

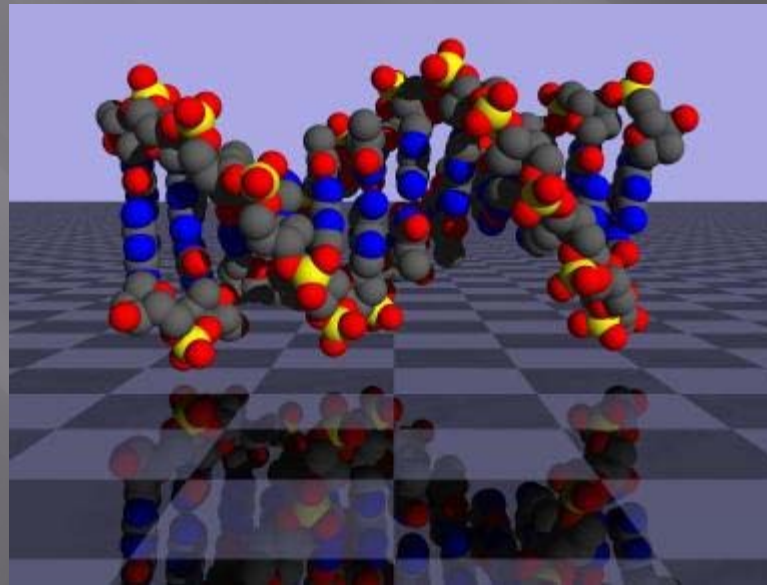
# As vs P

- ▣ A Bacterium That Can Grow by Using Arsenic Instead of Phosphorus



# Вступ

- ▣ Основні елементи, що входять в органіку життя: C, O, H, N, S, P.
- ▣ Відомі заміни деяких елементів на інші у біомолекулах: Mo замість W, Cd замість Zn – у деяких ферментах.



# Mono Lake, CA

- ▣ Mono Lake, located in eastern California is a hypersaline and alkaline water body with high dissolved As concentrations (200  $\mu\text{M}$ )

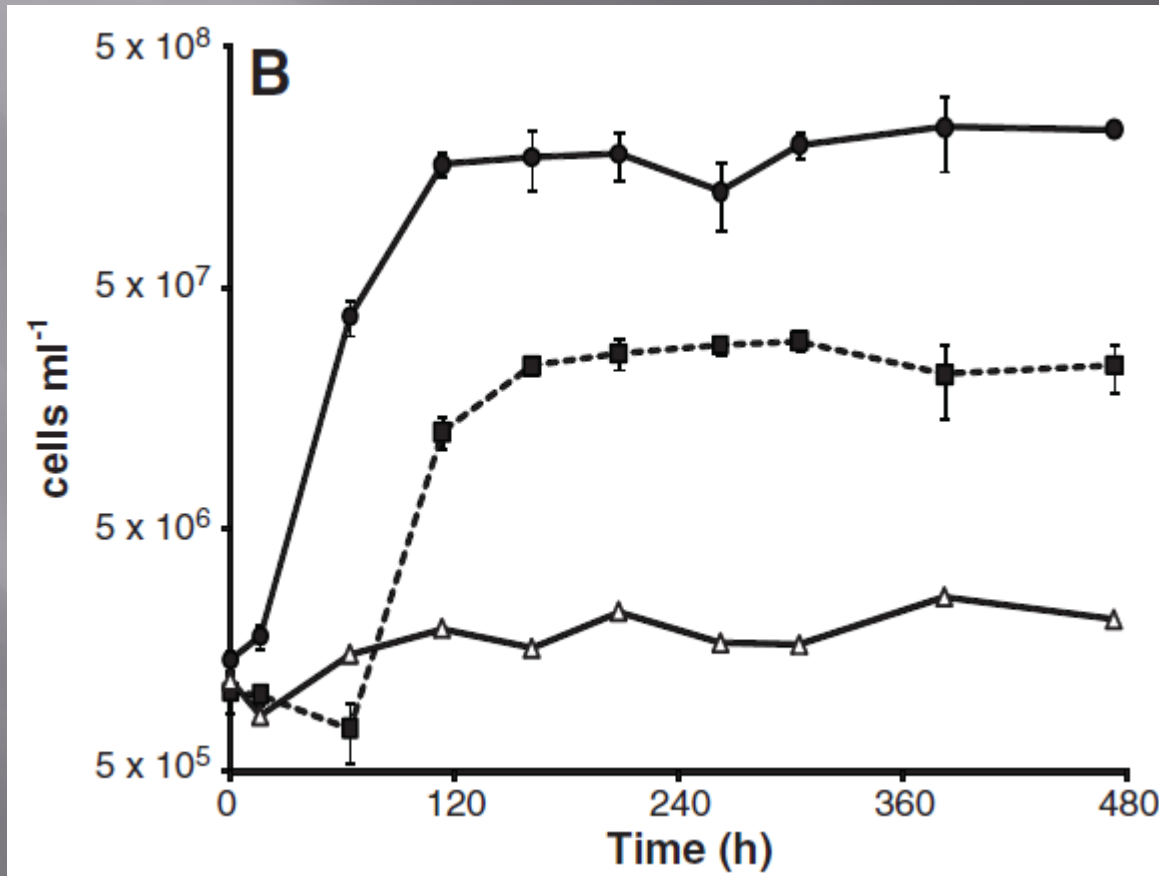


# Хід дослідження

- ▣ Середовище для вирощування бактерій із осаду: 10 mM glucose, vitamins, trace metals but no added PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> nor any additional complex organic supplements (e.g. yeast extract, peptone) with a regimen of increasing AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup> additions initially spanning the range 100 μM to 5 mM.
- ▣ Для зменшення слідових к-стей фосфору проводили багато серійних розведень (у 10000000 разів).
- ▣ Ідентифікували бактерію GFAJ-1 (Halomonadaceae, Gammaproteobacteria), що росла у вищезгаданих умовах.

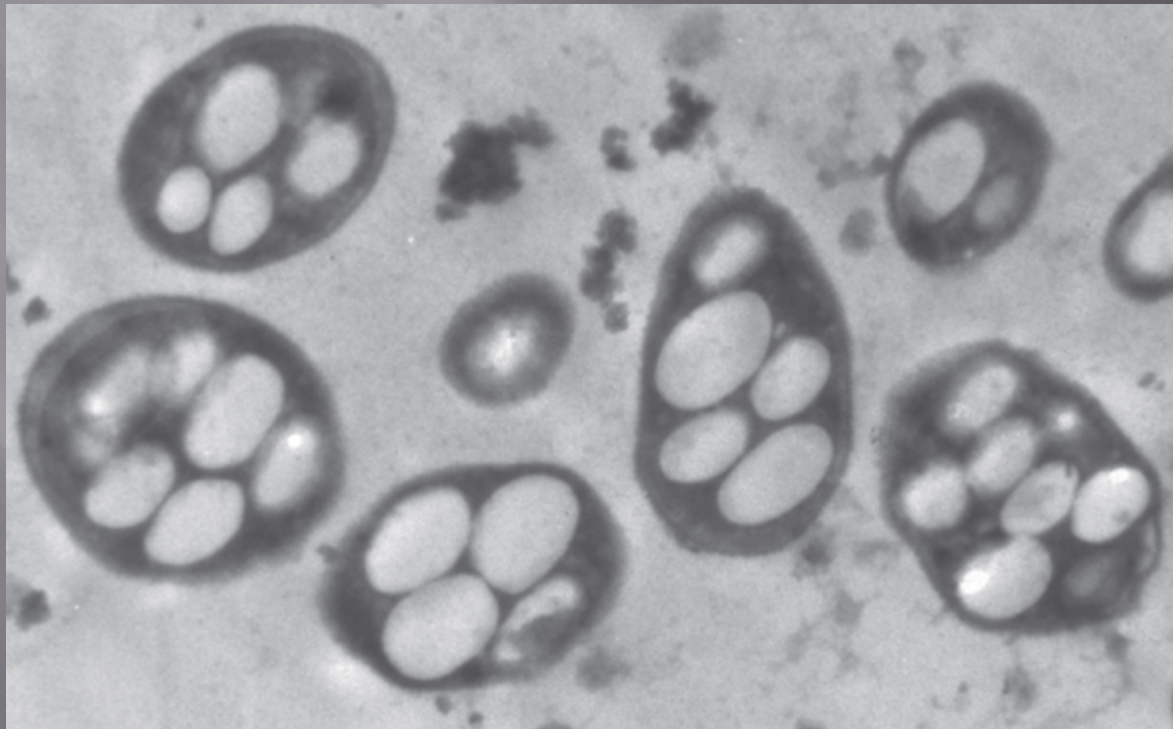


# Ріст бактерій



# Вигляд

- ▣ В умовах присутності фосфору вакуолі відсутні



# Вміст елементів у клітині

**Table 1.** Bulk intracellular elemental profile of strain GFAJ1.\*

Condition (n)	(% dry weight)		
	As	P	As:P
+As/-P (8)	0.19 ± 0.25	0.019 ± 0.0009	7.3
-As/+P (4)	0.001 ± 0.0005	0.54 ± 0.21	0.002

# Вміст As у фракціях

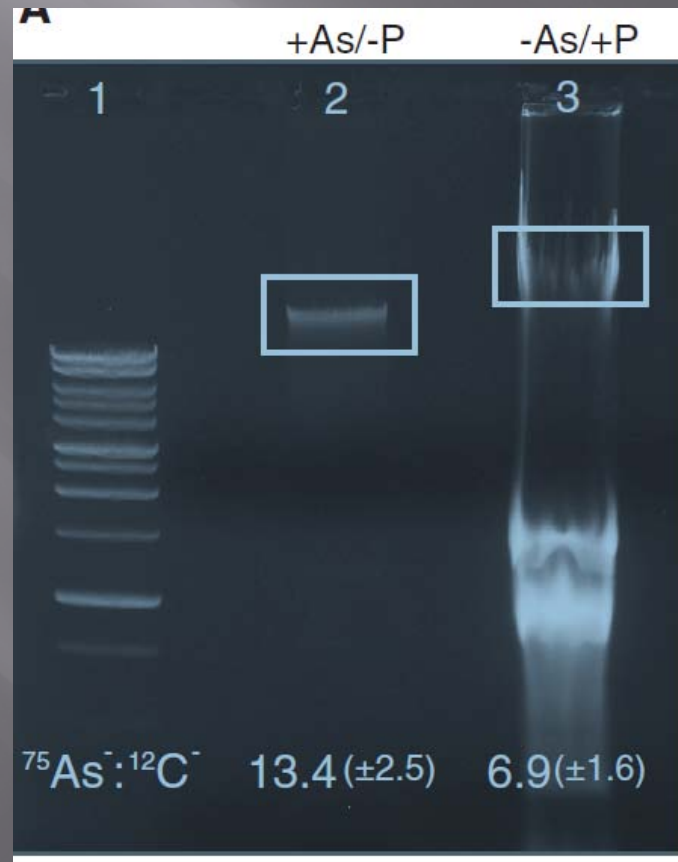
**Table 2.** Intracellular radiolabeled  $^{73}\text{AsO}_4^-$  arsenate distribution\*

Solvent (subcellular fraction)	Cellular radiolabel recovered (% of total)
Phenol (protein + s.m.w. metabolites)	$80.3 \pm 1.7$
Phenol:Chloroform (proteins + lipids)	$5.1 \pm 4.1$
Chloroform (lipids)	$1.5 \pm 0.8$
Final aqueous fraction (DNA/RNA)	$11.0 \pm 0.1$



# Дослідження ДНК

- Очистка ДНК при електрофорезі у гелі
- NanoSIMS для ідентифікації As



- ▣ NanoSIMS analysis of the DNA showed that the As:P ratio on an atom per atom basis was significantly higher in the +As/-P versus -As/+P grown cells

# Synchrotron X-ray studies

X-ray data support the position of arsenate in a similar configuration to phosphate in a DNA backbone or potentially other biomolecules as well. These data also indicated evidence for the presence of arsenate in small molecular weight metabolites (e.g., arsenylated analogs of NADH, ATP, glucose, acetyl-CoA) as well as arsenylated proteins where arsenate would substitute for phosphate at serine, tyrosine and threonine residues (1, 11) (table S3)

# Друга точка зору

- ▣ Нестабільність As-O зв'язків (естери) в десятки разів нижча від P-O.
- ▣ Автори припускають, що гранули містять полі-бета-гідроксибутират і є збідненими на воду. Ніби ці ділянки можуть стабілізувати біомолекули.
- ▣ Можливо є стабілізація спеціальними молекулами, або високий рівень обміну.

- ▣ Не ідентифіковано As-вмісні молекули, дані непрямі!!!!
- ▣ Бактерії можуть абсорбувати As, а молекули будувати із слідових кількостей Р.
- ▣ Бактерії аналізували на стадії спокою, коли потрібно менше Р
- ▣ Низький вміст РНК – вивільнений резерв Р.
- ▣ Гранули в бактеріях – ізольовані компартменти із відкладеними токсинами – As.
- ▣ Очистка ДНК у гелі неефективна!!!!