-зависимой энергетикой их изрядная утечка протонов, по-видимому, компенсируется

PMF, производимой протон-переносящими редокс-помпами, такими как цитохром- bc -комплекс и различные H^+ -транслоцирующие оксидазы, показанные на рис. 4 [18]. Однако для ра-

боты таких генераторов PMF требуются окислители, которых мало в бескислородных условиях. Как отмечалось ранее [18, 22], в бескислородных, сильно восстановительных условиях, протон-зависимая энергетика не дает преимуществ в получении свободной энергии посредством дыхания, но оказывается неэкономичной из-за высокой утечки протонов.

Во-вторых, многие анаэробные организмы живут за счет ферментации (брожения). Конечными продуктами брожения являются органические кислоты, такие как, например, уксусная, молочная или масляная. С одной стороны, их накопление внутри клетки нежелательно; они подавляют брожение как его продукт(ы). С другой стороны, отрицательно заряженные кислоты не могут покинуть клетку сами по себе из-за гидрофобного мембранного барьера. Поэтому образующиеся в качестве конечных продуктов кислоты обычно симпортируются из клеток вместе с положительно заряженными катионами, как правило, ионами Na^+ или протонами, что приводит к генерации SMF или PMF соответственно [35, 60, 61]. В этом довольно уникальном случае клетка генерирует ион-движущую силу, потенциально пригодную для синтеза АТФ, всего лишь выбрасывая мусор. Уровень генерируемой SMF или PMF зависит от заряда выбрасываемого аниона; например, с каждой молекулой дикарбоновой кислоты может быть выброшено до двух катионов. Однако количество запасенной энергии не зависит от того, симпортируются ли протоны или же ионы Na^+ . Использование ионов Na^+ для удаления от продуктов брожения даёт дополнительное преимущество в виде уменьшения концентрации Na^+ внутри клетки. Благодаря этому преимуществу Na^+ -симпортеры, судя по всему, более распространены в природе, чем протонные симпортеры.

По этим причинам многие анаэробы и в наши дни предпочитают полагаться на SMF для синтеза АТФ. В этом случае они выгадывают за счет низкой Na^+ -утечки, генерируют SMF, избавляясь от мусора, и могут использовать не имеющие протонных аналогов генераторы SMF, такие как Na^+ -зависимые декарбоксилазы [64, 65], Na^+ -зависимые НАДН:хинон оксидоредуктазы (NQR) [66, 67] или Na^+ -зависимые ферредоксин:НАД(Н) оксидоредуктазы (RNF) [68].

Предковые Na^+ -симпортирующие системы могли присутствовать уже у LUCA; где они, генерируя SMF, могли способствовать переходу от роторной Na^+ -выбрасывающей АТФазы к Na^+ -зависимой АТФ-синтазе. В самом деле, свободная энергия, необходимая для синтеза АТФ, составляет ~50 кДж/моль [6, 7]. В случае

субстратного фосфорилирования используется энергия, выделяющаяся при разрыве сравнимо прочных ковалентных связей в молекулах субстрата. В роторной же АТФ-синтазе свободная энергия для синтеза АТФ постепенно накапливается в виде упругой деформации после последовательных переносов нескольких ионов под действием мембранного потенциала [62]. Транслокация каждого иона может быть движима реакциями, дающими кванты энергии намного меньше 50 кДж/моль (например, окислительно-восстановительными реакциями). Кроме того, мембранный потенциал генерируется «бесплатно» в случае экспорта продуктов ферментации совместно с протонами или ионами Na^+ . На таких условиях реверс Na^+ -переноса роторной АТФазы мог оказаться весьма выгодным. Клетка «теряла» одну из своих многочисленных помп для выброса Na^+ , но получала машину, которая может набирать небольшие кванты энергии, аккумулировать их и использовать для синтеза АТФ [22, 63].

Для выявления всего спектра белков, связанных с генерацией и использованием SMF, мы в прокариотических геномах произвели поиск генов тех мембранных белков, наличие которых коррелирует с натрий-зависимой биоэнергетикой. Мы применили корреляционный анализ к курируемой вручную базе кластеров ортологичных групп белков (КОГ) [69, 70]. В этой базе данных каждый КОГ содержит гены, кодирующие белки, выполняющие одну и ту же функцию в разных организмах. Na^+ -зависимую мембранную биоэнергетику мы определяли по наличию Na^+ -переносающей АТФазы как *единственной* роторной АТФазы в геноме. База данных КОГ содержит 711 геномов прокариот и 4631 КОГа. После исключения организмов, имеющих и натриевую, и протонную АТФазы в своих геномах, наша выборка состояла из 606 организмов. Поскольку нас интересовали только интегральные мембранные белки, КОГи немембранных белков (КОГи с менее чем 10% белков, содержащих 2 или более трансмембранных спирали, по предсказанию ТМНММ [71]) были удалены из набора данных. Очень распространенные КОГи (присутствующие в более чем 60% геномов) также были исключены.

В окончательном наборе данных осталось только 710 КОГов. Полученная матрица присутствия КОГов в геномах была использована для поиска корреляций между присутствием определенного КОГа и использованием Na^+ в качестве единственного сопрягающего иона. Корреляция Дайса была выбрана в качестве метода нахождения коэффициентов корреляции [72]. КОГи с коэффициентами корреляции $>0,167$

рассматривали далее; для них вероятность случайной корреляции была $<0,05$. Всего 91 КОГ показали коэффициенты корреляции $>0,167$; 50 из них представлены в таблице.

Таблица ожидаемо содержит белки натрий-зависимой биоэнергетики, такие как мембранные субъединицы Na^+ -переносящих бактериальных декарбоксилаз (отмечены синим), архейную тетрагидрометанооптерин S-метилтрансферазу – натриевую помпу, участвующую в метаногенезе [73] (субъединицы отмечены серым) и RNF [68] (отмечена зеленым). Таблица не содержит тех Na^+ -переносящих белков, которые принадлежат к тому же КОГу, что и их протонные аналоги (таких как протон и Na^+ -переносящие пирофосфатазы, COG3808 [74, 75]). NQR, часто присутствующая и у организмов с протон-зависимой энергетикой [25], не попала в топ-50 таблицы, но находится в конце полного списка, содержащего 91 КОГ (не показано).

Различные оттенки желтого маркируют мембранные субъединицы представителей «NDH1-подобных комплексов», обширного суперсемейства крупных ферментных комплексов, центральные субъединицы которых сходны с центральными субъединицами митохондриальной НАДН-убихинон оксидоредуктазы (комплекса I дыхательной цепи) [76]. Большинство этих комплексов, по-видимому, сопрягают реакции переноса электронов между компонентами с низкими редокс потенциалами (например, между НАДН, и/или водородом, и/или ферредоксином) с перемещением протонов или ионов Na^+ через мембрану [77–83]. Хотя большинство таких комплексов состоят из цитоплазматического, окислительно-восстановительного модуля и встроенного в мембрану ион-переносящего модуля, это (супер)семейство также включает комплексы, не имеющие цитоплазматических модулей; это большие мультисубъединичные Na^+/H^+ антипортеры Mrp/Mnh/Pha (рис. 4 и [80, 84–86]). Строение и функции многих прокариотических NDH-1-подобных комплексов, а также природа перемещаемых ими ионов остаются неясными. Наибольшую корреляцию с натриевой энергетикой мы обнаружили у неохарактеризованного мембранного белка, родственного субъединице B Na^+/H^+ антипортера Mrp /Mnh/Pha (COG1563, оранжевый цвет). В недавно опубликованной структуре такого антипортера из *Anoxybacillus flavithermus* субъединица MnhB(MrpB) является частью Na^+ -переносящего модуля [87]. Вероятно, белки COG1563 также участвуют в транслокации Na^+ в тех, еще загадочных мембранных системах, в которых они находятся. Желтым цветом в таблице отмечены субъединицы мембрано-связан-

ной энергопреобразующей гидрогеназы A (Eha). Несмотря на то, что этот комплекс был открыт 20 лет назад [88], Eha с её 20 различными субъединицами остается загадкой. Косвенные данные указывают на её способность переносить ионы натрия [89]. Присутствие многочисленных мембранных субъединиц Eha в верхней части таблицы согласуется с этим предположением.

Таким образом, ключевые ферменты натриевой энергетикой коррелируют со способностью их хозяев синтезировать АТФ за счет SMF. Однако эти ферменты составляют лишь небольшую часть таблицы. Большинство хитов в этой таблице – это КОГи, которые содержат неохарактеризованные белки. Мы использовали веб-сервер COGcollator (<https://depo.msu.ru/module/KOGcollator>) [90] для поиска КОГов, родственных этим еще неохарактеризованным семействам белков. Только некоторые из этих неохарактеризованных КОГов обнаружили сходство с различными семействами мембранных пермеаз (таблица). Для большинства неохарактеризованных КОГов не удалось найти родственные семейства белков. Не исключено, что и какие-то из неохарактеризованных мембранных белков в таблице катализируют симпорт (или антипорт) ионов Na^+ с различными субстратами.

Данные в таблице показывают, что известные ферменты «Натриевого мира» представляют собой только верхушку айсберга; гораздо больше Na^+ -зависимых ферментов все еще ждут своих исследователей.

«НОВОСЕЛЫ» «НАТРИЕВОГО МИРА»

С недавним появлением независимых от культивирования методов исследования ранее неизученного микробного разнообразия в образцах окружающей среды и микробиотах было описано много новых групп архей и бактерий [91–93]. Новые геномные данные привели к существенному пересмотру Древа жизни, на котором появилось несколько новых клад (рис. 5). Чтобы исследовать распространенность Na^+ -специфичных АТФаз среди этих новооткрытых групп, мы выбрали набор бактериальных и архейных геномов из базы данных геномной таксономии (GTDB, r.0.89), которая обеспечивает присвоение таксономии до уровня вида для каждой сборки микробного генома достаточного качества из тех, что доступны в геномной базе данных генома NCBI [94]. Чтобы отфильтровать доступные геномы по качеству сборки, мы использовали оценки загрязнения и полноты сборок, основанные на встречаемости маркерных генов, которые ожидаются в количестве од-

Кластеры ортологических групп белков, коррелирующие с натрий-зависимой биоэнергетикой у прокариот

Номер КОГ	Название КОГ	Коэффициент корреляции	Родственные КОГ (поиск с помощью COGcollator)
COG1563	неохарактеризованный мембранный белок, родственник MnhB	0,46729	COG2111, мультисубъединичный Na ⁺ /H ⁺ -антипортер, субъединица MnhB
COG4945	углевод-связывающий домен DOMON	0,36585	COG1449, альфа-амилаза/альфа-маннозидаза, семейство GH57; COG0336, гликозидаза
COG2426	неохарактеризованный мембранный белок	0,34694	не найдено
COG1906	неохарактеризованный белок	0,34667	COG2610, симпортер H ⁺ /глюконата или родственная пермеаза
COG4769	неохарактеризованный мембранный белок	0,33663	не найдено
COG1822	неохарактеризованный мембранный белок	0,33333	не найдено
COG4720	неохарактеризованный мембранный белок	0,33333	не найдено
COG1852	неохарактеризованный белок	0,31481	слабый результат, COG0142, геранилгеранил-пирофосфатсинтаза
COG2456	неохарактеризованный белок	0,30769	не найдено
COG1883	Na ⁺ -транспортирующая метилмалонил-КоА/оксалоацетатдекарбоксилаза, бета-субъединица	0,30345	не найдено
COG4708	неохарактеризованный мембранный белок	0,29167	не найдено
COG1750	предсказываемая сериновая протеаза архей, семейство S18	0,28889	COG0466, АТФ-зависимая протеаза Lon бактериального типа; COG1067, предсказанная АТФ-зависимая протеаза
COG4035	неохарактеризованный мембранный белок	0,28571	не найдено
COG4042	энергопреобразующая гидрогеназа Eha, субъединица А	0,28571	не найдено
COG1784	транспортер семейства Tct, субъединица А	0,28283	COG3333, транспортер семейства Tct, субъединица А
COG2034	неохарактеризованный мембранный белок	0,28205	не найдено
COG4039	энергопреобразующая гидрогеназа Eha, субъединица С	0,27586	не найдено
COG4038	энергопревращающая гидрогеназа Eha, субъединица Е	0,27586	не найдено
COG4907	неохарактеризованный мембранный белок	0,27586	не найдено
COG4040	неохарактеризованный мембранный белок	0,27586	не найдено
COG4037	энергопреобразующая гидрогеназа Eha, субъединица F	0,27119	не найдено
COG4036	энергопревращающая гидрогеназа Eha, субъединица G	0,27119	не найдено
COG4041	энергопреобразующая гидрогеназа Eha, субъединица В	0,27119	не найдено
COG4078	энергопреобразующая гидрогеназа Eha, субъединица H	0,27119	COG0651, субъединица 3 формиат гидрогенилазы/мультисубъединичный Na ⁺ /N ⁺ -антипортер, субъединица MnhD
COG0650	формиат гидрогенилаза, субъединица 4	0,25352	COG1005, субъединица 1 NADH: убинон оксидоредуктазы (цепь H)
COG4059	тетрагидрометанооптерин S-метилтрансфераза, субъединица E	0,25352	не найдено
COG4060	тетрагидрометанооптерин S-метилтрансфераза, субъединица D	0,25352	не найдено

Окончание таблицы

Номер КОГ	Название КОГ	Коэффициент корреляции	Родственные КОГ (поиск с помощью COGcollator)
COG2245	неохарактеризованный мембранный белок	0,25352	не найдено
COG4061	тетрагидрометанооптерин S-метилтрансфераза, субъединица C	0,25	не найдено
COG0170	долихол киназа	0,24444	COG4589, предполагаемая ЦДФ-диглицерид синтетаза/фосфатидатцитидилитрансфераза
COG1456	гамма-субъединица СО дегидрогеназы/ацетил-КоА-синтазы (корриноидный белок с Fe-S кластером)	0,24242	COG0294, дигидроптероатсинтаза; COG1410, метионинсинтаза I, кобаламин-связывающий домен
COG1800	предполагаемая транслугтаминазоподобная протеаза	0,24138	не найдено
COG3872	неохарактеризованный консервативный белок YqhQ	0,23881	не найдено
COG1284	неохарактеризованный заякоренный в мембране белок YitT, содержит домены DUF161 и DUF2179	0,23789	не найдено
COG4743	неохарактеризованный мембранный белок	0,23762	не найдено
COG1916	белок отключения феромона TraB, содержит мотив GTxH (функция неизвестна)	0,23704	не найдено
COG5306	неохарактеризованный белок	0,23684	слабый результат, COG0811, белок транспорта биополимеров ExbB/TolQ
COG2035	неохарактеризованный мембранный белок	0,23669	не найдено
COG1967	неохарактеризованный мембранный белок	0,23656	не найдено
COG1340	неохарактеризованный белок спиральной спирали, содержит домен DUF342	0,23602	COG2770, домен HAMP
COG3641	неохарактеризованный мембранный белок (не регулирует экспрессию перфринголизина O)	0,23529	не найдено
COG1422	неохарактеризованный мембранный белок архей, семейство DUF106, отдаленно родственный YidC/Oxa1	0,23423	не найдено
COG4026	неохарактеризованный белок, содержит домен TOPRIM, потенциальную нуклеазу	0,23333	не найдено
COG4658	Na ⁺ -транслоцирующая ферредоксин: НАД ⁺ оксидоредуктаза RNF, субъединица RnfD	0,23232	COG1805, Na ⁺ -транспортирующая NADH: убинон оксидоредуктаза, субъединица NqrB
COG2461	неохарактеризованный консервативный белок, домен DUF438, может содержать домен гемеритрина	0,22727	COG3945, гемеритриноподобный домен; COG2846, белок репарации железо-серных кластеров YifE, семейство RIC, содержит домены ScdAN и гемеритрина
COG3889	предсказываемая периплазматический белок	0,21951	COG0747, транспортная система типа ABC, периплазматический компонент; COG4166, транспортная система олигопептидов ABC-типа, периплазматический компонент
COG4660	Na ⁺ -транслоцирующая ферредоксин: НАД ⁺ оксидоредуктаза RNF, субъединица RnfE	0,21839	COG2209, Na ⁺ -транспортирующая NADH: убинон оксидоредуктаза, субъединица NqrE, COG1347, Na ⁺ -транспортирующая NADH: убинон оксидоредуктаза, субъединица NqrD
COG4657	Na ⁺ -транслоцирующая ферредоксин: НАД ⁺ оксидоредуктаза RNF, субъединица RnfA	0,21839	COG2209, Na ⁺ -транспортирующая NADH: убинон оксидоредуктаза, субъединица NqrE, COG1347, Na ⁺ -транспортирующая NADH: убинон оксидоредуктаза, субъединица NqrD
COG4025	неохарактеризованный мембранный белок	0,21818	не найдено

ной субъединицы из *Ilyobacter tartaricus* (Uniprot: ATPL_ILYTA, см. рис. 2, *b*). В качестве возможных лигандов иона Na^+ мы рассматривали остатки E, Q и D в середине первой спирали протеолипидной шпильки и мотив [D, E] [S, T] [S, T, Q, Y, N]xx [Y] в середине её второй спирали (рис. 2, *b–d*). Мультидоменные протеолипидные субъединицы, с, по крайней мере, двумя лигандами в каждой шпильке были проверены вручную для выявления случаев образования сайтов связывания Na^+ не между соседними мономерами протеолипидного кольца, а между двумя/несколькими сшитыми протеолипидными субъединицами, аналогично тому, что происходит у *E. hirae* (см. рис. 2, *b, c*).

На рис. 5 клады, которые содержат предполагаемые Na^+ -специфичные протеолипидные субъединицы, помечены на расширенном Древе жизни [92]. Предполагаемые Na^+ -специфичные протеолипидные субъединицы были обнаружены в таких недавно описанных группах, как Cloacimonetes, Omnitrophota, Acetothermia, Riflebacteria, Desantisbacteria. Особенно интересно присутствие Na^+ -переносящих АТФаз у представителей бактериальной группы Patescibacteria, также известной как Candidate Phyla Radiation (CPR), которые, по-видимому, составляют значительную долю в общем бактериальном разнообразии и представляют собой организмы с небольшими, минималистичными геномами, низким метаболическим потенциалом и отсутствием некоторых генов, считающихся универсальными. Симбиотический образ жизни был предложен в качестве объяснения как этой упрощенной организации, так и трудностей культивирования [93, 97]. Однако недавнее исследование предполагает свободный образ жизни и отсутствие у предков Patescibacteria дыхательной цепи, что предполагает зависимость от ферментативного метаболизма [98]. Na^+ -зависимые АТФазы обнаруживаются у Dependitiae, которые, как предполагается, также живут за счет брожения [98]. Учитывая вышеописанные преимущества Na^+ -энергетики для ферментирующих организмов, способность переносить ионы Na^+ у роторных АТФаз Patescibacteria является еще одним указанием на корреляцию между древним, примитивным энергетическим метаболизмом и Na^+ -зависимой биоэнергетикой.

ФОТОСИНТЕЗ И «НАТРИЕВЫЙ МИР»

Около тридцати лет назад Skulachev et al. основываясь на своих исследованиях цианобактерии *Oscillatoria brevis*, выдвинули идею преобра-

зования энергии света в SMF [99]. Были рассмотрены несколько возможностей, а именно: 1) Na^+ -переносящая фотосинтетическая окислительно-восстановительная цепь, непосредственно использующая световую энергию; 2) Na^+ -переносящая дыхательная цепь, использующая восстановительные эквиваленты, образующиеся в фоторедокс-цепи; 3) Na^+ -переносящая АТФаза, гидролизующая фотосинтетически продуцируемый АТФ. Ниже эти три возможных механизма рассматриваются в свете новых данных.

Генерация SMF фоторедокс-цепями маловероятна. При хлорофильном фотосинтезе фоторедокс-реакции идут в фотохимических реакционных центрах (ФРЦ) I и II типов (см. врезку на рис. 4). Зеленые растения и цианобактерии обладают как фотосистемой I, так и фотосистемой II. В некоторых прокариотических филах обнаруживаются ФРЦ типа I, родственных фотосистеме I, тогда как другие филы имеют ФРЦ типа II, родственные фотосистеме II [100, 101]. В обоих типах ФРЦ поглощение кванта света приводит к разделению электрических зарядов, трансмембранному переносу электронов и генерации трансмембранного электрического потенциала. Электронная вакансия (дырка), которая образуется на периплазматической стороне мембраны, в конечном итоге компенсируется высвобождением протона в периплазматическое пространство, тогда как появление электрона на противоположной, цитоплазматической стороне мембраны приводит к связыванию протона; такие перемещения протонов отслеживаются экспериментально [57, 102–104]. В некоторых случаях это чисто электростатические явления с участием трудно идентифицируемых ионизируемых групп. В других случаях перемещения протонов прямо обусловлены химией световых реакций в ФРЦ. Например, в фотосистеме II и других ФРЦ типа II каждые два разделения заряда приводят к восстановлению молекулы хинона до хинола, что сопровождается связыванием двух протонов из цитоплазмы. В той же фотосистеме II накопление четырех электронных дырок в конечном итоге приводит к расщеплению двух молекул воды и выбросу четырех протонов в просвет тилакоида. У большинства фотосинтезирующих организмов ФРЦ обычно функционально связаны с цитохром-*bc*-комплексом [105], который использует перепад редокс-потенциалов при фотосинтезе для перекачки протонов через мембрану по так называемому механизму Q-цикла, см. врезку на рис. 4 и [59, 106]. Следовательно, фоторедокс-цепи «химически» предназначены быть генераторами протонного потенциала и вряд ли способны ге-

нерировать SMF в соответствии с механизмом (1), который был предложен Скулачевым с коллегами [99].

Пример механизма (2), в котором Na^+ -переносная дыхательная цепь использует восстановительные эквиваленты, продуцируемые фоторедокс-цепью, был недавно описан Bertsova et al. в *Chlorobium phaeovibrioides*, зеленой серной бактерии с ФРЦ типа I [107]. Освещение мембран *Chl. phaeovibrioides* приводит к фотоиндуцированному восстановлению НАД^+ с помощью RNF; эта реакция связана с генерацией SMF. По всей видимости, ФРЦ использует энергию света для восстановления ферредоксина; а окисление ферредоксина НАД^+ является движущей силой перекачки ионов Na^+ . Bertsova et al. предположили, что использование восстановительных эквивалентов, производимых фоторедокс-цепью, увеличивает эффективность сохранения световой энергии у этих микроорганизмов [107].

Около десяти лет назад мы провели скрининг геномов цианобактерий в поисках свидетельств механизма (3), а именно Na^+ -переносной АТФазы, способной гидролизовать фотосинтетически продуцируемый АТФ [20]. Из 15 доступных на то время геномов цианобактерий пять содержали гены Na^+ -связывающих протеолипидных субъединиц бактериальных роторных АТФаз. Изучение соответствующих геномов показало, что эти гены всегда образовывали мобильный оперон, кодирующий специфическую F-АТФазу бактериального типа и находящийся либо на хромосоме, либо на плазмиде. Эти опероны отличались от оперонов «классических» АТФ-синтаз порядком генов и наличием генов двух мембранных субъединиц с неизвестной функцией. Подобные опероны нашлись и в геномах других бактерий и архей, у которых всегда имелись еще и гены, кодирующие «основную» АТФ-синтазу, типичную для соответствующей прокариотической группы. Мы назвали кодируемые мобильными оперонами комплексы, имеющие несколько примитивных свойств, АТФазами N-типа (N-АТФазами) и предположили, что они могут функционировать как АТФ-зависимые помпы для экспорта Na^+ , дополняющие «основные» АТФ-синтазы. И действительно, N-АТФаза галотолерантных цианобактерий *Aphanothese halophytica*, как было впоследствии показано, переносит ионы Na^+ и повышает устойчивость к солевому стрессу у пресноводных цианобактерий *Synechococcus elongatus* PCC 7942 при введении им кодирующей N-АТФазу плазмиды [108]. Примечательно, что эта N-АТФаза, инкорпорированная в протеолипосомы, могла синтезировать АТФ за счет

искусственно созданной SMF [108]. Было показано, что структура протеолипидного кольца N-АТФазы из *Burkholderia pseudomallei* содержит 17 субъединиц, что указывает на способность синтезировать АТФ уже при низких уровнях мембранного потенциала [109].

В связи с недавним открытием нескольких нефотосинтезирующих ветвей цианобактерий [92, 110] мы произвели поиск генов Na^+ -переносных роторных АТФаз как в геномах этих недавно открытых групп, так и в классических цианобактериях. Мы использовали тот же подход, что и на рис. 5, но более внимательно изучили количество и свойства протеолипидных субъединиц в каждом геноме (см. подпись к рис. 6). Классические фотосинтезирующие цианобактерии продемонстрировали ту же тенденцию, которую мы описали десять лет назад [20]: теперь в геномах цианобактерий удалось обнаружить 64 АТФазы N-типа. Из этих N-АТФаз 53 имеют полные наборы Na^+ -лигандов (см. Приложение, дополнительный файл 1).

Недавно обнаруженные группы характеризуются большим разнообразием протеолипидных субъединиц (рис. 6 и Приложение, дополнительный файл 2). Комбинации нескольких типов различных протеолипидных субъединиц были обнаружены у нескольких представителей новых родственных цианобактерий клад Sericytochromatia и Melainabacteria, которые являются базовыми по отношению к классическим цианобактериям, а также у большинства Saganbacteria и Margulisbacteria, которые являются для цианобактерий сестринскими группами.

У Melainabacteria мы обнаружили дополнительную последовательность, кодирующую протеолипидную субъединицу предполагаемой N-АТФазы (в сборке генома GCA_001464165.1).

Единственная протон-специфичная протеолипидная субъединица со всеми Na^+ -лигандами, кроме одного, аналогичная протеолипидным субъединицам из фотосинтетических цианобактерий, является обычной ситуацией для Sericytochromatia (GCA_003503675.1 на рис. 6). К этой же группе, однако, относится геном (GCA_002783405.1), несущий три гена, кодирующих протеолипидные субъединицы, все в разных оперонах, включая натрий-специфичную субъединицу (последовательность в желтом прямоугольнике на рис. 6).

Для большинства доступных геномов Saganbacteria характерна ситуация аналогичная наблюдаемой в GCA_001771575.1 на рис. 6: два отдельных оперона, один для H^+ -специфичной АТФазы F-типа (последовательности этого типа показаны в серых прямоугольниках на рис. 6) и

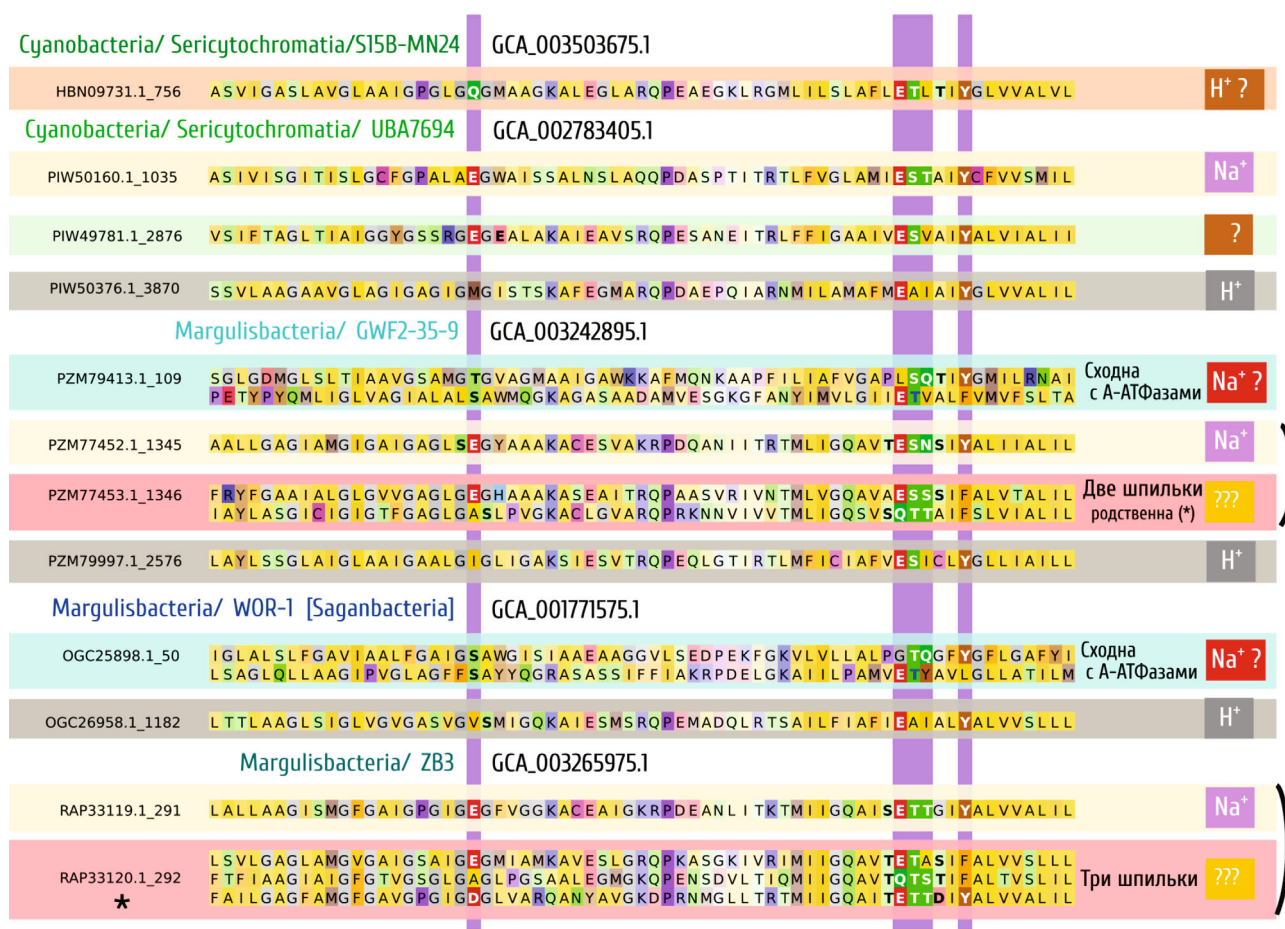


Рис. 6. Протеолипидные субъединицы в геномах нефотосинтетических клад цианобактерий и родственных групп Margulisbacteria и Saganbacteria. Гены, обнаруженные в одном опероне, объединены скобками. Таксономия взята из GTDB (<https://gtdb.ecogenomic.org/>). Рассмотрены все неаналогичные геномные сборки надлежащего качества (порог CheckM_полнота-CheckM_загрязнение*5 не менее 50, не более чем один репрезентативный геном для каждого вида), отнесенные к Melainabacteria и Sericytochromatia (классы филума Cyanobacteria в GTDB) и к сестринским группам Margulisbacteria и Saganbacteria (входящим в филум Margulisbacteria в GTDB) таким же образом, как описано в предыдущем разделе. Гены в неаннотированных сборках были предсказаны с помощью Prodigal v2.6.3 [111]

один для АТФазы А-типа с полярными остатками во всех пяти позициях, соответствующих Na⁺-лигандам (последовательности показаны в голубых прямоугольниках на рис. 6). Эти АТФазы А-типа могут иметь сродство к Na⁺, хотя это следует экспериментально проверить: лиганд Na⁺ в первой спирали первой шпильки, которым обычно является глутамат или глутамин, заменен остатком серина.

Геномы Margulisbacteria (ZB3) обычно содержат один оперон АТФазы F-типа с двумя генами, кодирующими протеолипидные субъединицы, как показано для GCA_003265975.1 на рис. 6. Примечательно, что первый экземпляр гена кодирует протеолипид с одной шпилькой и полным набором натриевых лигандов (этот тип последовательностей выделен желтым на рис. 6), тогда как второй ген соответствует ранее не описанному типу протеолипидной субъеди-

ницы из трех шпилек (последовательность в красной рамке). Этот шестиспиральный белок богат Na⁺-лигандами и даже несёт дополнительный остаток глутамата во второй спирали последней шпильки. Тем не менее, один натриевый лиганд в первой шпильке и два во второй шпильке теряются, так что ионную специфичность этой протеолипидной субъединицы желательно проверить экспериментально. Неясны детали образования сайта связывания иона для такой 3-шпильчатой протеолипидной субъединицы; также неясно, взаимодействует ли она (и как?) с образующей одну шпильку протеолипидной субъединицей из того же оперона. Если разные субъединицы могут собираться в одно кольцо, полученный в результате комплекс может быть способен переносить только ионы Na⁺, как аналогичная АТФаза *Acetobacterium woodii* [112], или обладать двойной специфич-

ностью (как для протонов, так и для ионов натрия), как АТФаза *Methanosarcina acetivorans* [113]. В небольшой ветви Margulisbacteria (GWF2-35-9) вторая копия гена протеолипидной субъединицы в опероне содержит только две шпильки; однако мы также обнаружили примеры подобных белков с неполным третьим доменом в некоторых геномах других Margulisbacteria. Эта группа, представленная одним предполагаемым видом, объединяет оба признака в одном и том же геноме, имея в общей сложности 4 типа различных генов, кодирующих протеолипидные субъединицы, в трех оперонах (рис. 6, окраска последовательностей в прямоугольниках соответствует протеолипидным субъединицам того же типа в Saganbacteria и Margulisbacteria-ZB3).

Представленные данные указывают на то, что фотосинтетические и нефотосинтезирующие цианобактерии, а также близкородственные Margulisbacteria и Saganbacteria, по-видимому, могут иметь роторные АТФазы со смешанной ионной селективностью их протеолипидных субъединиц, которые часто присутствуют в нескольких версиях в геномах. Примечательно, что множественные роторные АТФазы обнаруживаются также в геномах других прокариотических линий, но обычно как исключение, а не как правило.

Преимущество Na^+ -градиента состоит в том, что его емкость как энергетического буфера на много порядков больше, чем у протонного потенциала [6]. Еще в 1978 г. Скулачев предположил, что прокариотические клетки могут использовать трансмембранный Na^+/K^+ -градиент для хранения энергии [114]. В 1981 г. Скулачев с сотрудниками, обнаружив, что Na^+/K^+ градиент может сохраняться в темноте до девяти часов в случае галофильной археи *Halobacterium halobium* (ныне *Halobacterium salinarum*), отметили, что «сам факт того, что в некоторых случаях энергизация бактериальной мембраны сохраняется в течение 9 часов с Na^+/K^+ -градиентом в качестве единственного источника энергии, указывает на следующую стратегию галобактериальных клеток в дневное время: они запасают часть энергии в виде Na^+/K^+ -градиента, чтобы воспользоваться ей в течение ночи» (цитата из работы [115]).

Основываясь на этом предположении Скулачева, можно предположить, что описанная смешанная ионная специфичность может быть связана с фотосинтетическим образом жизни цианобактерий и, возможно, предков ныне нефотосинтезирующих групп, родственных цианобактериям. Действительно, редокс-белки, участвующие в хлорофилл-зависимом фотосинтезе, являются генераторами протонного потен-

циала, что подразумевает потребность в H^+ -переносимой АТФ-синтазе. Однако фоторедоксцепи работают только днем и отключаются ночью. Для фототрофных прокариот, особенно анаэробных, может быть выгодно полагаться на натрий-зависимую энергетику в ночное время. Как показано Skulachev et al., количество энергии, запасаемой в виде K^+/Na^+ -градиента, увеличивается с увеличением солености среды [116]. Следовательно, в течение дня морские фототрофы могут использовать энергию света для синтеза АТФ с помощью H^+ -специфичной АТФ-синтазы, накопления питательных веществ и создания большого K^+/Na^+ -градиента на своих мембранах. Вспомогательная Na^+ -переносимая АТФаза (*N*-АТФаза у цианобактерий?) может способствовать формированию этого градиента, откачивая ионы Na^+ из клетки. Ночью протонный градиент быстро рассеивается, в то время как градиент K^+/Na^+ может сохраняться в течение нескольких часов и поддерживать умеренный синтез АТФ за счет реверсии Na^+ -переносимой АТФазы. Это будет приводить к увеличению $[\text{Na}^+]$ в клетке и замедлению синтеза белка, но только временно, до рассвета. Синтез белка цианобактериями действительно замедляется ночью [117]. В более общем контексте наличие вспомогательных Na^+ -переносимых АТФ-синтаз может помогать морским фототрофным организмам выживать в условиях низкой освещенности.

Таким образом, механизм (3) с Na^+ -переносимой АТФазой, гидролизующей фотосинтетически продуцируемый АТФ, предложенный Skulachev et al. исходя из данных по *Oscillatoria brevis* [99], по-видимому, широко распространен среди цианобактерий и родственных линий. Хотя геном *O. brevis* еще не доступен, мы смогли найти 11 Na^+ -переносимых АТФаз N-типа в геномах различных *Oscillatoriaceae* (Приложение, дополнительный файл 3). Следовательно, вспомогательная Na^+ -переносимая АТФаза вполне могла присутствовать в штамме *O. brevis*, изученном Скулачевым с коллегами тридцать лет назад.

ЗЕЛЕНЫЙ СВЕТ ДЛЯ «НАТРИЕВОГО МИРА»

Первичная движимая светом Na^+ -помпа, предсказанная Скулачевым в 1990 г. [99], была в итоге обнаружена, хотя и не среди хлорофилл-содержащих белков, а среди ретиналь-содержащих микробных родопсинов. Эти мембранные белки после их открытия считали, главным образом, свето-зависимыми переносчиками протонов [118–120]. Однако недавно было показана

но, что определенные родопсины, которые присутствуют в разных бактериях и археях, служат свето-зависимыми Na^+ -помпами [121–123]. Для Na^+ -переноса родопсина (NaR) было получено несколько структур [124–126], а индуцированная светом трансмембранная транслокация ионов Na^+ была прослежена экспериментально [127]. Следовательно, механизм (1) прямого использования световой энергии для генерации SMF, предсказанный Скулачевым в работе [99], действительно реализуется природой, хотя и использует в качестве фотоактивного пигмента поглощающий зеленый свет ретиналя, а не использующий синий и красный свет хлорофилл.

Микробные родопсины (MR) чрезвычайно склонны к латеральному переносу генов [128], поэтому их эволюционное происхождение, скорее всего, останется неясным. Примечательно, однако, что NaR, в отличие от переносящих протоны родопсинов, мог быть полезен уже для организмов с примитивными мембранами, способными удерживать натриевый, но не протонный потенциал (см. рис. 3, *d*). Предки современных NaR могли служить свето-зависимыми помпами для откачки ионов Na^+ из клеток и задно, благодаря своему сильному поглощению в УФ-диапазоне [129], защищать своих хозяев от солнечного УФ-излучения, которое должно было быть сильным в бескислородной атмосфере. Раннее появление MR совместимо с гипотезой о том, что ретиноидные пигменты, поглощающие зеленый свет, обусловили «дополнительные» к ним спектры поглощения хлорофилльных пигментов, предположительно появившихся позже [130].

Хотя происхождение MR остается неясным, обнаружение NaR помогло нам прояснить эволюционные отношения между микробными родопсинами и родопсинами животных. Белки этих двух семейств образованы семью трансмембранными спиралями, связывающими остаток ретиналя [131, 132]. Общее сходство гептаспиральной организации, а также сходные роли фоторецепторов издавна приводили к дискуссиям об эволюционных отношениях между двумя типами родопсинов. Однако попытки найти между ними значимое сходство последовательностей не увенчивались успехом [131, 133–135]. В то же время хорошо известно, что родопсины животных принадлежат к классу А сопряженных с G-белками рецепторов (G protein-coupled receptors, GPCR) [136]. Эти рецепторы, которые служат мишенями для 40% известных лекарств, изменяют свою конформацию в ответ на связывание определенных сигнальных молекул (агонистов) или на поглощение кванта света (в случае родопсинов животных). Конформационное

изменение инициирует связывание $G\alpha$ -ГТФазы (G-белка) с рецептором, гидролиз ГТФ и запуск сигнального каскада.

Структурные исследования обнаружили ион Na^+ , связанный в центре рецепторов, относящихся к GPCR класса А (самый большой класс GPCR, насчитывающий почти 700 представителей в геноме человека) [137–142]. Сравнив кристаллические структуры NaR со структурами различных Na^+ -связывающих GPCR, удалось нам выявить сходство их сайтов связывания иона Na^+ . Это сходство позволило получить основанное на наложении структур выравнивание последовательностей белков этих двух (супер)семейств, которое подтвердило их эволюционное родство и раскрыло общее сходство последовательностей Na^+ -связывающих GPCR с Na^+ -транслоцирующими микробными родопсинами, такими как прокариотический NaR и эукариотический каналородопсин [143]. Отсутствие сходства последовательностей между микробными и животными родопсинами можно объяснить вторичным приобретением кофактора ретиналя родопсинами животных и различиями в способах его связывания (рис. 7).

Только один аминокислотный остаток, триптофан в середине 6-й спирали, оказался универсально консервативным между MR, активируемыми агонистами GPCR и родопсинами животных [143]. Ранее было показано, что этот остаток Trp служит «шарниром» при конформационных переходах как в MR, так и в GPCR (рис. 7). В MR этот остаток сопрягает фотоизомеризацию ретиналя со сгибом и поворотом 6-й спирали, что запускает транслокацию иона [144–147] или трансдукцию сигнала в сенсорных родопсинах [148]. В GPCR происходит конформационное изменение этого остатка триптофана в ответ либо на связывание агониста [149, 150], либо на фотоизомеризацию ретиналя в родопсине [151, 152], что запускает аналогичное сгиби и вращение 6-й спирали, что далее делает возможным связывание G-белка. (рис. 7). Сохранение функции этого «шарнирного» (по [151, 152]) остатка триптофана дополнительно поддерживает гипотезу происхождения GPCR из Na^+ -переносящих родопсинов.

В доступных структурах GPCR сайт связывания Na^+ соединен полостью только со внеклеточной стороной мембраны [137–140, 153]. Однако структурный анализ [140, 142, 154] и компьютерное моделирование [149, 155–157] показали, что ион Na^+ все же может переноситься в клетку по каналу, кратковременно открывающемуся после активации рецептора (рис. 8). Как показало наше математическое моделирование имеющихся экспериментальных данных,

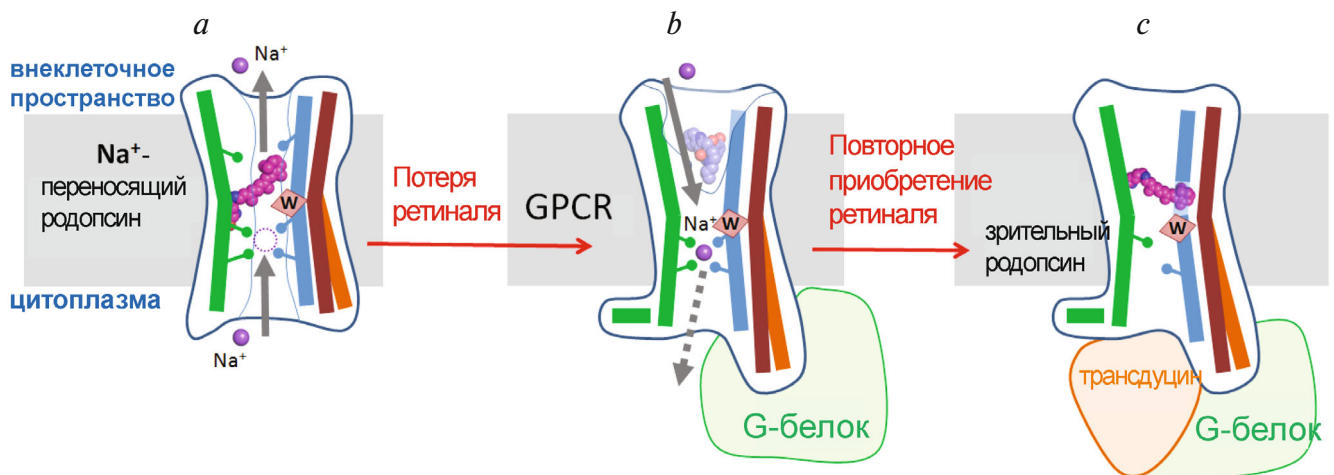


Рис. 7. Структурная эволюция микробных родопсинов и связанных с G-белком рецепторов (рисунок является модифицированной версией рис. 2 из [143]). Изображены только три спирали MR и GPCR. Спираль 3 (спираль С у MR) окрашена в синий цвет; спираль 6 (спираль F у MR) окрашена в коричневый цвет в «закрытой», неактивной конформации и в оранжевый цвет в «открытой», активной конформации; спираль 7 (спираль G у MR) окрашена в зеленый цвет. Переход от Na^+ -переносящего MR (а) к животному родопсину (с) рассматривается как серия потерь и приобретений. Утрата ретиналя могла привести к Na^+ -связывающему предшественнику большинства GPCR (b), где ион Na^+ стабилизировал пучок из семи α -спиралей. В ходе дальнейшей эволюции один из GPCR, видимо, утратил способность связывать Na^+ , например, из-за потери полярных координирующих Na^+ остатков. Отсутствие связанного иона Na^+ должно было дестабилизировать связку семи трансмембранных спиралей. Ее удалось опять стабилизировать путем повторного захвата гидрофобной молекулы ретиналя, которая связалась с другим остатком лизина, чем в MR; получившийся таким образом белок мог быть предком родопсинов животных (с). Для получения дополнительной информации см. основной текст и [143]

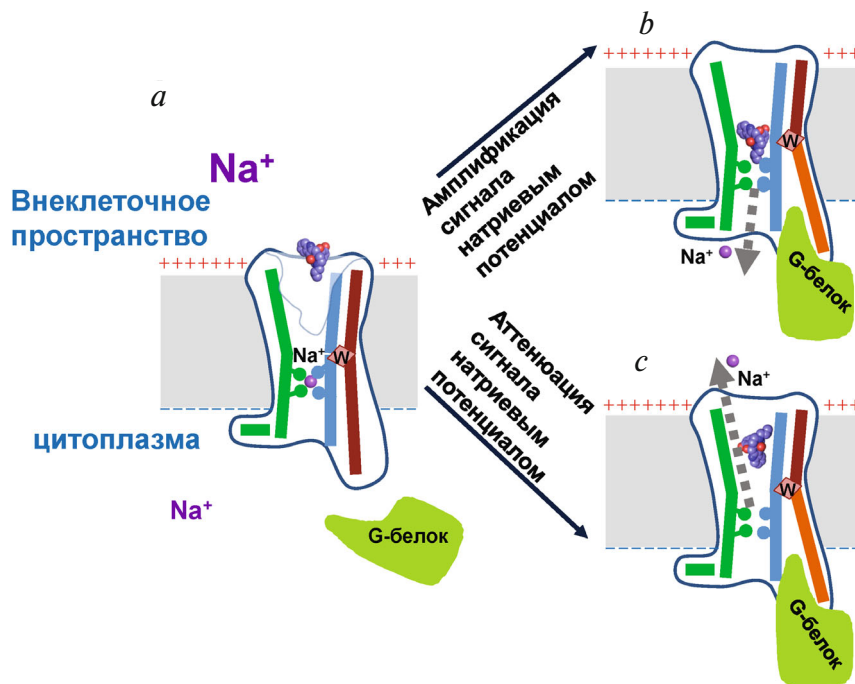


Рис. 8. Схематическое изображение активации GPCR Na^+ потенциалом. Цветовой код как на рис. 7. Ион Na^+ имеет средство к неактивному состоянию GPCR (а), но не к его активной конформации (b, c). Когда рецептор активируется связыванием агониста, ион Na^+ покидает свой сайт связывания. В одном из режимов (b), когда, например, связанная молекула агониста предотвращает выход иона Na^+ во внеклеточное пространство, Na^+ может проскользнуть в цитоплазму, таким образом перенесясь через мембрану; в этом случае Na^+ -потенциал способствует активации рецептора и она может происходить при более низких концентрациях агониста, чем в отсутствие мембранного Na^+ -потенциала (Na^+ -потенциал увеличивает чувствительность рецептора). В альтернативном режиме (с) аналог агониста не может предотвратить возвращение иона Na^+ во внеклеточное пространство; в этом случае Na^+ -потенциал препятствует активации рецептора, и для нее может потребоваться более высокая концентрация аналога агониста, чем в отсутствие мембранного потенциала (Na^+ -потенциал понижает чувствительность рецептора); подробнее см. [158]

GPCR могут использовать энергию трансмембранного потенциала Na^+ для усиления сигнала, как это делают полевые транзисторы, см. детали моделирования в [158]. Модель также предсказывает избирательную амплификацию сигнала для (эндогенных) агонистов, если только они, но не их (частичные) аналоги индуцируют перенос иона натрия в цитоплазму, как показано на рис. 8. Способность GPCR класса А использовать энергию мембранного потенциала для повышения их селективности и чувствительности имеет большое фармакологическое значение, поскольку объясняет, как одни и те же GPCR могут по-разному реагировать на различные лиганды. Таким образом, Na^+ -связывающие GPCR являются выдающимися представителями «Натриевого мира»; они используют энергию трансмембранного потенциала натрия для увеличения (1) чувствительности, (2) отношения сигнал/шум и (3) химической селективности [158]. Способность использовать внешний источник свободной энергии в сочетании с высокой адаптируемостью может объяснить присутствие ~700 генов, кодирующих GPCR класса А, в геноме человека.

Мы полагаем примечательным, что самое большое семейство белков, кодируемых геномом человека, принадлежит к «Натриевому миру».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Владимир Скулачев был первым, кто рассмотрел Na^+ -переносящую роторную АТФ-синтазу, Na^+ -движимые жгутики, разнообразные Na^+ -помпы, Na^+ -зависимые симпортеры и антипортеры, Na^+ -каналы и эукариотическую Na^+/K^+ -АТФазу как элементы общего «Натриевого мира» [6]. Последующие десятилетия подтвердили как правоту подобного подхода, так и многие предсказания Скулачева, а также принесли открытия новых Na^+ -переносящих ферментных систем.

Рис. 9 подчеркивает, что Натриевый мир не мог возникнуть сразу. Он расширился с течением времени; постепенное возникновение Na^+ -переносящих систем формировало раннюю жизнь и способствовало ее разнообразию. Таким образом, пристальный взгляд на белки из Натриевого мира помогает воссоздавать ранние организмы. Как уже говорилось, появление первых Na^+ -переносящих систем было вызвано необходимостью удерживать соотношение $[\text{K}^+] \gg [\text{Na}^+]$ в цитоплазме в то время когда первые организмы заселяли пресноводные и морские среды обитания [21, 22, 48]. Вероятно, само

появление замкнутых, непроницаемых для ионов липидных оболочек (рис. 3, *d*) было вызвано этой необходимостью. Обладание несколькими помпами для выброса Na^+ , движимыми различными источниками энергии, давало очевидное преимущество. Уже ранние организмы могли полагаться на Na^+ -транслокаторы, которые использовали редокс-энергию (NDH1-подобные комплексы [77–83]), химическую энергию (Na^+ -переносящие пиррофосфатазы [75] и роторные АТФазы [12, 20, 159]), осмотическую энергию (Na^+ -зависимые симпортеры [61]) и даже энергию света (Na^+ -переносящие родопсины [121, 122, 124, 125, 127]). Особенно успешные решения могли умножаться дубликацией генов; например, первые клетки, возможно, уже могли использовать множество родственных Na^+ -симпортеров с различной субстратной специфичностью. Кроме того, Na^+ -выбрасывающие помпы были связаны друг с другом через Na^+ -потенциал. Большой градиент Na^+ , например, в морской среде, мог обращать работу Na^+ -выбрасывающих помп, что, по-видимому, случилось с роторной АТФазой [19, 22]. Ее реверс привел к возникновению первого натриевого цикла (рис. 1); суть механизма которого удалось раскрыть Скулачеву примерно четыре миллиарда лет спустя [13].

Затраты на поддержание Na^+/K^+ -равновесия на мембране могли сокращаться за счет уменьшения ионной проницаемости мембран. При этом бактерии и археи независимо друг от друга обзавелись мембранами, образованными из липидов с двумя хвостами (рис. 3); после дальнейших усовершенствований и появления липидов с четырьмя хвостами эти мембраны стали непроницаемыми не только для ионов Na^+ , но и для протонов, что открыло путь к протон-зависимой биоэнергетике бактерий и архей (рис. 3, *d*, рис. 9 и [22, 38]).

Предки эукариот нашли другое решение: в процессе эволюционных манипуляций с АТФазами Р-типа, которые они использовали для переноса различных двухвалентных катионов [161], эукариотам повезло обзавестись вариантом, способным выбрасывать наружу три иона Na^+ в обмен на два иона K^+ из внешней среды за счет гидролиза всего одной молекулы АТФ, т.е. Na^+/K^+ АТФазой [162]. По-видимому, эта машина существенно понижала вероятность осмотического шока, вызываемого выбросом ионов Na^+ из клетки: обладатели Na^+/K^+ АТФаз обычно не имеют жестких клеточных стенок; их гибкие мембраны могут впиваться и обволакивать добычу.

После насыщения атмосферы кислородом цианобактериями предки эукариот «затянули» в



Рис. 9. Постепенное расширение «Натриевого мира» в трех доменах жизни. Последовательно происходящие эволюционные приобретения отмечены красными плюсами. Основные события латерального переноса генов показаны стрелками (мелкий пунктир). Эндосимбиотическое приобретение митохондрий и хлоропластов эукариотами отмечено стрелками (крупный пунктир). Мембраны на основе жирных кислот окрашены в темно-синий цвет. Мембраны на основе изопреноидов окрашены в темно-красный цвет. Содержание изопреноидов в мембранах эукариот обозначено штриховым темно-красным контуром. Голубая заливка показывает возрастающую концентрацию кислорода в атмосфере. Изображение лягушки с книгами было взято с сайта www.hotpng.com и модифицировано (некоммерческое использование)

себя дышащие α -протеобактерии, обладавшие протон-зависимой биоэнергетикой. Как предположил Скулачев [163], использование этих бактерий и их потомков в качестве потребляющих кислород электростанций спасло эукариотическую линию от окисления кислородом атмосферы и исчезновения. Выжившие таким образом эукариоты дополнительно обзавелись произошедшими из Na⁺-переносящих микробных родопсинов высокоспецифичными и чувствительными Na⁺-переносящими GPCR, что могло способствовать дальнейшему эволюционному успеху эукариот. Na⁺-зависимые GPCR широко распространены не только в геномах сложных животных, но и среди активно живущих одноклеточных эукариот. Например, геном *Stentor coeruleus* (показан на рис. 9) содержит десятки кодирующих GPCR генов, имею-

щих полные наборы потенциальных лигандов Na⁺ [158].

Дальнейшим способом уменьшить ущерб от атмосферного кислорода могла стать многоклеточность с бесчисленными слоями клеток, замедляющими диффузию кислорода. Переход к многоклеточности произошел в море, что объясняет преобладание Na⁺ над K⁺ во внеклеточной жидкости многоклеточных животных [164]. Оказавшись на суше, многоклеточные животные сохранили соленую химию жидкостей своего тела. По иронии судьбы, пресноводная лягушка (изображенная на рис. 9) тратит до 50% своей энергии на поддержание Na⁺/K⁺-градиента между цитоплазмой своих клеток и солеными жидкостями тела.

Одним из следствий этой парадоксальной ситуации является то, что многоклеточные ор-

организмы научились использовать градиент Na^+/K^+ -градиент, который они в любом случае должны поддерживать на своих клеточных мембранах для различных нужд. Градиент используется для усиления сигналов, поступающих от GPCR класса A и потенциал-зависимых ионных каналов, для передачи этих сигналов нервными клетками, для обеспечения активности мозга и т.д. Все участвующие в этих процессах Na^+ -переносящие белки, описание которых выходит за рамки настоящего обзора, также принадлежат к «Натриевому миру».

Другое следствие состоит в том, что многоклеточные организмы служат для своих микробов маленькими «натриевыми мирами». Концентрация кислорода внутри животных низкая, а концентрация Na^+ в биологических жидкостях высока, что является условиями, при которых энергетика на основе Na^+ особенно выгодна [18]. Коллектив авторов, включающий трех бывших студентов Скулачева, впервые показал, что некоторые патогены человека полагаются на натриевую биоэнергетику, в то время как многие другие имеют Na^+ -переносящие мембранные ферменты [25]. Эти авторы отметили, что любой бактериальный переносчик Na^+ , не имеющий аналогов у человека, может служить хорошей мишенью для антибактериальных препаратов. Учитывая протон-зависимый характер биоэнергетики человеческих митохондрий, находить такие мишени вполне реально. Фураноновый ингибитор NQR, который Павел Дибров и Елена Диброва (два бывших аспиранта Владимира Скулачева) разработали вместе со своими коллегами, в настоящее время проходит испытания в качестве нового антибиотика [165, 166]. В свя-

зи с этим, мы хотели бы завершить наш обзор предположением, что вышеприведенная таблица содержит множество еще не изученных потенциальных мишеней для будущих фармацевтических исследований.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Немецкого научно-исследовательского общества (DFG), Немецкой службы академических обменов (DAAD), программы EvoCell Оснабрюкского университета, Программы развития МГУ им. М.В. Ломоносова (суперкомпьютеры «Чебышев» и «Ломоносов»), а также гранта Российского научного фонда (17-14-01314).

Благодарности. Мы выражаем особую благодарность Владимиру Скулачеву за его неизменный интерес к нашей работе; мы также благодарны докторам А.В. Богачеву, П. Диброву, М.Ю. Гальперину, Й. Кларе, Е.В. Кунину, К.С. Макаровой, Х.-Ю. Штайнхоффу, Н. Воскобойниковой и Ю.В. Вольфу за полезные дискуссии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Соблюдение этических норм. Данная работа не содержит исследований, в которых в качестве объектов были бы использованы люди или животные.

Дополнительные материалы. Приложение к статье на английском языке опубликовано на сайте журнала «Biochemistry» (Moscow) (<http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/>) и на сайте издательства Springer (<https://link.springer.com/journal/10541>), том 85, вып. 12, 2020.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bakeeva, L. E., Chumakov, K. M., Drachev, A. L., Metlina, A. L., and Skulachev, V. P. (1986) The sodium cycle. III. *Vibrio alginolyticus* resembles *Vibrio cholerae* and some other vibrios by flagellar motor and ribosomal 5S-RNA structures, *Biochim. Biophys. Acta*, **850**, 466-472.
2. Skulachev, V. P., Sharaf, A. A., and Liberman, E. A. (1967) Proton conductors in the respiratory chain and artificial membranes, *Nature*, **216**, 718-719, doi: 10.1038/216718a0.
3. Liberman, E. A., Topaly, V. P., Tsofina, L. M., Jasaitis, A. A., and Skulachev, V. P. (1969) Mechanism of coupling of oxidative phosphorylation and the membrane potential of mitochondria, *Nature*, **222**, 1076-1078, doi: 10.1038/2221076a0.
4. Drachev, L. A., Jasaitis, A. A., Kaulen, A. D., Kondrashin, A. A., Liberman, E. A., et al. (1974) Direct measurement of electric current generation by cytochrome oxidase, H^+ -ATPase and bacteriorhodopsin, *Nature*, **249**, 321-324, doi: 10.1038/249321a0.
5. Glagolev, A. N., and Skulachev, V. P. (1978) The proton pump is a molecular engine of motile bacteria, *Nature*, **272**, 280-282, doi: 10.1038/272280a0.
6. Skulachev, V. P. (1988) *Membrane Bioenergetics*, Springer-Verlag, Berlin
7. Cramer, W. A., and Knaff, D. B. (1990) *Energy Transduction in Biological Membranes: A Textbook of Bioenergetics*, Springer-Verlag, Berlin.
8. Dimroth, P. (1980) A new sodium-transport system energized by the decarboxylation of oxaloacetate, *FEBS Lett.*, **122**, 234-236, doi: 10.1016/0014-5793(80)80446-7.
9. Tokuda, H., and Unemoto, T. (1982) Characterization of the respiration-dependent Na^+ pump in the marine bacterium *Vibrio alginolyticus*, *J. Biol. Chem.*, **257**, 10007-10014.
10. Glagolev, A. N., Dibrov, P. A., Skulachev, V. P., and Sherman, M. Y. (1984) A new type of energy transduction in biomembranes – Na^+ -dependent bacterial mobility, *Biol. Membr.*, **1**, 27-32.
11. Dibrov, P. A., Kostyko, V. A., Lazarova, R. L., Skulachev, V. P., and Smirnova, I. A. (1986) The sodium cycle. I. Na^+ -

- dependent motility and modes of membrane energization in the marine alkalotolerant vibrio *Alginolyticus*, *Biochim Biophys Acta*, **850**, 449-457,
12. Kinoshita, N., Unemoto, T., and Kobayashi, H. (1984) Sodium-stimulated ATPase in *Streptococcus faecalis*, *J. Bacteriol.*, **158**, 844-848, doi: 10.1128/JB.158.3.844-848.1984.
 13. Skulachev, V. P. (1984) Sodium bioenergetics, *Trends Biochem. Sci.*, **9**, 483-485, doi: 10.1016/0968-0004(84)90317-7.
 14. Skulachev, V. P. (1985) Membrane-linked energy transductions. Bioenergetic functions of sodium: H⁺ is not unique as a coupling ion, *Eur. J. Biochem.*, **151**, 199-208.
 15. Dibrov, P. A., Lazarova, R. L., Skulachev, V. P., and Verkhovskaya, M. L. (1986) The sodium cycle. II. Na⁺-coupled oxidative phosphorylation in *Vibrio alginolyticus* cells, *Biochim. Biophys. Acta*, **850**, 458-465.
 16. Mulkidjanian, A. Y., Makarova, K. S., Galperin, M. Y., and Koonin, E. V. (2007) Inventing the dynamo machine: the evolution of the F-type and V-type ATPases, *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**, 892-899, doi: 10.1038/nrmicro1767.
 17. Mulkidjanian, A. Y., Galperin, M. Y., Makarova, K. S., Wolf, Y. I., and Koonin, E. V. (2008) Evolutionary primacy of sodium bioenergetics, *Biol. Direct*, **3**, 13, doi: 10.1186/1745-6150-3-13.
 18. Mulkidjanian, A. Y., Dibrov, P., and Galperin, M. Y. (2008) The past and present of sodium energetics: may the sodium-motive force be with you, *Biochim. Biophys. Acta*, **1777**, 985-992.
 19. Mulkidjanian, A. Y., Galperin, M. Y., and Koonin, E. V. (2009) Co-evolution of primordial membranes and membrane proteins, *Trends Biochem. Sci.*, **34**, 206-215, doi: 10.1016/j.tibs.2009.01.005.
 20. Dibrova, D. V., Galperin, M. Y., and Mulkidjanian, A. Y. (2010) Characterization of the N-ATPase, a distinct, laterally transferred Na⁺-translocating form of the bacterial F-type membrane ATPase, *Bioinformatics*, **26**, 1473-1476, doi: 10.1093/bioinformatics/btq234.
 21. Mulkidjanian, A. Y., Bychkov, A. Y., Dibrova, D. V., Galperin, M. Y., and Koonin, E. V. (2012) Origin of first cells at terrestrial, anoxic geothermal fields, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, E821-830, doi: 10.1073/pnas.1117774109.
 22. Dibrova, D. V., Galperin, M. Y., Koonin, E. V., and Mulkidjanian, A. Y. (2015) Ancient systems of sodium/potassium homeostasis as predecessors of membrane bioenergetics, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 495-516, doi: 10.1134/S0006297915050016.
 23. Konings, W. N. (2006) Microbial transport: adaptations to natural environments, *Antonie Van Leeuwenhoek*, **90**, 325-342, doi: 10.1007/s10482-006-9089-3.
 24. Krulwich, T. A., Ito, M., Gilmour, R., Hicks, D. B., and Guffanti, A. A. (1998) Energetics of alkaliphilic *Bacillus* species: physiology and molecules, *Adv. Microb. Physiol.*, **40**, 401-438, doi: 10.1016/s0065-2911(08)60136-8.
 25. Hase, C. C., Fedorova, N. D., Galperin, M. Y., and Dibrov, P. A. (2001) Sodium ion cycle in bacterial pathogens: evidence from cross-genome comparisons, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **65**, 353-370, doi: 10.1128/MMBR.65.3.353-370.2001.
 26. Boyer, P. D. (1997) The ATP synthase – a splendid molecular machine, *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 717-749, doi: 10.1146/annurev.biochem.66.1.717.
 27. Kuhlbrandt, W. (2019) Structure and Mechanisms of F-Type ATP Synthases, *Annu. Rev. Biochem.*, **88**, 515-549, doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-110903.
 28. Sobti, M., Walshe, J. L., Wu, D., Ishmukhametov, R., Zeng, Y. C., Robinson, C. V., Berry, R. M., and Stewart, A. G. (2020) Cryo-EM structures provide insight into how *E. coli* F1Fo ATP synthase accommodates symmetry mismatch, *Nat. Commun.*, **11**, 2615, doi: 10.1038/s41467-020-16387-2.
 29. Zhou, L., and Sazanov, L. A. (2019) Structure and conformational plasticity of the intact *Thermus thermophilus* V/A-type ATPase, *Science*, **365**, doi: 10.1126/science.aaw9144
 30. Meier, T., Polzer, P., Diederichs, K., Welte, W., and Dimroth, P. (2005) Structure of the rotor ring of F-type Na⁺-ATPase from *Ilyobacter tartaricus*, *Science*, **308**, 659-662.
 31. Murata, T., Yamato, I., Kakinuma, Y., Leslie, A. G., and Walker, J. E. (2005) Structure of the rotor of the V-type Na⁺-ATPase from *Enterococcus hirae*, *Science*, **308**, 654-659.
 32. Gogarten, J. P., Kibak, H., Dittrich, P., Taiz, L., Bowman, E. J., et al. (1989) Evolution of the vacuolar H⁺-ATPase: implications for the origin of eukaryotes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6661-6665.
 33. Dimroth, P., and von Ballmoos, C. (2008) ATP synthesis by decarboxylation phosphorylation, *Results Probl. Cell Differ.*, **45**, 153-184, doi: 10.1007/400_2007_045.
 34. Deamer, D. W. (1987) Proton permeation of lipid bilayers, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **19**, 457-479.
 35. Lolkema, J. S., Speelmans, G., and Konings, W. N. (1994) Na⁽⁺⁾-coupled versus H⁽⁺⁾-coupled energy transduction in bacteria, *Biochim. Biophys. Acta*, **1187**, 211-215.
 36. Bozdaganyan, M. E., Lokhmatikov, A. V., Voskoboinikova, N., Cherepanov, D. A., Steinhoff, H. J., Shaitan, K. V., and Mulkidjanian, A. Y. (2019) Proton leakage across lipid bilayers: Oxygen atoms of phospholipid ester linkers align water molecules into transmembrane water wires, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1860**, 439-451, doi: 10.1016/j.bbabi.2019.03.001.
 37. Haines, T. H. (2001) Do sterols reduce proton and sodium leaks through lipid bilayers? *Prog. Lipid Res.*, **40**, 299-324, doi: 10.1016/s0163-7827(01)00009-1.
 38. Dibrova, D. V., Chudetsky, M. Y., Galperin, M. Y., Koonin, E. V., and Mulkidjanian, A. Y. (2012) The role of energy in the emergence of biology from chemistry, *Orig. Life Evol. Biosph.*, **42**, 459-468, doi: 10.1007/s11084-012-9308-z.
 39. Corcelli, A. (2009) The cardiolipin analogues of Archaea, *Biochim. Biophys. Acta*, **1788**, 2101-2106, doi: 10.1016/j.bbamem.2009.05.010.
 40. Chen, Q. P., and Li, Q. T. (2001) Effect of cardiolipin on proton permeability of phospholipid liposomes: the role of hydration at the lipid-water interface, *Arch. Biochem. Biophys.*, **389**, 201-206, doi: 10.1006/abbi.2001.2319.
 41. Koshkin, V., and Greenberg, M. L. (2002) Cardiolipin prevents rate-dependent uncoupling and provides osmotic stability in yeast mitochondria, *Biochem. J.*, **364**, 317-322, doi: 10.1042/bj3640317.
 42. Mulkidjanian, A. Y., Shalaeva, D. N., Lyamzaev, K. G., and Chernyak, B. V. (2018) Does oxidation of mitochondrial cardiolipin trigger a chain of antiapoptotic reactions? *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1263-1278, doi: 10.1134/S0006297918100115.
 43. Pereto, J., Lopez-Garcia, P., and Moreira, D. (2004) Ancestral lipid biosynthesis and early membrane evolution, *Trends Biochem. Sci.*, **29**, 469-477.
 44. van Meer, G., Voelker, D. R., and Feigenson, G. W. (2008) Membrane lipids: where they are and how they behave, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 112-124, doi: 10.1038/nrm2330.
 45. Wang, C., Ralko, A., Ren, Z., Rosenhouse-Dantsker, A., and Yang, X. (2019) Modes of cholesterol binding in mem-

- brane proteins: a joint analysis of 73 crystal structures, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1135**, 67-86, doi: 10.1007/978-3-030-14265-0_4.
46. Williams, R. J. P., and Frausto da Silva, J. J. R. (2006) *The Chemistry of Evolution: The Development of our Ecosystem*, Elsevier, Amsterdam.
 47. Macallum, A. B. (1926) The paleochemistry of the body fluids and tissues, *Physiol. Rev.*, **6**, 316-357.
 48. Mulikidjanian, A. Y., Bychkov, A. Y., Dibrova, D. V., Galperin, M. Y., and Koonin, E. V. (2012) Open questions on the origin of life at anoxic geothermal fields, *Orig. Life Evol. Biosph.*, **42**, 507-516, doi: 10.1007/s11084-012-9315-0.
 49. Maruyama, S., Ikoma, M., Genda, H., Hirose, K., Yokoyama, T., and Santosh, M. (2013) The naked planet Earth: most essential pre-requisite for the origin and evolution of life, *Geosci. Front.*, **4**, 141-165.
 50. Spirin, A. S., and Gavrillova, L. P. (1969) *The Ribosome*, Springer, New York.
 51. Natochin, Y. V. (2007) The physiological evolution of animals: sodium is the clue to resolving contradictions, *Herald Russ. Acad. Sci.*, **77**, 581-591.
 52. Koonin, E. V. (2003) Comparative genomics, minimal gene-sets and the last universal common ancestor, *Nat. Rev. Microbiol.*, **1**, 127-136.
 53. Klein, D. J., Moore, P. B., and Steitz, T. A. (2004) The contribution of metal ions to the structural stability of the large ribosomal subunit, *RNA*, **10**, 1366-1379, doi: 10.1261/rna.7390804.
 54. Rozov, A., Khusainov, I., El Omari, K., Duman, R., Mykhaylyk, V., et al. (2019) Importance of potassium ions for ribosome structure and function revealed by long-wavelength X-ray diffraction, *Nat. Commun.*, **10**, 2519, doi: 10.1038/s41467-019-10409-4
 55. Shalaeva, D. N., Cherepanov, D. A., Galperin, M. Y., Golovin, A. V., and Mulikidjanian, A. Y. (2018) Evolution of cation binding in the active sites of P-loop nucleoside triphosphatases in relation to the basic catalytic mechanism, *Elife*, **7**, doi: 10.7554/eLife.37373
 56. Haumann, M., Mulikidjanian, A., and Junge, W. (1997) Electrogenicity of electron and proton transfer at the oxidizing side of photosystem II, *Biochemistry*, **36**, 9304-9315, doi: 10.1021/bi963114p.
 57. Junge, W., Haumann, M., Ahlbrink, R., Mulikidjanian, A., and Clausen, J. (2002) Electrostatics and proton transfer in photosynthetic water oxidation, *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **357**, 1407-1417; discussion 1417-1420, doi: 10.1098/rstb.2002.1137.
 58. Mamedov, M., Govindjee, Nadtochenko, V., and Semenov, A. (2015) Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms, *Photosynth. Res.*, **125**, 51-63, doi: 10.1007/s11120-015-0088-y.
 59. Mulikidjanian, A. Y. (2010) Activated Q-cycle as a common mechanism for cytochrome bc1 and cytochrome b6 complexes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 1858-1868, doi: 10.1016/j.bbabi.2010.07.008
 60. Otto, R., Sonnenberg, A. S., Veldkamp, H., and Konings, W. N. (1980) Generation of an electrochemical proton gradient in *Streptococcus cremoris* by lactate efflux, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 5502-5506, doi: 10.1073/pnas.77.9.5502.
 61. Michel, T. A., and Macy, J. M. (1990) Generation of a membrane potential by sodium-dependent succinate efflux in *Selenomonas ruminantium*, *J. Bacteriol.*, **172**, 1430-1435, doi: 10.1128/jb.172.3.1430-1435.1990.
 62. Cherepanov, D. A., Mulikidjanian, A. Y., and Junge, W. (1999) Transient accumulation of elastic energy in proton translocating ATP synthase, *FEBS Lett.*, **449**, 1-6, doi: 10.1016/S0014-5793(99)00386-5.
 63. Boiteau, L., and Pascal, R. (2011) Energy sources, self-organization, and the origin of life, *Orig. Life Evol. Biosph.*, **41**, 23-33, doi: 10.1007/s11084-010-9209-y.
 64. Dimroth, P. (1997) Primary sodium ion translocating enzymes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1318**, 11-51, doi: 10.1016/s0005-2728(96)00127-2.
 65. Buckel, W. (2001) Sodium ion-translocating decarboxylases, *Biochim. Biophys. Acta*, **1505**, 15-27, doi: 10.1016/s0005-2728(00)00273-5.
 66. Verkhovskiy, M. I., and Bogachev, A. V. (2010) Sodium-translocating NADH:quinone oxidoreductase as a redox-driven ion pump, *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 738-746, doi: 10.1016/j.bbabi.2009.12.020.
 67. Steuber, J., Vohl, G., Casutt, M. S., Vorburger, T., Diederichs, K., and Fritz, G. (2014) Structure of the *V. cholerae* Na⁺-pumping NADH:quinone oxidoreductase, *Nature*, **516**, 62-67, doi: 10.1038/nature14003.
 68. Seedorf, H., Fricke, W. F., Veith, B., Bruggemann, H., Liesegang, H., et al. (2008) The genome of *Clostridium kluyveri*, a strict anaerobe with unique metabolic features, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2128-2133, doi: 10.1073/pnas.0711093105.
 69. Tatusov, R. L., Koonin, E. V., and Lipman, D. J. (1997) A genomic perspective on protein families, *Science*, **278**, 631-637.
 70. Galperin, M. Y., Makarova, K. S., Wolf, Y. I., and Koonin, E. V. (2015) Expanded microbial genome coverage and improved protein family annotation in the COG database, *Nucleic Acids Res.*, **43**, D261-269, doi: 10.1093/nar/gku1223.
 71. Krogh, A., Larsson, B., von Heijne, G., and Sonnhammer, E. L. (2001) Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes, *J. Mol. Biol.*, **305**, 567-580, doi: 10.1006/jmbi.2000.4315.
 72. Dice, L. R. (1945) Measures of the amount of ecologic association between species, *Ecology*, **26**, 297-302.
 73. Deppenmeier, U. (2002) The unique biochemistry of methanogenesis, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **71**, 223-283, doi: 10.1016/s0079-6603(02)71045-3.
 74. Kellosalo, J., Kajander, T., Kogan, K., Pokharel, K., and Goldman, A. (2012) The structure and catalytic cycle of a sodium-pumping pyrophosphatase, *Science*, **337**, 473-476, doi: 10.1126/science.1222505
 75. Baykov, A. A., Malinen, A. M., Luoto, H. H., and Lahti, R. (2013) Pyrophosphate-fueled Na⁺ and H⁺ transport in prokaryotes, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **77**, 267-276, doi: 10.1128/MMBR.00003-13.
 76. Fiedorczuk, K., Letts, J. A., Degliesposti, G., Kaszuba, K., Skehel, M., and Sazanov, L. A. (2016) Atomic structure of the entire mammalian mitochondrial complex I, *Nature*, **538**, 406-410, doi: 10.1038/nature19794.
 77. Friedrich, T., and Weiss, H. (1997) Modular evolution of the respiratory NADH:ubiquinone oxidoreductase and the origin of its modules, *J. Theor. Biol.*, **187**, 529-540, doi: 10.1006/jtbi.1996.0387.
 78. Hedderich, R. (2004) Energy-converting [NiFe] hydrogenases from archaea and extremophiles: ancestors of complex I, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **36**, 65-75, doi: 10.1023/b:jobb.0000019599.43969.33.
 79. Moparthy, V. K., and Hagerhall, C. (2011) The evolution of respiratory chain complex I from a smaller last common

- ancestor consisting of 11 protein subunits, *J. Mol. Evol.*, **72**, 484-497, doi: 10.1007/s00239-011-9447-2.
80. Schut, G. J., Boyd, E. S., Peters, J. W., and Adams, M. W. (2013) The modular respiratory complexes involved in hydrogen and sulfur metabolism by heterotrophic hyperthermophilic archaea and their evolutionary implications, *FEMS Microbiol. Rev.*, **37**, 182-203, doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00346.x.
 81. Marreiros, B. C., Batista, A. P., Duarte, A. M., and Pereira, M. M. (2013) A missing link between complex I and group 4 membrane-bound [NiFe] hydrogenases, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827**, 198-209, doi: 10.1016/j.bbabi.2012.09.012.
 82. Novakovsky, G. E., Dibrova, D. V., and Mulkidjanian, A. Y. (2016) Phylogenomic analysis of type 1 NADH:Quinone oxidoreductase, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 770-784, doi: 10.1134/S0006297916070142.
 83. Yu, H., Wu, C. H., Schut, G. J., Haja, D. K., Zhao, G., et al. (2018) Structure of an ancient respiratory system, *Cell*, **173**, 1636-1649 e1616, doi: 10.1016/j.cell.2018.03.071.
 84. Swartz, T. H., Ikewada, S., Ishikawa, O., Ito, M., and Krulwich, T. A. (2005) The Mrp system: a giant among monovalent cation/proton antiporters? *Extremophiles*, **9**, 345-354, doi: 10.1007/s00792-005-0451-6.
 85. Ito, M., Morino, M., and Krulwich, T. A. (2017) Mrp antiporters have important roles in diverse bacteria and archaea, *Front. Microbiol.*, **8**, 2325, doi: 10.3389/fmicb.2017.02325.
 86. Moparathi, V. K., Kumar, B., Mathiesen, C., and Hagerhall, C. (2011) Homologous protein subunits from *Escherichia coli* NADH:quinone oxidoreductase can functionally replace MrpA and MrpD in *Bacillus subtilis*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 427-436, doi: 10.1016/j.bbabi.2011.01.005.
 87. Steiner, J., and Sazanov, L. (2020) Structure and mechanism of the Mrp complex, an ancient cation/proton antiporter, *Elife*, **9**, doi: 10.7554/eLife.59407.
 88. Tersteegen, A., and Hedderich, R. (1999) Methanobacterium thermoautotrophicum encodes two multisubunit membrane-bound [NiFe] hydrogenases. Transcription of the operons and sequence analysis of the deduced proteins, *Eur. J. Biochem.*, **264**, 930-943, doi: 10.1046/j.1432-1327.1999.00692.x.
 89. Thauer, R. K. (2012) The Wolfe cycle comes full circle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 15084-15085, doi: 10.1073/pnas.1213193109.
 90. Dibrova, D. V., Kononov, K. A., Perekhatov, V. V., Skulachev, K. V., and Mulkidjanian, A. Y. (2017) COGcollator: a web server for analysis of distant relationships between homologous protein families, *Biol. Direct*, **12**, 29, doi: 10.1186/s13062-017-0198-x.
 91. Rinke, C., Schwientek, P., Sczyrba, A., Ivanova, N. N., Anderson, I. J., et al. (2013) Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter, *Nature*, **499**, 431-437, doi: 10.1038/nature12352.
 92. Hug, L. A., Baker, B. J., Anantharaman, K., Brown, C. T., Probst, A. J., et al. (2016) A new view of the tree of life, *Nat. Microbiol.*, **1**, 16048, doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.48.
 93. Castelle, C. J., and Banfield, J. F. (2018) Major new microbial groups expand diversity and alter our understanding of the tree of life, *Cell*, **172**, 1181-1197, doi: 10.1016/j.cell.2018.02.016.
 94. Parks, D. H., Chuvochina, M., Waite, D. W., Rinke, C., Skarshewski, A., Chaumeil, P. A., and Hugenholtz, P. (2018) A standardized bacterial taxonomy based on genome phylogeny substantially revises the tree of life, *Nat. Biotechnol.*, **36**, 996-1004, doi: 10.1038/nbt.4229.
 95. Parks, D. H., Imelfort, M., Skennerton, C. T., Hugenholtz, P., and Tyson, G. W. (2015) CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes, *Genome Res.*, **25**, 1043-1055, doi: 10.1101/gr.186072.114.
 96. Potter, S. C., Luciani, A., Eddy, S. R., Park, Y., Lopez, R., and Finn, R. D. (2018) HMMER web server: 2018 update, *Nucleic Acids Res.*, **46**, W200-W204, doi: 10.1093/nar/gky448.
 97. Castelle, C. J., Brown, C. T., Anantharaman, K., Probst, A. J., Huang, R. H., and Banfield, J. F. (2018) Biosynthetic capacity, metabolic variety and unusual biology in the CPR and DPANN radiations, *Nat. Rev. Microbiol.*, **16**, 629-645, doi: 10.1038/s41579-018-0076-2.
 98. Beam, J. B., and Becraft, E. D. (2020) Ancestral absence of electron transport chains in patescibacteria and DPANN, *Front. Microbiol.*, doi: 10.3389/fmicb.2020.01848.
 99. Brown, II, Fadeyev, S. I., Kirik, II, Severina, I. I., and Skulachev, V. P. (1990) Light-dependent DmNa⁺-generation and utilization in the marine cyanobacterium *Oscillatoria brevis*, *FEBS Lett.*, **270**, 203-206.
 100. Mulkidjanian, A. Y., Koonin, E. V., Makarova, K. S., Mekhedov, S. L., Sorokin, A., et al. (2006) The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 13126-13131, doi: 10.1073/pnas.0605709103.
 101. Hohmann-Marriott, M. F., and Blankenship, R. E. (2011) Evolution of photosynthesis, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **62**, 515-548, doi: 10.1146/annurev-arplant-042110-103811.
 102. Junge, W., Renger, G., and Auslander, W. (1977) Proton release into the internal phase of thylakoids due to photosynthetic water oxidation. On the periodicity under flashing light, *FEBS Lett.*, **79**, 155-159, doi: 10.1016/0014-5793(77)80373-6.
 103. Gupta, O. A., Cherepanov, D. A., Junge, W., and Mulkidjanian, A. Y. (1999) Proton transfer from the bulk to the bound ubiquinone Q(B) of the reaction center in chromatophores of *Rhodobacter sphaeroides*: retarded conveyance by neutral water, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 13159-13164.
 104. Mamedov, M. D., Tyunyatkina, A. A., Siletsky, S. A., and Semenov, A. Y. (2006) Voltage changes involving photosystem II quinone-iron complex turnover, *Eur. Biophys. J.*, **35**, 647-654, doi: 10.1007/s00249-006-0069-3.
 105. Dibrova, D. V., Shalaeva, D. N., Galperin, M. Y., and Mulkidjanian, A. Y. (2017) Emergence of cytochrome *bc* complexes in the context of photosynthesis, *Physiol. Plant.*, **161**, 150-170, doi: 10.1111/ppl.12586.
 106. Mitchell, P. (1976) Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems, *J. Theor. Biol.*, **62**, 327-367, doi: 10.1016/0022-5193(76)90124-7.
 107. Bertsova, Y. V., Mamedov, M. D., and Bogachev, A. V. (2019) Na⁺-translocating ferredoxin:NAD⁺ oxidoreductase is a component of photosynthetic electron transport chain in green sulfur bacteria, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1403-1410, doi: 10.1134/S0006297919110142.
 108. Soontharapirakkul, K., Promden, W., Yamada, N., Kageyama, H., Incharoensakdi, A., Iwamoto-Kihara, A., and Takabe, T. (2011) Halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytica* contains an Na⁺-dependent F₁F₀-ATP synthase with a potential role in salt-stress tolerance, *J. Biol. Chem.*, **286**, 10169-10176, doi: 10.1074/jbc.M110.208892.
 109. Schulz, S., Wilkes, M., Mills, D. J., Kuhlbrandt, W., and Meier, T. (2017) Molecular architecture of the N-type

- ATPase rotor ring from *Burkholderia pseudomallei*, *EMBO Rep.*, **18**, 526-535, doi: 10.15252/embr.201643374.
110. Soo, R. M., Hemp, J., Parks, D. H., Fischer, W. W., and Hugenholtz, P. (2017) On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria, *Science*, **355**, 1436-1440, doi: 10.1126/science.aal3794.
 111. Hyatt, D., Chen, G. L., Locascio, P. F., Land, M. L., Larimer, F. W., and Hauser, L. J. (2010) Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification, *BMC Bioinformatics*, **11**, 119, doi: 10.1186/1471-2105-11-119.
 112. Fritz, M., Klyszejko, A. L., Morgner, N., Vonck, J., Brutschy, B., Muller, D. J., Meier, T., and Muller, V. (2008) An intermediate step in the evolution of ATPases: a hybrid F(0)-V(0) rotor in a bacterial Na⁺ F(1)F(0) ATP synthase, *FEBS J.*, **275**, 1999-2007, doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06354.x.
 113. Schlegel, K., and Müller, V. (2013) Evolution of Na⁺ and H⁺ bioenergetics in methanogenic archaea, *Biochem. Soc. Trans.*, **41**, 421-426, doi: 10.1042/BST20120294.
 114. Skulachev, V. P. (1978) Membrane-linked energy buffering as the biological function of Na⁺/K⁺ gradient, *FEBS Lett.*, **87**, 171-179, doi: 10.1016/0014-5793(78)80326-3.
 115. Arshavsky, V. Y., Baryshev, V. A., Brown, I. I., Glagolev A. N., and Skulachev, V. P. (1981) Transmembrane gradient of K⁺ and Na⁺ ions as an energy buffer in Halobacterium halobium cells, *FEBS Lett.*, **133**, 22-26.
 116. Brown, I. I., Galperin, M., Glagolev, A. N., and Skulachev, V. P. (1983) Utilization of energy stored in the form of Na⁺ and K⁺ ion gradients by bacterial cells, *Eur. J. Biochem.*, **134**, 345-349.
 117. Welkie, D. G., Rubin, B. E., Diamond, S., Hood, R. D., Savage, D. F., and Golden, S. S. (2019) A hard day's night: cyanobacteria in diel cycles, *Trends Microbiol.*, **27**, 231-242, doi: 10.1016/j.tim.2018.11.002.
 118. Oesterhelt, D., and Stoekenius, W. (1973) Functions of a new photoreceptor membrane, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2853-2857.
 119. Lozier, R. H., Bogomolni, R. A., and Stoekenius, W. (1975) Bacteriorhodopsin: a light-driven proton pump in Halobacterium Halobium, *Biophys. J.*, **15**, 955-962, doi: 10.1016/S0006-3495(75)85875-9.
 120. Heberle, J., Fitter, J., Sass, H. J., and Buldt, G. (2000) Bacteriorhodopsin: the functional details of a molecular machine are being resolved, *Biophys. Chem.*, **85**, 229-248.
 121. Inoue, K., Ono, H., Abe-Yoshizumi, R., Yoshizawa, S., Ito, H., Kogure, K., and Kandori, H. (2013) A light-driven sodium ion pump in marine bacteria, *Nat. Commun.*, **4**, 1678, doi: 10.1038/ncomms2689.
 122. Brown, L. S. (2014) Eubacterial rhodopsins – unique photosensors and diverse ion pumps, *Biochim. Biophys. Acta*, **1837**, 553-561, doi: 10.1016/j.bbabi.2013.05.006.
 123. Sorokin, D. Y., Muntyan, M. S., Toshchakov, S. V., Korzhnikov, A., and Kublanov, I. V. (2018) Phenotypic and genomic properties of a novel deep-lineage haloalkaliphilic member of the phylum balneolaeota from soda lakes possessing Na⁺-translocating proteorhodopsin, *Front. Microbiol.*, **9**, 2672, doi: 10.3389/fmicb.2018.02672.
 124. Gushchin, I., Shevchenko, V., Polovinkin, V., Kovalev, K., Alekseev, A., et al. (2015) Crystal structure of a light-driven sodium pump, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 390-395, doi: 10.1038/nsmb.3002.
 125. Kato, H. E., Inoue, K., Abe-Yoshizumi, R., Kato, Y., Ono, H., et al. (2015) Structural basis for Na⁺ transport mechanism by a light-driven Na⁺ pump, *Nature*, **521**, 48-53, doi: 10.1038/nature14322.
 126. Kovalev, K., Astashkin, R., Gushchin, I., Orekhov, P., Volkov, D., et al. (2020) Molecular mechanism of light-driven sodium pumping, *Nat. Commun.*, **11**, 2137, doi: 10.1038/s41467-020-16032-y.
 127. Bogachev, A. V., Bertsova, Y. V., Verkhovskaya, M. L., Mamedov, M. D., and Skulachev, V. P. (2016) Real-time kinetics of electrogenic Na⁺ transport by rhodopsin from the marine flavobacterium Dokdonia sp. PRO95, *Sci. Rep.*, **6**, 21397, doi: 10.1038/srep21397.
 128. Pinhassi, J., DeLong, E. F., Beja, O., Gonzalez, J. M., and Pedros-Alio, C. (2016) Marine bacterial and archaeal ion-pumping rhodopsins: genetic diversity, physiology, and ecology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **80**, 929-954, doi: 10.1128/MMBR.00003-16.
 129. Knudsen, J. L., Kluge, A., Bochenkova, A. V., Kiefer, H. V., and Andersen, L. H. (2018) The UV-visible action-absorption spectrum of all-trans and 11-cis protonated Schiff base retinal in the gas phase, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **20**, 7190-7194, doi: 10.1039/c7cp07512j.
 130. DasSarma, S., and Schwieterman, E. W. (2018) Early evolution of purple retinal pigments on Earth and implications for exoplanet biosignatures, *Int. J. Astrobiol.*, **1-10**, doi: 10.1017/S1473550418000423.
 131. Ovchinnikov, Y. A. (1982) Rhodopsin and bacteriorhodopsin: structure-function relationships, *FEBS Lett.*, **148**, 179-191.
 132. Ernst, O. P., Lodowski, D. T., Elstner, M., Hegemann, P., Brown, L. S., and Kandori, H. (2014) Microbial and animal rhodopsins: structures, functions, and molecular mechanisms, *Chem. Rev.*, **114**, 126-163, doi: 10.1021/cr4003769.
 133. Soppa, J. (1994) Two hypotheses – one answer. Sequence comparison does not support an evolutionary link between halobacterial retinal proteins including bacteriorhodopsin and eukaryotic G-protein-coupled receptors, *FEBS Lett.*, **342**, 7-11.
 134. Kouyama, T., and Murakami, M. (2010) Structural divergence and functional versatility of the rhodopsin superfamily, *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, **9**, 1458-1465, doi: 10.1039/c0pp00236d.
 135. Devine, E. L., Oprian, D. D., and Theobald, D. L. (2013) Relocating the active-site lysine in rhodopsin and implications for evolution of retinylidene proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 13351-13355, doi: 10.1073/pnas.1306826110.
 136. Katritch, V., Cherezov, V., and Stevens, R. C. (2013) Structure–function of the G protein-coupled receptor superfamily, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **53**, 531-556, doi: 10.1146/annurev-pharmtox-032112-135923.
 137. Liu, W., Chun, E., Thompson, A. A., Chubukov, P., Xu, F., et al. (2012) Structural basis for allosteric regulation of GPCRs by sodium ions, *Science*, **337**, 232-236, doi: 10.1126/science.1219218.
 138. Fenalti, G., Giguere, P. M., Katritch, V., Huang, X. P., Thompson, A. A., Cherezov, V., Roth, B. L., and Stevens, R. C. (2014) Molecular control of delta-opioid receptor signalling, *Nature*, **506**, 191-196, doi: 10.1038/nature12944.
 139. Miller-Gallacher, J. L., Nehme, R., Warne, T., Edwards, P. C., Schertler, G. F., Leslie, A. G., and Tate, C. G. (2014) The 2.1 Å resolution structure of cyanopindolol-bound beta1-adrenoceptor identifies an intramembrane Na⁺ ion that stabilises the ligand-free receptor, *PLoS One*, **9**, e92727, doi: 10.1371/journal.pone.0092727.

140. Katritch, V., Fenalti, G., Abola, E. E., Roth, B. L., Cherezov, V., and Stevens, R. C. (2014) Allosteric sodium in class A GPCR signaling, *Trends Biochem. Sci.*, **39**, 233-244, doi: 10.1016/j.tibs.2014.03.002.
141. Massink, A., Gutierrez-de-Teran, H., Lenselink, E. B., Ortiz Zacarias, N. V., Xia, L., et al. (2015) Sodium ion binding pocket mutations and adenosine A2A receptor function, *Mol. Pharmacol.*, **87**, 305-313, doi: 10.1124/mol.114.095737.
142. White, K. L., Eddy, M. T., Gao, Z. G., Han, G. W., Lian, T., et al. (2018) Structural connection between activation microswitch and allosteric sodium site in GPCR signaling, *Structure*, **26**, 259-269.e5, doi: 10.1016/j.str.2017.12.013.
143. Shalaeva, D. N., Galperin, M. Y., and Mulikidjanian, A. Y. (2015) Eukaryotic G protein-coupled receptors as descendants of prokaryotic sodium-translocating rhodopsins, *Biol. Direct.*, **10**, 63, doi: 10.1186/s13062-015-0091-4.
144. Radzwill, N., Gerwert, K., and Steinhoff, H. J. (2001) Time-resolved detection of transient movement of helices F and G in doubly spin-labeled bacteriorhodopsin, *Biophys. J.*, **80**, 2856-2866, doi: 10.1016/S0006-3495(01)76252-2.
145. Nakanishi, T., Kanada, S., Murakami, M., Ihara, K., and Kouyama, T. (2013) Large deformation of helix F during the photoreaction cycle of Pharaonis halorhodopsin in complex with azide, *Biophys. J.*, **104**, 377-385, doi: 10.1016/j.bpj.2012.12.018.
146. Sattig, T., Rickert, C., Bamberg, E., Steinhoff, H. J., and Bamann, C. (2013) Light-induced movement of the transmembrane helix B in channelrhodopsin-2, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **52**, 9705-9708, doi: 10.1002/anie.201301698.
147. Krause, N., Engelhard, C., Heberle, J., Schlesinger, R., and Bittl, R. (2013) Structural differences between the closed and open states of channelrhodopsin-2 as observed by EPR spectroscopy, *FEBS Lett.*, **587**, 3309-3313, doi: 10.1016/j.febslet.2013.08.043.
148. Klare, J. P., Bordignon, E., Engelhard, M., and Steinhoff, H. J. (2004) Sensory rhodopsin II and bacteriorhodopsin: light activated helix F movement, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **3**, 543-547, doi: 10.1039/b402656j.
149. Yuan, S., Hu, Z., Filipek, S., and Vogel, H. (2015) W246(6.48) opens a gate for a continuous intrinsic water pathway during activation of the adenosine A2A receptor, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **54**, 556-559, doi: 10.1002/anie.201409679.
150. Manglik, A., Kim, T. H., Masureel, M., Altenbach, C., Yang, Z., et al. (2015) Structural insights into the dynamic process of beta2-adrenergic receptor signaling, *Cell*, **161**, 1101-1111, doi: 10.1016/j.cell.2015.04.043.
151. Scheerer, P., Park, J. H., Hildebrand, P. W., Kim, Y. J., Krauss, N., Choe, H. W., Hofmann, K. P., and Ernst, O. P. (2008) Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation, *Nature*, **455**, 497-502, doi: 10.1038/nature07330.
152. Park, J. H., Scheerer, P., Hofmann, K. P., Choe, H. W., and Ernst, O. P. (2008) Crystal structure of the ligand-free G-protein-coupled receptor opsin, *Nature*, **454**, 183-187, doi: 10.1038/nature07063.
153. Zhang, C., Srinivasan, Y., Arlow, D. H., Fung, J. J., Palmer, D., et al. (2012) High-resolution crystal structure of human protease-activated receptor 1, *Nature*, **492**, 387-392, doi: 10.1038/nature11701.
154. Yuan, S., Vogel, H., and Filipek, S. (2013) The role of water and sodium ions in the activation of the mu-opioid receptor, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **52**, 10112-10115, doi: 10.1002/anie.201302244.
155. Yuan, S., Filipek, S., Palczewski, K., and Vogel, H. (2014) Activation of G-protein-coupled receptors correlates with the formation of a continuous internal water pathway, *Nat. Commun.*, **5**, 4733, doi: 10.1038/ncomms5733.
156. Vickery, O. N., Carvalheda, C. A., Zaidi, S. A., Pislakov, A. V., Katritch, V., and Zachariae, U. (2018) Intracellular transfer of Na⁽⁺⁾ in an active-state G-protein-coupled receptor, *Structure*, **26**, 171-180.e2, doi: 10.1016/j.str.2017.11.013.
157. Hu, X., Wang, Y., Hunkele, A., Provasi, D., Pasternak, G. W., and Filizola, M. (2019) Kinetic and thermodynamic insights into sodium ion translocation through the mu-opioid receptor from molecular dynamics and machine learning analysis, *PLoS Comput. Biol.*, **15**, e1006689, doi: 10.1371/journal.pcbi.1006689.
158. Shalaeva, D. N., Cherepanov, D. A., Galperin, M. Y., Vriend, G., and Mulikidjanian, A. Y. (2019) G protein-coupled receptors of class A harness the energy of membrane potential to increase their sensitivity and selectivity, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1861**, 183051, doi: 10.1016/j.bbmem.2019.183051.
159. Laubinger, W., and Dimroth, P. (1987) Characterization of the Na⁽⁺⁾-stimulated ATPase of *Propionigenium modestum* as an enzyme of the F1F0 type, *Eur. J. Biochem.*, **168**, 475-480.
160. McMillan, D. G. G., Ferguson, S. A., Dey, D., Schröder, K., Aung, H. L., et al. (2011) A₁A₀-ATP synthase of *Methanobrevibacter ruminantium* couples sodium ions for ATP synthesis under physiological conditions, *J. Biol. Chem.*, **286**, 39882-39892.
161. Palmgren, M. G., and Nissen, P. (2011) P-type ATPases, *Annu. Rev. Biophys.*, **40**, 243-266, doi: 10.1146/annurev.biophys.093008.131331.
162. Skou, J. C. (1998) The identification of the sodium-potassium pump (Nobel Lecture), *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **37**, 2320-2328, doi: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980918)37:17<2320::AID-ANIE2320>3.0.CO;2-2.
163. Skulachev, V. P. (1996) Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants, *Q. Rev. Biophys.*, **29**, 169-202, doi: 10.1017/s0033583500005795.
164. Macallum, A. B. (1903) On the inorganic composition of the Medusae, *Aurelia flavidula* and *Cyanea arctica*, *J. Physiol.*, **29**, 213-241, doi: 10.1113/jphysiol.1903.sp000952.
165. Dibrov, P., Dibrov, E., Maddaford, T. G., Kenneth, M., Nelson, J., Resch, C., and Pierce, G. N. (2017) Development of a novel rationally designed antibiotic to inhibit a nontraditional bacterial target, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **95**, 595-603, doi: 10.1139/cjpp-2016-0505.
166. Dibrov, P., Dibrov, E., and Pierce, G. N. (2017) Na⁽⁺⁾-NQR (Na⁽⁺⁾-translocating NADH:ubiquinone oxidoreductase) as a novel target for antibiotics, *FEMS Microbiol. Rev.*, **41**, 653-671, doi: 10.1093/femsre/fux032.
167. Crooks, G. E., Hon, G., Chandonia, J. M., and Brenner, S. E. (2004) WebLogo: A sequence logo generator, *Genome Res.*, **14**, 1188-1190, doi: 10.1101/gr.849004.
168. Abbas, Y. M., Wu, D., Bueler, S. A., Robinson, C. V., and Rubinstein, J. L. (2020) Structure of V-ATPase from the mammalian brain, *Science*, **367**, 1240-1246, doi: 10.1126/science.aaz2924.

**EXPANSION OF THE “SODIUM WORLD”
THROUGH EVOLUTIONARY TIME AND TAXONOMIC SPACE****Review****M. I. Kozlova^{1,2}, I. M. Bushmakin³, J. D. Belyaeva³, D. N. Shalaeva¹,
D. V. Dibrova², D. A. Cherepanov⁴, and A. Y. Mulkidjanian^{1,2,3*}**¹ *School of Physics, Osnabrueck University, 49069 Osnabrueck, Germany; E-mail: amulkid@uos.de*² *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*³ *School of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*⁴ *Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia*

Received September 1, 2020

Revised September 27, 2020

Accepted September 27, 2020

In 1986, Vladimir Skulachev and his colleagues coined the term “Sodium World” for the group of diverse organisms with sodium (Na)-based bioenergetics. Albeit only few such organisms had been discovered by that time, the authors insightfully noted that “the great taxonomic variety of organisms employing the Na-cycle points to the ubiquitous distribution of this novel type of membrane-linked energy transductions”. Here we used tools of bioinformatics to follow expansion of the Sodium World through the evolutionary time and taxonomic space. We searched for those membrane protein families in prokaryotic genomes that correlate with the use of the Na-potential for ATP synthesis by different organisms. In addition to the known Na-translocators, we found a plethora of uncharacterized protein families; most of them show no homology with studied proteins. In addition, we traced the presence of Na-based energetics in many novel archaeal and bacterial clades, which were recently identified by metagenomic techniques. The data obtained support the view that the Na-based energetics preceded the proton-dependent energetics in evolution and prevailed before the oxygenation of atmosphere during the first two billion years of the Earth history. Hence, the full capacity of Na-based energetics in prokaryotes remains largely unexplored. The Sodium World expanded owing to the acquisition of new functions by Na-translocating systems. Specifically, most classes of G-protein-coupled receptors (GPCRs), which are targeted by almost half of the known drugs, appear to evolve from the Na-translocating microbial rhodopsins. Thereby the GPCRs of class A, with 700 representatives in human genome, retained the Na-binding site in the center of the transmembrane heptahelical bundle together with the capacity of Na-translocation. Mathematical modeling showed that the class A GPCRs could use the energy of transmembrane Na-potential for increasing both their sensitivity and selectivity. Thus, GPCRs, the largest protein family coded by human genome, stem from the Sodium World, which encourages exploration of other Na-dependent enzymes of eukaryotes.

Keywords: bioenergetics, sodium transporter, sodium/potassium homeostasis, retinal-binding proteins, GPCR, agonist, comparative genomics, antibiotics, drug research