

Санкт-Петербургский государственный университет

ЯРОШЕНКО Владислав Валерьевич

Выпускная квалификационная работа

***Ультроструктурные аспекты эволюции цитоскелета и
жгутикового аппарата одноклеточных Opisthokonta***

Уровень образования: Бакалавриат

Направление *06.03.01 «Биология»*

Основная образовательная программа *СВ.5017.2018 «Биология»*

Работа выполнена на Кафедре
зоологии беспозвоночных
(зав. кафедрой – д.б.н. Гранович
Андрей Игоревич)

Научный руководитель:
профессор Кафедры зоологии
беспозвоночных СПбГУ, д.б.н.
Карпов Сергей Алексеевич.

Рецензент: научный сотрудник
Зоологического института РАН,
к.б.н. Поздняков Игорь
Робертович.

Санкт-Петербург
2023

Оглавление

Раздел I. Введение	3
Раздел II. Обзор литературы.....	5
Глава 1. Цитоскелет и жгутиковый аппарат эукариотической клетки.....	5
§ 1.1. Общая организация и современные методы исследования цитоскелета эукариот.	5
§ 1.2. Актиновые микрофиламенты.....	10
§ 1.3. Классические промежуточные филаменты.	13
§ 1.4. ПФ-подобные белки и прочие «неконаннические» цитоскелетные структуры.....	16
§ 1.5. Микротрубочковый цитоскелет. Центры организации микротрубочек.....	19
§ 1.6. Ультраструктура жгутикового аппарата эукариот	24
Глава 2. Систематический обзор особенностей ультраструктуры цитоскелета и жгутикового аппарата одноклеточных представителей супергруппы Opisthokonta.....	29
§ 2.1. Современная система эукариот и филогения Opisthokonta	29
§ 2.2. Apusomonadida и Breviatea	31
§ 2.3. Нуклеарииды (Nucleariidae)	36
§ 2.4. Опистоспоридии (Opisthosporidia).....	37
§ 2.5. Зооспоровые низшие грибы («Chytridiomycota»)	41
§ 2.6. Ихтиоспориды (Ichthyosporia) и <i>Corallochytrium sp.</i>	43
§ 2.6. Амебоидные филастерии (Filasterea).....	43
§ 2.7. Свободноживущие хищные жгутиконосцы из ветви Holozoa.....	44
§ 2.8. Воротничковые жгутиконосцы (Choanoflagellata).....	46
Глава 3. Сравнительный анализ и обобщение сведений о эволюции жгутикового аппарата Opisthokonta.....	47
§ 3.1. Основные направления эволюции жгутикового аппарата Opisthokonta.	47
§ 3.2. Функциональные и эволюционные причины опистоконтности. Обзор гипотез.	49
Раздел II. Заключение.....	52
Список литературы.....	53
Приложения	72
Приложение I. Таблицы	72
Приложение II. Иллюстрации.....	75

Раздел I. Введение

Система **цитоскелета** и моторных белков обеспечивает компартментализацию, деление, подвижность, поддержание и динамику пространственной структуры эукариотических клеток¹⁻⁵. Такие ключевые компоненты цитоскелета как актиновые микрофиламенты и тубулиновые микротрубочки, а также собранные на основе последних центриоли и **эукариотические жгутики** демонстрируют идеальное сочетание консервативности и вариабельности в ряду разнообразных представителей из всех известных супергрупп эукариот. Это обстоятельство позволяет использовать ультраструктурные признаки организации цитоскелета и жгутикового аппарата в совокупности с другими морфологическими признаками и данными филогеномики для реконструкции эволюции эукариот на макротаксономическом уровне⁶⁻¹⁰.

Супергруппа **заднежгутиковые** или **Opisthokonta (Caval.-Sm. 1987, emend. Adl et al. 2005)** включает многоклеточных животных (Metazoa), грибов (Fungi) и различные родственные им группы протистов¹¹⁻¹⁴. Исследования ультраструктуры цитоскелета и жгутикового аппарата одноклеточных представителей данной супергруппы могут пролить свет на эволюционную радиацию ближайших родственников животных и грибов, а также на происхождение и возможные причины структурной сложности этих групп многоклеточных¹⁵⁻¹⁷.

Помимо очевидного интереса для фундаментальной протистологии, зоологии и микологии исследования жгутикового аппарата протистов филогенетически близких к животным могут иметь важное **прикладное значение**. Сравнительно легко культивируемые одноклеточные организмы могут служить хорошими модельными объектами для изучения клеточных патологий и нарушений онтогенеза человека и других животных, связанных с дисфункциями цитоскелета, например, таких как разнообразные цилиопатии¹⁸⁻²¹. Кроме того, исследования эукариотического цитоскелета и моторных белков также раскрывают широкий потенциал этих биологических конструкций для нанотехнологии и создания активных метаматериалов²²⁻²⁴.

Данная работа носит реферативный, обзорный характер. Её **целью** является **разработка обобщенной схемы предполагаемых эволюционных преобразований в ультраструктуре цитоскелета одноклеточных Opisthokonta на основе имеющихся литературных данных**, с акцентом на организации микротрубочкового цитоскелета и, в частности, жгутикового аппарата, как системы наиболее изученной и значимой для эволюционных и таксономических построений.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

- 1) Дать краткий обзор современных представлений о структуре и функционировании цитоскелета эукариотической клетки, в частности, микротрубочкового цитоскелета, центров организации микротрубочек и жгутикового аппарата.
- 2) Кратко рассмотреть известное разнообразие и филогению одноклеточных эукариотических организмов из супергруппы Заднежгутиковые (Opisthokonta), включая организмы, открытые за последние несколько лет.
- 3) Проанализировать имеющиеся ультраструктурные данные, касающиеся организации цитоскелета и жгутикового аппарата этих организмов.
- 4) Предложить обобщенную схему эволюционных преобразований в ультраструктуре цитоскелета и жгутикового аппарата одноклеточных Opisthokonta.
- 5) Провести сравнительный разбор основных гипотез, описывающих происхождение и тенденции эволюции опистоконтного (заднежгутикового) аппарата.

Раздел II. Обзор литературы

Глава 1. Цитоскелет и жгутиковый аппарат эукариотической клетки

§ 1.1. Общая организация и современные методы исследования цитоскелета эукариот.

Цитоскелет – это сложная сеть белковых филаментов и других, связанных с ними белков, которая определяет форму клетки, поддерживает её структуру и участвует в различных клеточных процессах, таких как движение, деление, внутриклеточный транспорт и сигналинг. Каждый тип филаментов цитоскелета имеет собственный белковый состав, пространственную структуру, динамику сборки и разборки, функциональную роль и характер взаимодействия с другими компонентами клетки. Цитоскелет является динамичной и адаптивной системой, которая может менять свою организацию в зависимости от совокупности внешних и внутренних сигналов^{3,4}.

Ранние идеи, предвосхищавшие открытие цитоскелета, появились в научных трудах со второй половиной XIX века, параллельно с формированием клеточной теории как таковой. Так, **Уолтер Флемминг (Walther Flemming)** в 1879 году впервые описал стадии митоза и **митотическое веретено**. Он также предложил общую теорию строения клетки, постулировав, что протоплазма состоит из двух компонентов: фибриллярной сети и межфибрилярного вещества^{25,26}. Первые предположения о существовании цитоскелета, как системы упругих нитей, поддерживающих форму клетки, были высказаны в 1903 году русским биологом **Николаем Константиновичем Кольцовым**, на основе наблюдений и экспериментов над сперматозоидами ракообразных^{27,28}. Позднее, в 1931, термин «cytosquelette» (фр.) был предложен эмбриологом **Полем Винтребертом (Paul Wintrebert)** для обозначения предполагаемого белкового каркаса клетки и закрепился в науке^{29,30}. Однако, масштабные исследования цитоскелета начались лишь с развитием электронной микроскопии. В 1954 в ранних электронно-микроскопических исследованиях были выявлены основные **фибрилярные структуры мышц** – актиновые и миозиновые филаменты (эти белки к тому моменту уже были идентифицированы). К концу 1950-х годов были описаны уже все три основных типа цитоскелетных волокон, а в 1960-х годах доказана универсальность цитоскелетных структур для клеток эукариот².

В основе большинства современных методов исследования цитоскелета лежит **выделение очищенных цитоскелетных белков**. После чего характеристики и взаимодействия этих белков часто изучаются *in vitro*. Функции цитоскелетных белков также изучают *in vivo* путем генетической элиминации, снижения или увеличения экспрессии белка посредством экспериментов с **нокаутом, нокдауном или**

сверхэкспрессией их генов, соответственно. Либо используют **агенты, блокирующие белки** или **нефункциональные аналоги** этих белков, вводимые в живую клетку. Наиболее известным из таких блокаторов является колхицин, который специфически связывается с тубулином и ингибирует полимеризацию микротрубочек. **Антитела к белкам цитоскелета** используют для анализа молекулярного состава различных клеточных структур.^{1,2}

Развивающиеся методы **сверхразрешающей конфокальной микроскопии, криоэлектронной и атомно-силовой микроскопии** позволяют детально визуализировать отдельные белковые молекулы цитоскелета. А в совокупности с **биоинформатическими методами** реконструкции пространственной структуры макромолекул и данными **рентгеноструктурного кристаллографического анализа** возможно, при необходимости, добиться атомарного разрешения^{4,5}.

Несмотря на все эти достижения, наши современные знания о структуре и функциях цитоскелета все еще очень фрагментарны. Секвенирование геномов значительно опережает характеристику закодированных в них клеточных компонентов, и тем более превосходит наши возможности по сборке этих компонентов *in vitro* в сложные сети, которые могли бы обеспечить механистическое понимание клеточного поведения³¹.

Традиционно, цитоскелет эукариот описывается как совокупность трёх основных компонентов: **актиновых микрофиламентов, тубулиновых микротрубочек и промежуточных филаментов**². В последнее время, к классической триаде добавляют также четвертый компонент цитоскелета – **септины**. Эти белки обнаружены во многих эволюционных линиях эукариот, за исключением высших растений. Изначально была показана их роль в цитокинезе, но позднее выяснилось, что спектр их функций значительно шире³².

Помимо четырех основных, относительно универсальных компонентов цитоскелета существует большое разнообразие **«неканонических» фибриллярных структур**, специфичных для тех или иных групп эукариот. Скорее всего, в силу слабой изученности ультраструктуры и молекулярной биологии клеток протистов, большинство подобных структур и формирующих их белков пока остается неизвестным для нас^{2,33}.

Цитоскелетные белки достаточно разнородны по своей структуре, размерам и доменному составу. Сходной для них является только способность при определенных условиях самособираться в **протяженные фибриллярные комплексы**, при этом соединение отдельных белковых **субъединиц** в цепочки происходит за счёт слабых

нековалентных взаимодействий. Прочность и стабильность таким соединениям придает то условие, что отдельные цепочки субъединиц, называемые **протофиламентами**, переплетаются или соединяются латерально со сдвигом, формируя, собственно, филаменты цитоскелета. На **кинетику объединения субъединиц** в филаменты влияет множество факторов – физическо-химические условия, такие как температура, давление, рН, концентрация свободных субъединиц в цитоплазме, взаимодействие их с определенными кофакторами или регуляторными белками. Однако, ключевым этапом в сборке филаментов служит **нуклеация** – образование **зародышевого комплекса** из нескольких субъединиц, достаточно стабильного, чтобы стать отправной точкой для дальнейшего роста филамента. Различия в структуре субъединиц и способе их самосборки определяют различные механические свойства филаментов цитоскелета⁵.

Актин и **тубулин** – два наиболее древних и универсальных цитоскелетных белка – имеют ряд общих черт: они являются **глобулярными** и могут **связывать и гидролизовать** нуклеотиды (АТФ и ГТФ, соответственно), этот процесс играет ключевую роль в их сборке. Образуемые ими цитоскелетные структуры – микрофиламенты и микротрубочки – склонны к сборке/разборке и имеют **полярность**, которая обусловлена полярностью составляющих их субъединиц. Последнее свойство является необходимым для взаимодействия с ними соответствующих моторных белков. Один из концов таких филаментов, называемый **плюс-концом**, менее стабилен, и к нему быстрее присоединяются новые мономеры, другой же, **минус-конец**, более стабилен^{3,4}. Б. Альбертс сравнивает эти клеточные структуры с постоянно меняющимися муравьиными тропами⁵. Более подробная сравнительная характеристика основных компонентов цитоскелета приведена в таблице 1 в Приложении.

Показано, что **цитоскелетные сети** обладают способностью к **самоорганизации**, как *in vivo*, так и *in vitro*. В результате взаимодействий между отдельными филаментами цитоскелета, вспомогательными белками и пространственными ограничителями различной формы (в роли такого ограничителя в клетке может выступать, например, плазматическая мембрана), компоненты цитоскелета закрепляются, отталкиваются, выравниваются или переориентируются, формируя сложные воспроизводимые трёхмерные структуры. Эти структуры, обычно пребывают в состоянии **динамического постоянства**, то есть составляющие их филаменты постоянно обновляются, но общая форма остается неизменной³⁴.

Поддержание **пространственной структуры клетки** является одной из ключевых функций цитоскелета. Длина и жесткость цитоскелетных полимеров обуславливают ряд механических особенностей образуемых ими сетей. Например, трехмерная цитоскелетная

сеть с такой же жесткостью или модулем упругости (т. е. сопротивлением деформации под действием приложенной силы), что и 5% полиакриламидный гель, может быть получена из сшитых актиновых филаментов с почти на два порядка меньшей концентрацией. Кроме того, в отличие от полимерных гелей, цитоскелетные сети становятся всё более жёсткими по мере того, как деформируются³⁵.

Не стоит недооценивать потенциал **инженерных микроструктур**, собранных на основе цитоскелета в таких областях как адресная доставка лекарств, биомедицина и «lab-on-a-chip»-технологии, поскольку механика цитоскелета, в отличие от человеческих технологий сотнями миллионов лет приспособлялась биологической эволюцией к **особенностям физических взаимодействий на микрометровом масштабе**. К этим особенностям можно отнести, например, важность тепловых флуктуаций или течения с низкими числами Рейнольдса, при которых силы вязкости среды преобладают над инерционными эффектами²².

Естественно, цитоскелет не мог бы выполнять свои функции без сотен вспомогательных белков, взаимодействующих с цитоскелетными филаментами. Различные компоненты цитоскелета **взаимодействуют друг с другом механически** за счет переплетения в цитоплазме.

Отдельно стоит упомянуть **моторные белки**, такие как *кинезины* и *динеины*, перемещающиеся по микротрубочкам и *миозины*, взаимодействующие с актиновыми филаментами. Львиная доля биологической подвижности эукариот сводится к работе белков этих трех семейств. Совершая направленное АТФ-зависимое движение по полярным филаментам цитоскелета, моторные белки перемещают вдоль них везикулы, органеллы, отдельные сигнальные молекулы и белковые комплексы, а также другие элементы цитоскелета, осуществляя, таким образом, изменения формы клетки^{36,37}.

Помимо очевидных механических и моторных функций, цитоскелет также участвует в информационной интеграции живой клетки. Цитоскелет устанавливает, так называемый, **дальний порядок** (long-range order) расположения молекул в цитоплазме. Полярные микротрубочки и микрофиламенты, распределённые в цитоплазме определенным образом обуславливают полярность и пространственную разметку всей клетки. Они служат как бы **координатной сеткой**, относительно которой упорядочиваются клеточные структуры и сигналы^{1,38}.

Кроме того, цитоскелет играет ключевую роль в той части клеточной сигнализации, которая основана на передаче не химических, а физических сигналов, таких как

механическое напряжение. Такая передача сигнала называется **механотрансдукция** и её вклад в клеточный сигналинг до последнего времени был изучен слабо, однако существуют исследования убедительно показывающие, что механические свойства среды оказывают прямое влияние на дифференцировку клеток у животных³⁹. Обычно, в этом случае механическое напряжение воздействует через актиновый цитоскелет, *комплексы LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton)* и ядерную ламину на пространственную структуру хроматина и **регуляцию экспрессии генов**⁴⁰.

Интригующим является вопрос о том, могут ли долгоживущие цитоскелетные структуры сами функционировать как своеобразная **механическая клеточная «память»**, которая хранит информацию о прошлых физических взаимодействиях с микроокружением и влияет на последующее поведение клетки¹. Такая информация, хранящаяся в структуре цитоскелета материнской клетки может наследоваться дочерними клетками при её делении. Этот необычный механизм **эпигенетической наследственности** может играть значительную роль в определении дальнейшей судьбы и дифференцировке дочерних клеток. Например, аномалии в структуре кортекса инфузорий, не вызванные мутациями, такие как инверсии или дупликации отдельных пространственных паттернов цилиатуры, могут стабильно воспроизводиться десятками поколений, обнаруживая феномен, описанный как **«кортикальная» или структурная наследственность**⁴¹.

До начала 1990-х годов цитоскелет рассматривался как уникальная особенность эукариот. Однако, было показано, что **прокариоты обладают гомологами тубулина, актина** и собственным спектром структурных белков. Это и другие открытия, сделанные при помощи сравнительной геномики позволили понять, что сложная система эукариотического цитоскелета начала формироваться задолго до существования последнего общего предка эукариот (LECA). Впрочем, необходимо отметить, что четвертичная структура и функции прокариотических гомологов довольно сильно отличаются от таковых у цитоскелетных белков эукариот. Кроме того, цитоскелет прокариот достаточно вариабелен по своему составу. Различные белки могут использоваться в различных таксонах для выполнения сходных функций^{6,42}.

Геномы **асгард-архей** – возможных ближайших родственников эукариот – кодируют сотни эукариотических сигнатурных белков (ESPs), в том числе, **самые близкие прокариотические гомологи тубулина и актина**. Недавно обнаруженный у *Odinarchaeota* гомолог тубулина *OdinTubulin* структурно демонстрирует как-бы переходную форму между кольцами *FtsZ* и полыми микротрубочками эукариот⁴³. В геномах различных асгард-архей обнаружено несколько белков, родственных актину и основным *Actr*, в том числе, так

называемые локиактины, образующие комплексы структурно очень похожие на микрофиламенты⁴⁴. Выделенный из '*Candidatus Lokiarchaeum ossiferum*' белок из подгруппы локиактинов образует филаменты, поддерживающие протяженные цитоплазматические выросты⁴⁵.

У эукариот функции цитоскелета были значительно усовершенствованы и расширены за счет добавления дополнительных белков, **обширной дупликации и специализации генов**. Например, от белков обычных субъединиц микротрубочек и микрофиламентов произошли специализированные нуклеирующие белки – гамма-тубулин и Arp2/3.⁶

§ 1.2. Актиновые микрофиламенты

Актин – один из самых распространенных белков на Земле, во многих эукариотических клетках на его долю приходится более 10% белковой массы. В человеческом организме его обилие лишь в некоторых тканях уступает другим цитоскелетным белкам – тубулину в нейронах и кератину в эпидермисе⁴⁶. **Актиновые микрофиламенты** являются основой для обширной группы цитоскелетных структур. Эти филаменты, также называемые F-актином (фибрилярным актином), полимеризуются из мономеров глобулярного актина (G-актина)².

G-актин представляет собой одиночную полипептидную цепь с молекулярной массой около 42 кДа и изоэлектрической точкой около 5,4². Эукариотический актиновый полипептид из 375 аминокислотных остатков сворачивается в уплощенную глобулу с глубокой медиальной щелью, которая связывает АТФ. В полипептидной цепи актина описано четыре субдомена.⁴⁶

Многие эукариоты, в том числе дрожжи и зеленая водоросль *Chlamydomonas sp.*, обходятся одним геном актина, чтобы создать все необходимые структуры цитоскелета, но у многоклеточных организмов может присутствовать несколько генов актина, экспрессируемых в разных тканях. Так, у человека есть три гена α -актина (мышцы), один ген β -актина (немышечные клетки) и два гена γ -актина (один в некоторых гладких мышцах и один в немышечных клетках). Растения имеют 10 или более генов актина: некоторые специализированы для репродуктивных тканей, а другие для вегетативных⁴⁶.

Молекулы G-актина полимеризуются в **актиновые микрофиламенты**. В негативно окрашенных препаратах и в репликах актиновые филаменты выглядят как нити, состоящие из спирально расположенных субъединиц. Бороздка для связывания мишени находится на зазубренном конце, а щель для связывания нуклеотидов — на заостренном конце⁴⁶.

Мономеры актина прочно связывают АТФ или АДФ при условии, что в буфере присутствует Ca^{2+} или Mg^{2+} . Один из этих двухвалентных катионов связывается с β - и γ -фосфатами АТФ, стабилизируя его взаимодействие с белком. Ca^{2+} используется во время очистки актина, а Mg^{2+} связывается в физиологических условиях. Мономеры актина **самопроизвольно полимеризуются** в условиях физиологического раствора с одним или обоими одновалентными и двухвалентными катионами в буфере⁴⁶.

Удлинение актиновых филаментов изучено намного лучше, чем зародышеобразование, потому что можно измерить скорость удлинения в объемном растворе или путем наблюдения одиночных филаментов с помощью электронной или световой микроскопии. Зазубренные концы растут и укорачиваются намного быстрее, чем заостренные. Связанный нуклеотид стабилизирует мономеры, но не требуется для полимеризации⁴⁷. В отличие от микротрубочек актиновые филаменты не переключаются между дискретными состояниями полимеризации и деполимеризации; вместо этого они постоянно удлиняются в присутствии мономеров, связанных с нуклеотидами¹.

Актиновые филаменты гораздо **менее жесткие**, чем микротрубочки. Но присутствие большого количества сшивающих агентов, которые связываются с филаментами, способствует сборке высокоорганизованных, жестких структур¹. Например, актиновые пучки стереоцилий волосковых клеток внутреннего уха должны сохранять стабильную организацию все время жизни животного. Несмотря на это, отдельные актиновые филаменты внутри них удивительно динамичны и непрерывно перестраиваются и заменяются примерно каждые 48 часов⁵

В отличие от микротрубочкового цитоскелета, архитектура которого часто определяется одним ЦОМТ, актиновый цитоскелет постоянно **собирается и разбирается в ответ на локальную активность сигнальных систем**. Напр., выступающие, разветвленные сети актиновых филаментов, такие как в ползающих лейкоцитах, собираются на ведущем крае клетки в ответ на сигналы ниже по течению от рецепторов клеточной поверхности, которые направляют хемотаксис. Сборка пучков сократительных актиновых филаментов, известных как стресс-фибриллы, например, в адгезивных фибробластах, запускается локально, когда интегрины на клеточной поверхности взаимодействуют со своими лигандами. На заключительных стадиях эндоцитоза сигналы от инвагинирующей плазматической мембраны запускают локальную сборку актиновых филаментов, помогая этой области мембраны интернализироваться в виде эндоцитарного пузырька. Основные **цитоскелетные комплексы**, образуемые микрофиламентами это кортикальная сеть, сократимое актомиозиновое кольцо в цитокинезе, лобподии,

ламеллоподии, филоподии, микроворсинки, двумерные субмембранные актин-спектриновые сети, стресс-фибриллы и миофибриллы мышечных клеток⁴⁸. Кроме своих обычных функций в цитоплазме, актин также обнаружен в **кариоплазме** эукариот, где воздействует на регуляцию транскрипции и системы репарации ДНК, а также опосредует движение и организацию хроматина⁴⁹.

Кортикальная сеть микрофиламентов, также называемая клеточным кортексом или кортикальным цитоскелетом выполняет функцию модулятора поведения мембраны и свойств клеточной поверхности. За счет присутствующего в ней миозина, кортикальная сеть может сокращаться, изменяя форму клетки. При цитокинезе у большинства эукариот формируется **сократимое актомиозиновое кольцо**, стягивающее мембрану и способствующее таким образом разделению клеток⁵⁰. **Лобоподии** – массивные псевдоподии, формируются многими амебоидными клетками за счет «выдавливания» цитоплазмы в определенном направлении, в ходе локальной деполимеризации кортекса и так называемого «генерализованного кортикального сокращения». В то же время в растущий конец лобоподии («гиалиновый колпачок») рекрутируется деполимеризованный G-актин, для сборки нового участка кортекса⁵¹. **Ламеллоподии** – уплощенные широкие псевдоподии, характерные, например, для фибробластов позвоночных, нарастают иначе, за счёт быстрой полимеризации разветвлённой (древовидной) актиновой сети, которая регулируется комплексом WAVE и физически толкает плазмалемму вперед. **Филоподии** – тонкие неветвящиеся клеточные выросты, они образуются за счёт полимеризации параллельного пучка микрофиламентов, стабилизированного фасцином⁵². Более статичные пучки микрофиламентов, связанные виллином и фимбрином формируют скелет **микроворсинок**, иначе называемых микровилли⁵³. Плоские **актин-спектриновые сети**, изначально обнаруженные в эритроцитах, подстилают плазматическую мембрану многих типов клеток, придавая ей дополнительную механическую устойчивость. **Стресс-фибриллы** формируются в некоторых подвижных клетках животных (в том числе, в фибробластах), заякореваясь за фокальные контакты они способствуют своеобразному растяжению клетки на межклеточном матриксе. Самые массивные структуры, содержащие актин – это **миофибриллы**, специализированные актомиозиновые комплексы в поперечно-полосатых мышечных клетках и синцитиях животных, ответственные за сокращение мышц в ответ на подачу нервного импульса⁵⁴.

Помимо выше перечисленных к важным **белкам, ассоциированным с актином (AAP)**, регулирующим его динамику можно отнести: формин, профилин, CapZ, кофилин, гельзолин, альфа-актинин, спектрин, тропомиозин и другие⁴⁶. **Белки, родственные актину**

(**Arp**), представляют собой семейство белков, имеющих явное сходство последовательностей с актином, но с отличными функциями. Наиболее важным является **комплекс Arp2/3**, отвечающий за нуклеацию сборки актиновых микрофиламентов⁵⁵.

Отдельно необходимо упомянуть **миозины** – семейство моторных белков, взаимодействующих с актином. Молекулы миозинов включают головной домен, который обладает АТФазной и актин-связывающей активностью и осуществляет хемомеханическую конверсию энергии, шейный и хвостовой домены. Шейный домен или «плечо рычага» содержит один или несколько связывающихся с кальмодулином повторов, регулирует активность миозина и определяет его ориентацию относительно актина, с ним также могут быть связаны регуляторные легкие цепи миозина. Хвостовой домен определяет специфичность связывания миозина с различными грузами и участвует в формировании димеров и более крупных миозимовых филаментов за счёт образования скрученных спиралей^{37,56}. Миозины подразделяются на множество (не менее 79 классов), широко дивергировавших по эукариотическому древу жизни^{57,58}.

Механизм работы миозинов основан на цикле взаимодействия с актином, который состоит из нескольких стадий: связывание АТФ, гидролиз АТФ, удаление фосфата, рабочий ход и удаление АДФ. В зависимости от класса миозина, скорость этих стадий могут варьироваться⁵⁹. Регуляция активности миозинов может осуществляться различными способами, включая фосфорилирование, связывание с лигандами, изменение концентрации кальция или взаимодействие с другими белками⁶⁰.

MreB, распространенный **прокариотический гомолог актина**, образует спиральную структуру под плазматической мембраной палочковидных клеток бактерий, регулируя синтез клеточной стенки и участвуя в некоторых механизмах скользящего движения. Функции других актиновых гомологов могут дополнять или дублировать функции гомологов тубулина, например, FtsA взаимодействует с FtsZ и участвует в делении клеток, а ParM отвечает за сегрегацию плазмид. У Crenarchaeota обнаружен кренактин, функция которого также, предположительно, связана с делением⁶¹.

§ 1.3. Классические промежуточные филаменты.

Промежуточные филаменты (Intermediate filaments, IFs, ПФ) в среднем, толще актиновых микрофиламентов, но тоньше микротрубочек. Их диаметр на электронно-микроскопических срезах составляет 8-12 нм. Промежуточные филаменты широко представлены в большинстве типов клеток позвоночных животных, но их обнаружение за пределами данной группы весьма эпизодическое¹.

Основная функция промежуточных филаментов и нескольких ассоциированных с ними белков заключается в буферизации сил сжатия и поддержке мембран⁶². Один класс широко экспрессируемых промежуточных филаментов, состоящий из полимеризованных ядерных ламинов, вносит вклад в механическую целостность эукариотического ядра, а фосфорилирование ядерных ламинов с помощью циклин-зависимых киназ помогает запустить разборку ядерной оболочки в начале митоза¹.

На сегодняшний день нет удовлетворительного определения для отнесения тех или иных белков к группе промежуточных филаментов. Ввиду слабой гомологии, наиболее точное определение должно быть основано не на их первичных последовательностях, а на **общих чертах**. К этим чертам относятся: автономное формирование филаментов, устойчивость к экстракции неионогенными детергентами и буферами с высоким содержанием солей, и трехчастная структура, включающая **центральный α -спиральный стержень и неспиральные головной (N-конец) и хвостовой (C-конец) домены**.

α -спиральный стержень отвечает за образование спиральных димеров, которые обычно, но не всегда, длиннее, чем то, что мы наблюдаем в других белках с подобными мотивами (например, в миозине). Димеризоваться могут как одинаковые, так и разные ПФ. Например, кератиновые филаменты не могут быть образованы каким-либо одним типом субъединиц, а только парами кератиновых полипептидов типов I и II (так называемое кератиновое спаривание). Стержневой домен ПФ позвоночных описывается как консервативный по размеру (около 40 кДа), длине и расположению повторяющихся сегментов (спираль 1A, спираль 1B, спираль 2A, спираль 2B), содержащих гептадные повторы с гидрофобными аминокислотами в первой и четвертой позициях, в то время как полярные остатки часто занимают пятую и седьмую позиции. Такие повторы необходимы для образования скрученных спиралей («coiled-coil») в ходе димеризации. Сегменты прерываются разными линкерными доменами (L1, L12 и L2). **Головные и хвостовые домены** разных ПФ отличаются по размеру, последовательности и пространственной структуре, предположительно из-за их взаимодействия с разными белками в контексте специфических функций. Белки ПФ лишённые концевых доменов, теряют способность собираться из димеров в более крупные комплексы⁶².

Димеры далее собираются в тетрамеры, а те – в неполяризованные протофиламенты, которые образуют конечные **промежуточные филаменты**. Протофиламент может состоять из тетрамеров, упакованных встык; два протофиламента могут образовывать одну протофибриллу. «Типичный» ПФ образован четырьмя протофибриллами, что соответствует $4 \times 2 \times 4 = 32$ белковым субъединицам на поперечном сечении. Легкие и

тяжелые филаменты могут иметь соответственно меньше или больше протофибрилл. Электронная микроскопия показывает, что протофибриллы спирально закручены в нить с шагом 92 нм. Это приводит к периодичности $92 / 4 = 23$ нм по длине филамента⁶³.

Промежуточные филаменты являются наиболее упругими из трех основных типов цитоскелетных структур, они намного эффективнее сопротивляются силам растяжения и сжатия. Несколько типов промежуточных филаментов в экспериментах были растянуты без разрыва более чем вдвое, относительно их длины покоя. Считается, что эта большая растяжимость связана с иерархической структурой ПФ, которая позволяет частично разворачивать субъединицы без разрыва филамента³⁵.

Наиболее типичные структуры, формируемые ПФ, представляют собой **трехмерные рыхлые сети**, равномерно распределенные по всей цитоплазме и переплетенные с другими компонентами цитоскелета. ПФ могут быть сшиты друг с другом, а также с актиновыми филаментами, микротрубочками и поверхностью ядра с помощью белков, называемых плектинами.

ПФ, однажды образовавшись, почти нерастворимы в физиологических условиях *in vitro*. Однако сети ПФ в живых клетках остаются динамичными и **могут подвергаться обратимой реорганизации**. Например, сети виментина и кератиновых филаментов частично исчезают в начале клеточного деления. Молекулы кератина и виментина собираются внутри сфероидных телец, разбросанных по всей цитоплазме митотических клеток. Ферментативное фосфорилирование белков ПФ может быть одним из механизмов, регулирующих состояние сборки филаментов. Кроме того, активируемые кальцием протеазы оказались специфичными для определенных типов белков ПФ².

Экспрессия белков различных ПФ в процессе эмбрионального развития **коррелирует с дифференцировкой различных типов тканей**. Например, яйцеклетки и все клетки ранних эмбрионов мыши содержат кератины. Однако, когда первичные мезенхимальные клетки мигрируют из эмбриональной эктодермы, их цитоскелет резко изменяется; кератиновые нити заменяются на виментиновые. Таким образом, каждая крупная ткань, образующаяся в ходе эмбриогенеза, приобретает свой специфический тип белков ПФ².

Белки, ассоциированные с промежуточными филаментами (IFAP) участвуют в связывании IF друг с другом и с другими клеточными структурами. Филагрин – основной белок (молекулярная масса 30 кДа), способный агрегировать *in vitro* все типы ПФ, так что формируются большие пучки этих филаментов. Два различных высокомолекулярных белка

синемин (230 кДа) и паранемин (280 кДа), связаны с десминовыми филаментами в мышечных клетках, а также с некоторыми, но не всеми, виментиновыми филаментами в мышечных и немышечных клетках. Каркасы ПФ, приготовленные из культивируемых клеток, содержат значительные количества плектина (около 300 кДа), как уже говорилось, этот белок опосредует связь ПФ с другими компонентами цитоскелета².

У млекопитающих было идентифицировано около 75 различных генов, кодирующих белки ПФ, которые можно отнести к одному из **шести классов белков ПФ**, признанных в настоящее время. На основе таких критериев как гомология последовательностей, характер сборки, общая структура и свойства растворимости, белки ПФ у млекопитающих подразделяются на 6 классов: кератины типа I (кислые), кератины типа II (основные), тип III, который, например, включает виментин и десмин, тип IV, который включает нейро- и мышечно-ассоциированные филаменты, состоящие из NF-L, -M, -H и нестина, типа V, который объединяет ламины (белки ядерной пластинки), и типа VI, члены которого часто описываются как не попадающие в другие классы⁶⁴.

В отличие от актина и тубулина последовательности белков ПФ недостаточно консервативны, чтобы их можно было легко обнаружить в эукариотических геномах с использованием стандартных филогенетических методов. Поэтому долгое время считалось, что эти цитоскелетные структуры характерны только для животных. Только недавно гены, кодирующие гомологи ламина, были идентифицированы в широком диапазоне эукариотических линий⁶². Это позволяет сделать предположение о том, что ламины возникли на ранних этапах дивергенции эволюционных линий эукариот, а возможно присутствовали и у LECA⁶⁵.

ПФ-подобные белки, некоторые из которых будут рассмотрены далее, многократно возникали в эволюции эукариот. Однако появление классических цитоплазматических белков ПФ, которые, по-видимому, формируют единое семейство и происходят от белков ядерной ламины, является уникальным для Eumetazoa и совпало с появлением истинной многоклеточности. Разнообразие же этих белков у животных, вероятно, является следствием адаптивной радиации, произошедшей в связи с развитием дифференцировки разнообразных типов клеток и тканей, для каждой из которых необходим свой комплекс механических характеристик цитоскелета⁶².

§ 1.4. ПФ-подобные белки и прочие «неконантические» цитоскелетные структуры.

Кресцентин (CreS), обнаруженный у бактерий *Caulobacter spp.* и определяющий изгиб их клеток, на данный момент является единственным **гомологом промежуточных**

филаментов, идентифицированным за пределами эукариот. Однако, у бактерий встречается ряд других белков, богатых мотивами скрученных спиралей (CCRPs, coiled-coil-rich proteins), способных организовываться в филаменты, например, FilP, участвующий в конечном росте у актинобактерий, или Cgv, локализованный в периплазматическом пространстве у *Vibrio spp.* и определяющий изгиб клеток. Сведения, относительно наличия гомологов промежуточных филаментов у архей, в т. ч. асгард-архей отсутствуют⁴².

С 1950-х годов у протистов были идентифицированы десятки белков цитоскелета, которые, по-видимому, не принадлежат ни к одному из семейств ПФ, описанных для многоклеточных животных, но со структурной и функциональной точки зрения хотя бы частично соответствуют указанным выше критериям и протоколы, используемые для их выделения, основаны на протоколах, используемых для белков ПФ позвоночных⁶².

К неканоничным цитоскелетным белкам можно отнести **SF-ассемблин** обнаруженный во многих линиях эукариот, **альвеолины**, **платины**, **эпиплазмины**, **тетрины** из покровного аппарата Alveolata, **артикулины** из эпиплазмы Euglenida и Alveolata, **жиардины** из прикрепительного диска *Giardia lamblia* и др⁶⁶. **ПФ-подобные** белки часто группируются на основании наличия в их структуре мотива скрученных спиралей. Многие из перечисленных белков (например, альвеолины и эпиплазмины) попадают в эту категорию, но также в неё попадают некоторые вирусные белки и молекулярные моторы. С другой стороны, например, артикулины не содержат спирально-скрученных участков. Альвеолины, тетрины и эпиплазмины не обнаруживают α -спирального стержневого домена, характерного для ПФ животных. Они могли независимо произойти от ламинов или любого древнего белка, содержащего скрученную спираль⁶⁵.

Ассемблины исчерченных волокон (SF-ассемблины, SFA) являются основным компонентом исчерченных волокон, связанных с микротрубочками (SMAF), также называемых **SMAC**, **фибрилярными жгутиковыми корешками системы I** или **исчерченными корешками**. SMAF и аналогичные структуры широко распространены, но SF-ассемблин больше всего изучен у монадных водорослей, например, у *Chlamydomonas reinhardtii*. Как следует из его названия, ассемблин связаны с микротрубочками корешков жгутика примерно на 75% своей длины. Ассоциация, по-видимому, частично обусловлена сродством SF-ассемблина к ацетилированному тубулину. В отличие от других ПФ-подобных волокон, которые обычно не поляризованы SF-ассемблин образует волокна с четко выраженными минусовыми (загнутыми или тупыми) и плюсовыми (коническими) концами. Филаменты формируются из протофиламентов размером 2 нм из отдельных

белков, организованных параллельно. При электронной микроскопии эти волокна имеют повторяющийся рисунок с периодом около 28 нм в длину⁶⁶.

SF-ассемблин имеет только один заметный неспиральный домен на N-конце и α -спиральный стержень, образующий остальную часть молекулы, с кластером кислотных остатков на C-конце. N-концевой домен длиной приблизительно 30 АК необходим для сборки SMAF, он имеет несколько потенциальных сайтов фосфорилирования, вероятно, участвующих в динамике белка. Интересно, что цистеины, способные образовывать дисульфидные связи между димерами, присутствуют в α -спиральных доменах⁶⁶.

Предполагается, что SF-ассемблин может принимать участие в восстановлении корневой системы микротрубочек после клеточного деления, стабилизируя микротрубочки. Другие исследования предполагают, что SF-ассемблин может функционировать как центр нуклеации. В случае недостаточной экспрессии SF-ассемблина клетки обнаруживают аномальные фенотипы, такие как уменьшенное количество жгутиков⁶⁶.

У *Paramecium sp.* обнаружены 30 генов, гомологичных SF-ассемблину, которые кодируют компоненты кинетодесмальных фибрилл (исчерченных корешков).⁶⁷ В другом исследовании было обнаружено, что кинетодесмы *Tetrahymena* собранные на основе SFA сшиваются с постцилиарными микротрубочковыми корешками и следующей кинетосомой посредством белков DisAp и Cro1p, соответственно⁶⁸.

Возможно, SF-ассемблину функционально аналогичны TVAG_339450 в косте *Trichomonas sp.*⁶⁹, FAZ1 в области прикрепления ундулирующей мембраны у *Trypanosoma brucei*⁷⁰, рутлетин у млекопитающих и предполагаемый белок CG6129 у *Drosophila melanogaster*⁷¹.

Септины представляют собой группу ГТФ-связывающих белков, обладающих способностью образовывать филаменты. В основном они были исследованы у грибов и животных, но обнаружены и в других ветвях эукариот, что указывает на их раннее происхождение. Их характеристика основана на наличии нескольких доменов: ГТФ-азный CDC домен с тремя мотивами (G1, G3, G4), многоосновная область, уникальный септиновый домен, C-концевая скрученная спираль и консервативные одиночные остатки в Sep1-4. Многоосновные области взаимодействуют с фосфолипидами. Скрученные спиральные домены присутствуют не во всех септинах, предполагаемая функция этих доменов — опосредование взаимодействия между отдельными септинами. Уникальный септиновый домен может также участвовать в формировании филаментов. Исследования

как на животных, так и на грибах указывают на множество функций септинов: цитокинез и кариокинез, образование барьеров между компартментами, цилиогенез, везикулярный транспорт, апоптоз и организация цитоскелета^{32,66,72}.

Наконец, необходимо обсудить ещё одно важное семейство белков, повсеместно распространенных среди эукариот и имеющих тесные связи с цитоскелетом. **Центрины** представляют собой кальмодулин-подобные Ca^{2+} -связывающие белки, массой около 20 кДа, формирующие филаменты и способные к АТФ-независимому сокращению. Они содержат четыре EF-hand мотива спираль-поворот-спираль, участвующих в связывании Ca^{2+} . Центрины обязательно присутствуют в центриолях, в фибриллярных связках между ними, встречаются в переходной зоне и аксонеме жгутика, а также формируют сократимые **фибриллярные жгутиковые корешки системы II**, которые ещё называются **ризопласты** или **ядерно-кинетосомальные связки (NBBS)**⁷³.

Вероятно, наиболее универсальной функцией центринов, реализуемой даже у дрожжей, не имеющих центриолей, является ключевая роль в сборке ЦОМТ при его удвоении, которая однако, на сегодняшний день подробно не исследована. Сокращение центриновых фибриллярных корешков у зелёных водорослей также опосредует изменение функционирования жгутикового аппарата в ходе фототаксиса. Наконец, была показана неожиданная роль центрина в регуляции процессов эксцизионной репарации и выяснено, что большая его часть локализована в кариоплазме⁷⁴.

Спазмины А и В, выделенные из **спазмонемы** инфузорий-своек, оба имеют вес 20 кДа, связывают Ca^{2+} и сокращаются АТФ-независимо. Показано, что эти белки также относятся к семейству центринов⁷⁵. **Сократимая сеть**, расположенная в кортексе крупной инфузории *Spirostomum sp.*, которая позволяет ей паразитально быстро сокращать своё удлинённое тело включает два основных Ca^{2+} -связывающих белка (спазмины 1 и 2) и два гигантских белка (GSBP1 и GSBP2), которые действуют как основа и позволяют связывать сотни спазминов⁷⁶. Можно предположить, что и другие АТФ-независимые сократимые органеллы эукариот, различные **мионемы** и **миофриски**, также образованы центрин-подобными белками.

§ 1.5. Микротрубочковый цитоскелет. Центры организации микротрубочек.

Тубулины – это глобулярные ГТФ-связывающие белки с молекулярной массой около 55 кДа белок, из которых состоят микротрубочки. Тубулины имеют трехдоменную структуру с N-концевым доменом связывания ГТФ (домен связывания нуклеотидов - NBD), промежуточным доменом, взаимодействующим с таксолом (препаратом,

стабилизирующим микротрубочки), и С-концевым доменом. Последовательности тубулинов очень консервативны^{77,78}.

Димер **α - и β -тубулина** является строительным блоком микротрубочек. Гетеродимеры связаны друг с другом по принципу «голова к хвосту» с образованием **протофиламентов**. Несколько (обычно 13) протофиламентов образуют микротрубочки посредством латеральной ассоциации. Протофиламенты тубулина имеют два различных конца; минус-конец с открытым α -тубулином и плюс-конец β -тубулина. Полимеризация происходит на обоих концах, но быстрее на плюс-конце. Из двух субъединиц только β -тубулин может гидролизовать ГТФ; присутствие ГТФ имеет решающее значение для способности гетеродимера полимеризоваться на плюс-конце⁷⁷. Сообщалось, что α - и β -тубулин иногда принимает форму, отличную от канонической организации микротрубочек, например, в коноиде *Toxoplasma gondii* или спиральных филаментах Foraminifera⁶⁶.

Подобно α - и β -тубулину, **γ -тубулин** является обязательным компонентом эукариотических клеток. Основная роль этого белка заключается в нуклеации сборки микротрубочек. Поэтому его можно найти в составе центриолей и других ЦОМТ⁷⁹. Изоформы **δ -**, **ϵ -** и **ζ -тубулина** обнаруживаются в жгутиках и/или кинетосомах, и в целом они специфичны для организмов с такими структурами.⁸⁰

Поверхность микротрубочек заряжена отрицательно, поскольку **С-концевые хвосты** α - и β -тубулинов содержат несколько кислых АК-остатков и расположены на внешней поверхности. Эти С-концевые хвосты (также называемые E-hooks, потому что они богаты глутаматом) являются ключевыми местами взаимодействия для многих MAPs и мишенью для разнообразных **посттрансляционных модификаций**. Эти модификации влияют на стабильность, свойства и функции микротрубочек, а также на их способность связываться с MAPs и другими белками. Например, ацетилированный тубулин обычно присутствует в стабильных микротрубочках, таких как микротрубочки аксонемы и способствует транспорту кинезина по ним. Картина модификаций тубулина создает так называемый **тубулиновый код** (по аналогии с гистоновым кодом)^{81,82}.

Микротрубочки являются самыми жесткими из трех полимеров и имеют наиболее сложную динамику сборки и разборки. Персистентная длина микротрубочек, мера гибкости филамента, которая увеличивается с увеличением жесткости, настолько велика (~ 5 мм), что отдельные микротрубочки могут проходить через всю клетку целиком. Во время интерфазы многие клетки пользуются преимуществом этой жесткости, собирая радиальные массивы микротрубочек, которые функционируют как центральные узлы и «магистраль»

для внутриклеточного трафика. Микротрубочка может переключаться между двумя состояниями: стабильно растущей и быстро сжимающейся. Эта «**динамическая нестабильность**» позволяет цитоскелету микротрубочек быстро реорганизовываться. Во время митоза, микротрубочковый цитоскелет перестраивается в высокоточную ДНК-сегрегирующую машину, называемую **митотическим веретеном**. Способность митотического веретена находить и выравнивать хромосомы частично зависит от сложной динамики сборки индивидуальных микротрубочек^{1,77}.

Белки, связанные с микротрубочками (МТВР) регулируют их структуру и динамику. Как уже отмечалось ранее γ -тубулин и образуемые им комплексы γ -TuRC и γ -TuSC осуществляют нуклеацию сборки микротрубочек. Стабилизирующие белки XMAP215, CLASP, EB1 предотвращают разборку и «катастрофы» микротрубочек. К стабилизирующим белкам относятся и более узкая совокупность белков ассоциированные с микротрубочками (MAPs), таких как Tau-белки, MAP2, MAP4 и белки STOP. Статмин, катанин, спастин и некоторые другие, напротив, способствуют разборке микротрубочек. MAP65, MAP2 и Tau-белки, опосредуют объединение микротрубочек в пучки, а белки семейства APC и плакины – их соединение с другими компонентами цитоскелета.^{79,83}

С микротрубочками взаимодействуют два суперсемейства **моторных белков**: кинезины и динеины. Члены суперсемейства **кинезинов** имеют общий консервативный моторный домен (головку), но различные хвостовые домены, опосредующие связь с разными грузами. Как и другие моторные белки, кинезины обычно функционируют в виде димеров, переплетённых хвостами, головки при этом поочерёдно взаимодействуют с тубулином, осуществляя характерное «шагающее» движение. Большинство кинезинов перемещаются в направлении плюс-конца микротрубочек^{84,85}.

Динеины устроены более сложно. Моторный домен находится в тяжелой цепи динеина, полипептиде массой около 500 кДа. С-конец тяжелой цепи включает шесть tandemных повторов домена AAA («АТФазы, связанные с разнообразной клеточной активностью»). Эти шесть модулей сворачиваются с образованием гексамерного кольца. Основной АТФазный сайт находится в AAA1. Выпетливание между AAA 4 и 5 формирует тонкую ножку, на конце которой находится участок связывания с тубулином. Далее к N-концу идут линкерный и хвостовой домены. Хвостовой домен взаимодействует с промежуточными и лёгкими цепями динеина, а через них – с различными грузами.^{86,87}

FtsZ, широко распространенный среди всех прокариот **гомолог тубулина**, играет ключевую роль в делении их клеток. Он формирует кольцо на месте будущей перегородки

и рекрутирует другие белки, необходимые для синтеза клеточной стенки и мембраны. Другой бактериальный гомолог тубулина TubZ формирует динамические филаменты, которые обеспечивают сегрегацию некоторых плазмид или фаговых геномов между дочерними клетками. У *Prostheco bacter spp.* (Verrucomicrobia) обнаружены очень близкие гомологи эукариотических тубулинов VtubAB, формирующие микротрубочко-подобные структуры из нескольких протофиламентов. Можно предположить, что VtubAB являются продуктом горизонтального переноса генов от ранних эукариот⁴².

Центры организации микротрубочек (ЦОМТ, microtubule-organising centre, МТОС) - это структуры эукариотической клетки, на которых происходит нуклеация и закоревание микротрубочек. Основная функция этих центров состоит в пространственной разметке клетки за счет определённого распределения по цитоплазме полярных микротрубочек, относительно которых позиционируются все органеллы и структуры эукариотической клетки. Таким образом ЦОМТ является своеобразной точкой отсчёта в клеточной системе координат⁸⁸.

Наиболее известным типом ЦОМТ является **центросома**, которая обычно располагается вблизи ядра и состоит из пары центриолей, окруженных перицентриолярным материалом (PCM), в котором могут быть заметны небольшие тельца – **сателлиты**. **Перицентриолярный материал** состоит из нескольких внешне неразличимых слоёв, содержащих различные белки. Во внутреннем слое локализованы CEP120 и CEP192, показано что CEP192 связывает и активирует киназы Aurora A и Plk1, а также запускает сборку γ -тубулинового кольца (γ -TuRC) через Nedd1⁸⁹. Средний слой содержит CEP152. Наружный слой содержит большое количество γ -тубулина, а также Nedd1 и CDK5RAP2. Перицентрин и CEP215 проходят через все слои и возможно являются матриксом, удерживающим PCM вместе. Во время митоза PCM значительно расширяется, нуклеируя большое количество микротрубочек для образования веретена деления, это расширение регулируется Polo-подобной киназой 1(Plk1)⁹⁰.

Существует предположение, что именно перицентриолярный материал, а не находящиеся в нём центриоли является основным компонентом ЦОМТ. Центриоли же в рамках этого предположения рассматриваются как пассивные пассажиры, зачатки жгутиков, ожидающие, когда наступит нужный момент клеточного и жизненного цикла, чтобы быстро дать начало жгутику⁸⁸. Это предположение подтверждается тем фактом, что в некоторых случаях PCM может существовать без центриолей и сохранять при этом функции поддержания неподвижных ресничек у *C. elegans*⁹¹ или даже подвижных жгутиков у *Chlorogonium elongatum*⁹².

Центриоли представляют собой сложные структуры длиной около 500 нм., которые обычно включают девять триплетов микротрубочек и высококонсервативный набор ассоциированных с ними белков и структур⁹³. В отдельных редких случаях centrioles могут состоять из девяти дублетов (протуры *Acerentomon*) или синглетов (*Caenorhabditis elegans*) или иметь неправильную форму (детритницы *Sciara sp.*)⁹. Центриоли подвергаются сложному процессу **репликации**, при которой новые centrioles появляются под углом примерно 90° от родительских centrioles ближе к их проксимальной части. Эта репликация запускается Polo-подобной киназой 4 (Plk4) и обычно тесно координируется с клеточным циклом и сборкой митотического веретена. В некоторых случаях сборка centrioles может происходить *de novo*, без привязки к материнской centriole⁹⁴. В случае наличия в эукариотической клетке жгутиков, centrioles оказываются в их основании, в таком случае они носят название **кинетосомы** или **базальные тельца жгутиков**.

Эта терминологическая двойственность может создавать проблемы в сопоставлении данных получаемых в различных сферах биологии и медицины для свободных centrioles и кинетосом жгутиков. В действительности не описано ни одного случая, когда в эукариотической клетке одновременно присутствовала бы centrosoma, координирующая клеточное деление и независимо от неё жгутиковый аппарат, не участвующий в этом процессе, поэтому **необходимо рассматривать кинетосому и centriole как единую структуру**, пребывающую в разных функциональных состояниях.

Микротрубочки centrioles очень сильно стабилизированы, это может достигаться за счёт связывания с другими белками и модификаций тубулина, таких как глутамилирование. Предполагается, что такие белки как CP110 и CEP-97 могут кэпировать плюс-концы микротрубочек centrioles, предотвращая их удлинение. Из трёх микротрубочек в триплете только А является полной (13 филаментов), а микротрубочки В и С содержат по 10 филаментов. В проксимальной части centrioles находится «**тележное колесо**» (**cartwheel**) содержащее белок SAS6, показано, что эта структура участвует в процессе сборки centrioles и задает им характерную 9-лучевую симметрию⁹⁵. Основную внутреннюю часть centrioles занимает **спиральный внутренний каркас**, содержащий белки POC5, POC1B, FAM161A и центрин⁹⁶.

На поверхности centrioles располагаются **субдистальные придатки**, их также называют **перичентриолярные сателлиты** (не путать с сателлитами в PCM), а в жгутиковых кинетосомах – **базальные ножки – basal feet**). Эти придатки участвуют в заякоривании микротрубочек во время интерфазы и не всегда расположены симметрично, например, в клетках ресничного эпителия животных наблюдается одна крупная базальная

ножка (basal foot). В их состав входят такие белки как нинеин, центриолин, CEP-170 и ϵ -тубулин. На конце центриолей находятся **дистальные придатки**, содержащие Odf2 и CEP-164, в кинетосомах они контактируют с плазмалеммой и называются **переходные фибриллы**. В большинстве случаев центриоли связаны друг с другом в проксимальной части одной или несколькими **фибрилярными (межцентриолярными) связками**, в состав которых входят такие белки как рутлетин, бета-катенин и C-NAP1. В ходе репликации centrosомного цикла эта связка разрывается, разделение контролируется киназой Nek2. Белковый состав всех перечисленных структур в настоящее время активно исследуется, но общее понимание их состава и функций далеко от полноценного⁹⁷.

В различных типах дифференцированных клеток животных, например, нейронах или эпителиоцитах могут формироваться так называемые **не-центросомные ЦОМТ (нцЦОМТ)**, заякоряющие микротрубочки, не связанные с centrosомой⁹⁸. У высших растений centrosома отсутствует, а нцЦОМТ представлены диффузными областями в цитоплазме или на различных внутриклеточных мембранах и ядерной мембране. Эти ЦОМТ также содержат γ -тубулин и другие белки, необходимые для нуклеации микротрубочек. Вообще говоря, нуклеация сборки микротрубочек при помощи γ -тубулиновых комплексов может быть связана с поверхностью различных органелл, в т. ч. комплекса Гольджи, митохондрий или уже собранных микротрубочек^{99,100}.

У некоторых эукариот, в особенности у тех, которые не имеют жгутиковых стадий в жизненном цикле, место centrosомы занимают разнообразные **неканоничные ЦОМТ**, например, **полярное тельце веретена (SPB)** у высших грибов, **центропласт** у центрохелидных солнечников, **электроплотная бляшка веретена (ESP)** у микроспоридий, **ядерно-ассоциированные тельца (NAB)** у диктиостелевых слизевиков и т. д. По крайней мере для SPB дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* доказано, что оно включает многие белки, характерные для centrosом^{101,102}.

§ 1.6. Ультраструктура жгутикового аппарата эукариот

Соотношений понятий «жгутик» («flagellum») и «ресничка» («cilia») несколько запутано как в русскоязычной, так и в англоязычной литературе. Обычно указывают на то, что реснички короче жгутиков, более многочисленны, способны к биению только в одной плоскости и не имеют бесжгутиковой кинетосомы, и применяют этот термин обычно к ресничкам инфузорий, мерцательного эпителия, а также к неподвижным сенсорным ресничкам и первичным ресничкам (primary cilia) клеток животных¹⁰³. Однако каждый из перечисленных критериев соблюдается не строго и многие структуры у протистов и водорослей традиционно называемые жгутиками, также попадают под один или несколько

из них. В англоязычной литературе иногда «flagellum» применяют к жгутикам бактерий, а «cilia» к жгутикам эукариот. При детальном рассмотрении очевидно, что в случае эукариот речь идет об одних и тех же структурах и разница в наименовании здесь диктуется только сложившейся традицией.

Жгутиковый аппарат эукариот возник независимо от жгутиков бактерий и «археллумов» архей и имеет принципиально иную организацию. По сути он представляет собой одетое мембраной продолжение микротрубочкового цитоскелета, приспособленное для локомоции в толще жидкости¹⁰⁴.

Основу жгутикового аппарата эукариот составляют **базальные тела** жгутиков или **кинетосомы**, которые, как обсуждалось ранее, являются центриолями, часть микротрубочек которых продолжаются в мембранные выросты (**ундулиподии**) и формируют цитоскелетные стержни жгутиков – **аксонемы**. Кинетосомы, формирующие жгутки закреплены к плазматической мембране своими **дистальными придатками (переходными фибриллами)**, область этого прикрепления, где происходит переход от характерной для кинетосом архитектуры «9*3+0», к характерной для аксонем «9*2+2» носит название **переходной зоны**^{105,106}.

Для эукариот можно выделить следующие варианты организации жгутикового аппарата: **по расположению жгутиков**: переднежгутиковый («акроконтный») и заднежгутиковый (опистоконтный); **по количеству жгутиков**: одножгутиковый (униконтный), двужгутиковый (биконтный) и многожгутиковый («цилиарный»); для двужгутикового, **по длине и строению**: изоконтный (одинаковой длины и строения), анизоконтный (разной длины и одинакового строения), гетероконтный (разной длины и строения); для двужгутикового, **по направлению работы**: изодинамический (работают в одном направлении) и гетеродинамический (работают в разных направлениях); для одно- и многожгутикового, **по наличию второй бесжгутиковой кинетосомы**: монокинетосомальной (нет), бикинетосомальный (есть)¹⁰⁷.

Общая структура кинетосом была подробно описана в предыдущем параграфе, однако стоит отдельно остановиться на так называемом **корешковом аппарате жгутика**. Это совокупность протяженных структур различной природы, которые отходят от кинетосом, фибриллярных связок или РСМ и заякоревывают жгутиковый аппарат к ядру или другим органеллам, а также участвуют в пространственной организации клетки. В него входят фибриллярные и микротрубочковые корешки. **Фибриллярные корешки** могут быть гладкие или, что гораздо чаще, поперечно-исчерченные, последние подразделяются

на **фибриллы системы I** (состоят из **SF-ассемблина**, имеют исчерченность 25-35 нм., часто ассоциированы с микротрубочками и не сократимы) и **фибриллы системы II** (состоят из **центрина**, имеют исчерченность 80 нм. и сократимы). Структура этих корешков у разных эукариот варьирует нерегулярно и сложно пронаблюдать какую-либо гомологию между ними. Куда сложнее устроена система **микротрубочковых корешков**, которые выглядят как упорядоченные ленты или пучки микротрубочек, часто содержащие определённое их число. Эта система представляет собой уникальный пример сочетания консервативности и варибельности на уровне всего эукариотического древа жизни, поэтому изучение и гомологизация микротрубочковых корешков представляют особый интерес для биосистематики (см. Рис. 2 в Приложениях)¹⁰⁸.

Для большинства эукариот, имеющих жгутиковые стадии характерен либо биконтный (*Diaphoretickes* и большинство других), либо униконтный бикенетосомальный (*Opisthokonta*) жгутиковый аппарат, а в случае многожгутиковости это, как правило, результат амплификации всё той же двухкинетосомной структурной единицы (**кинетиды**). Таким образом можно предположить, что **бикинетосомальное состояние** исходно для эукариот. Также было отмечено, что у большинства жгутиконосцев с каждой из кинетосом связано два микротрубочковых корешка, для их обозначения Ø. Moestrup была предложена **универсальная номенклатура**, основанная на биогенезе жгутикового аппарата¹⁰⁹.

Отметим, что одно базальное тельце (обычно – **переднее**, несущее передний жгутик у «*Excavata*» или опушенный жгутик у *Stramenopiles*) моложе чем другое и сформировалось непосредственно перед делением материнской клетки, а другое досталось ей от предыдущего поколения. **Более молодое** базальное тельце маркируют как базальное тельце 2 или **BB2**, а **более старое** (обычно – **заднее**), как **BB1**. Если мы знаем, какое из двух базальных телец является старшим (BB1), то мы можем определить правую или левую стороны клетки и идентифицировать четыре различных микротрубочковых корешка. Два из них R1 и R2, а также, часто ещё один синглетный корешок SR связаны с BB1, а R3 и R4 связаны с BB2¹⁰⁹.

N.Yubuki и B. S. Leander провели обширный сравнительный анализ имеющихся данных об ультраструктуре корешкового аппарата различных эукариот (см. Рис. 1. в Приложениях, нижняя часть) и выяснили следующие детали: **Корешок R1** берет начало с левой стороны BB1 и простирается к левой стороне клетки. R1 связан с особой **многослойной структурой (MLS)** у *Streptophyta* или гомологичному ей C-волокну у *Discoba*. **Корешок R2** часто расщепляется на две отдельные ленты микротрубочек – **внешнюю (oR2)** и **внутреннюю (iR2)**. Они укрепляют с двух сторон вентральную

бороздку, на дне которой у многих жгутиконосцев происходит фагоцитоз. Функциональная связь микротрубочек R2 с питательными структурами распространяется на многие группы эукариот. **Синглетный корешок (SR)** образован одиночной микротрубочкой, которая начинается на BB1 и распространяется к заднему концу клетки, между микротрубочками R1 и R2, поддерживая питательный аппарат. **Корешок R3** происходит от базального BB2 и изгибается по часовой стрелке к переднему концу клетки. R3 функционирует как ЦОМТ для массива поверхностных микротрубочек, поддерживающих дорсальную поверхность мембраны. В *Discoba* этот ряд поверхностных микротрубочек называется «дорсальным веером». **Корешок R4** широко распространен по всему дереву эукариот, отсутствует только у представителей ветвей *Amorphea* и *CRuMs*. Этот корень образует полосу всего из нескольких (менее пяти) микротрубочек, которые берут начало с вентральной стороны BB2 и тянутся к левой стороне клетки⁸.

В ходе деления жгутиковых клеток эукариот происходит так называемая **жгутиковая трансформация**, при которой незрелый жгутик, связанный с BB2, переходит в следующем поколении в другое (зрелое) состояние. BB2 при этом превращается в BB1, а связанные с ней R3 и R4 трансформируются в R1 и R2 соответственно. Такой порядок трансформации широко распространен, но был утрачен у *Opisthokonta*, включая *Metazoa*⁸.

Переходная зона (ПЗ), обычно имеет структуру «9*2+0» и длину около 200 нм. Помимо дистальных придатков кинетосомы связь жгутика с мембраной поддерживается расположенными в переходной зоне **Y-связками**, которые соединяют каждый микротрубочковый дублет с плазмалеммой. Динеиновые ручки на дублетах в области ПЗ отсутствуют. Почти все ПЗ имеют заметную плотную **поперечную (переходную) пластинку**, которая в сочетании с Y-связками и ассоциированными с ними белками является пассивным барьером для диффузии более крупных молекул или везикул в ресничку, тем самым сохраняя ее как отдельный компартмент. ПЗ менее консервативна, чем остальная часть аксонемы, и отличается большим структурным разнообразием. По крайней мере, три уникальные структуры, связанные с ПЗ, соответственно характерны для трех монофилетических таксонов протистов. Это **звездчатая структура** у *Viridiplantae*, **центральный филамент** у *Choanoflagellata* и **переходная спираль** у *Stramenopiles*. Также предложено разделять ПЗ на **два широких типа**: тип I (более короткая проксимальная ПЗ) и тип II (более длинная)¹⁰.

Аксонема эукариотического жгутика представляет собой макромолекулярный комплекс из, как минимум, 250 различных белков, которые расположены таким образом, чтобы преобразовывать работу динеиновых моторов в изгибающее движение.

Аксонемные тубулины подвергаются нескольким типам посттрансляционных модификаций, включая ацетилирование α -тубулина и полиглутамилирование и полиглицилирование как α -, так и β -тубулина. Диаметр аксонемы – 250 нм, а её длина широко варьирует от 1-2 мкм до более чем 100 мкм. Каноничная структура аксонемы «9*2+2» сформирована **девятью микротрубочковыми дублетами**, которые представляют собой продолжающиеся А и В микротрубочки триплетов кинетосомы и **два центральными синглетами**, которые начинаются в точке превращения переходной зоны в аксонему и часто продолжают в дистальной части жгутиков дальше микротрубочковых дублетов, взаимодействуя с **комплексом кончика**^{110,111}.

Структура «9*2+2» была обнаружена в 1959 г. Б. Афцелиусом, который описал «ручки» и «спицы», прикрепляющиеся к дублетам микротрубочек, а также предложил систему нумерации дублетов согласно которой проводится перпендикуляр от прямой, идущей через центральный синглет и этот перпендикуляр указывает на первый дублет, а далее дублеты нумеруются по часовой стрелке (при взгляде «из клетки»). От А-микротрубочки каждого из девяти дублетов (кроме дублета 5, где находится 5-6 мостик) к В-микротрубочке следующего по номеру дублета по часовой стрелке тянутся **наружные (ODA)** и **внутренние динеиновые ручки (IDA)**, а также **нексиновые связки** или динеин-регулирующие комплексы (DRC)^{112,113}. Также от каждой А-микротрубочки в центр направлены радиальные спицы (RS), они взаимодействуют с центральными синглетами, которые, вместе с окружающим их сложноорганизованным белковым чехлом образуют аппарат центральной пары (CP)¹¹⁴.

Радиальные спицы (RS) и центральная пара (CP) по-видимому, модулируют активность динеина. Несколько линий доказательств указывают на то, что система CP/RS принципиально не требуется для формирования и распространения жгутиковых изгибов. Скорее, CP/RS участвуют в передаче сигналов для контроля свойств изгиба и модификации подвижности в ответ на специфические сигналы. Регуляция плеч динеина с помощью CP/RS включает фосфорилирование/дефосфорилирование белков¹¹⁵.

Динеин-регулирующий комплекс (DRC) представляет собой структуру на стыке между радиальными спицами и внутренней динеиновой ручкой. Считается, что DRC важен для закрепления динеина внутренней ручки и для соединения её с радиальными спицами. Нексиновые или междублетные связки, входящие в состав этих комплексов, вносят вклад в эластическое сопротивление, участвующее в преобразовании скольжения микротрубочек в изгиб аксонемы¹¹⁶.

Глава 2. Систематический обзор особенностей ультраструктуры цитоскелета и жгутикового аппарата одноклеточных представителей супергруппы **Opisthokonta**

§ 2.1. Современная система эукариот и филогения **Opisthokonta**

В соответствии с актуальным консенсусом в филогенетической систематике, эукариот принято подразделять на несколько крупных эволюционных ветвей – супергрупп и большее число мелких, часто монотипических, «микро-царств» или линий-«сирот». Среди супергрупп обычно называют **Discoba** и **Metamonada** (ранее объединяемых в группу «Excavata»), **Archaeplastida**, **SAR** (включающих Stramenopiles, Alveolata и Rhizaria, в последнее время используется также TSAR, включая ещё и Telonemia), **Amoebozoa** и **Opisthokonta** (в последнее время часто употребляется название Obazoa, объединяющее Opisthokonta и две небольшие родственные им группы – Breviatea и Apusomonadida). Также к супергруппам иногда причисляют более мелкие группировки **Haptista** и **Cryptista** (ранее входившие в группу «Nasrobia») и недавно объединенных **CRuMs** и **Provora**. Базируются описанные представления, в первую очередь на постоянно пополняющихся данных геносистематики, поэтому стоит учитывать, что все эти эволюционные построения, как и те, о которых пойдет речь далее, могут быть с течением времени значительно пересмотрены, в случае появления новых массивов данных или совершенствования методов их анализа.^{12–14,117–124}

В попытках укоренить эукариотическое древо жизни и уточнить эволюционные отношения между супергруппами, их иногда объединяют и в более крупные «мегагруппы», такие как **Diaphoretickes** и **Amorphea**. Интересно, что такое разделение, хотя уже и не базируется на количестве жгутиков, но восходит к делению эукариот на Unikonta и Bikonta, предложенному ещё Кавалье-Смитом в 1990-е, однако, стоит иметь ввиду, что современные Diaphoretickes не полностью соответствуют Bikonta.^{13,125,126}

Amorphea (Adl et al., 2012) (греч. «а» — без; и «morphé» — форма) примерно советует Unikonta Кавалье-Смита и до сих пор иногда фигурирует под таким названием. Эта мегагруппа объединяет ряд небольших базальных групп протистов – Ancyromonadida, Malawimonadida и CRuMs (Collodictyonida, Rigifilida и Mantamonadida), а также две крупные супергруппы Amoebozoa и Opisthokonta (Obazoa). Родство этих двух супергрупп было показано ещё в конце прошлого века на основании таких признаков, как наличие миозина- II и запасание гликогена.^{13,125–127} Хотя на сегодняшний день показано, что ни один из этих признаков не является уникальной чертой Amorphea^{128,129}, монофилия этой группы

поддерживается практически всеми современными филогеномными исследованиями^{14,118}. С точки зрения данной работы представляет интерес тот факт, что в пределах Амoebozoa и Opisthokonta часто наблюдается полная или частичная редукция микротрубочкового корешкового аппарата и жгутика в целом.^{8,130}

Впервые супергруппа **Opisthokonta** (Caval.-Sm., 1987, emend. Adl et al., 2005) была предложена Томасом Кавалье-Смитом на симпозиуме Британского микологического общества в 1986.^{125,131} Современное определение данной группы даётся в следующей формулировке: «Эукариоты с одиночным задним жгутиком без мастигонем [хотя у Choanoflagellata и Metazoa мастигонемы встречаются], присутствующим по крайней мере на одной из стадий жизненного цикла или вторично утраченным; с одной парой кинетосом или центриолей, иногда видоизмененных; имеют пластинчатые (реже трубчатые) кристы в митохондриях на одноклеточной стадии».¹⁴ Также в качестве молекулярных синапоморфий Opisthokonta указывают инсерцию из 12 аминокислот в факторе элонгации трансляции EF1-alpha.^{132,133}

К 2013 было окончательно установлено близкое родство Opisthokonta с Arusomonadida – бентосными жгутиконосцами с двумя передними гетеродинамическими жгутиками, отходящими от хоботка и Breviatea – амёбофлагеллятами с одним передним апикальным жгутиком, и предложена чуть более широкая супергруппа **Obazoa** (Brown et al., 2013), включающая все эти три таксона. К молекулярным синапоморфиям данной группы относят наличие в геноме генов интегринов и других ключевых компонентов интегрин-опосредованного адгезионного комплекса, которые, однако у части групп Opisthokonta (особенно Holomycota) были, вероятно, в той или иной степени утрачены.^{133–136}

Внутри Opisthokonta на основе филогеномных данных чётко подразделяются на две эволюционные линии – Holozoa и Holomycota (или Nucleomycea).^{14,131,134,132,137,138}

Линия **Holomycota** (Liu et al., 2009) или Nucleomycea (Brown et al., 2009) включает таксон Nucleariidae, объединяющий сферических амебoidов с длинными филоподиями и ротосферидных солнечников (Rotosphaerida), а также включает настоящих грибов (Fungi или Eumycota) и группы паразитических грибоподобных протистов Rozellida или Cryptomycota, Aphelida и особенно специализированных внутриклеточных паразитов – микроспоридий (Microsporidia).^{17,131} Последние три группы были объединены в группу Opisthosporidia (Karpov et al., 2014), которая, однако, вероятно является парафилетической

по отношению к грибам и в последних работах данные группы даже рассматриваются в составе Fungi.^{139–143}

К линии **Holozoa** (Lang et al., 2002) принадлежат многоклеточные животные (Metazoa), наши ближайшие родственники – воротничковые жгутиконосцы (Choanoflagellata), а также Filasterea, которые изначально включали два рода сферических амeboидов с длинными филоподиями, но позднее были расширены и ихтиоспоридами (Ichthyosporaea), к которым относятся, в основном паразиты водных животных, хотя есть и свободноживущие виды. Для всех групп Holozoa показана склонность к формированию многоклеточных агрегаций и развитие связанного с этим молекулярного инструментария, что и привело, в конечном счёте, к развитию сложной многоклеточности у Metazoa.^{16,144} В последние годы представления о разнообразии Holozoa были существенно расширены за счёт открытий группой Д. В. Тихоненкова и А. П. Мыльникова из Института биологии внутренних вод РАН ряда гетеротрофных жгутиконосцев. *Pigoraptor vietnamica* и *P. chileana* (Tikhonenkov et al., 2017) были включены в Filasterea. *Syssomonas multiformis* (Tikhonenkov et al., 2017) вместе с уже известным сферическим обитателем коралловых рифов *Corallochytrium limacisporum* (Raghuk, 1987), которого ранее включали в Ichthyosporaea образовали новую кладу Pluriformea. А точное положение *Tunicaraptor unikontum* (Tikhonenkov et al., 2020) среди Holozoa пока остаётся не ясным.^{145,146} Более того, данные метабаркодинга показывают, что значительная часть морских Holozoa остаётся ещё не описанной.¹⁴⁷

Далее будут рассмотрены основные сведения об общем строении, ультраструктуре цитоскелета и жгутикового аппарата, имеющиеся по каждой из групп одноклеточных Obazoa.

§ 2.2. Apusomonadida и Breviatea

Apusomonadida (Karpov & Mylnikov, 1989)¹⁴⁸ – небольшая группа свободноживущих бактериотрофных жгутиконосцев с двумя гетеродинамическими жгутиками, передний из которых направлен вперед и влево и окружен рукавообразным мембранным выростом («муфтой»), образующим гибкий хоботок, а задний (рулевой, рекуррентный) лежит в вентральной борозде. Жгутики лишены каких-либо параксиальных элементов или покровных структур (маститонем, чешуек). Обычно присутствует акронема. Размеры клеток обычно 5–10 мкм в длину, хотя некоторые виды могут достигать 20 мкм. Дорсальная область клеточной мембраны подстиляется плотным слоем эпиплазмы, который также поддерживает выступающую по краям клетки мембранную складку

(«юбку»). Эта складка ограничивает широкую вентральную борозду, из которой у многих родов могут формироваться псевдоподии. Кристы в митохондриях трубчатые или мешковидные. Единственная диктиосома аппарата Гольджи всегда находится у основания хоботка и связана с ризостилем. Цисты обнаружены только у одного вида, но все способны переносить высушивание. Для некоторых видов характерны плазмодии которые представляют собой несколько (иногда десятки) слившихся вентральными участками или псевдоподиями особей, сохраняющих свою индивидуальность. В центре таких плазмодиев иногда наблюдается пищеварительная вакуоль. Размножаются бинарным делением с открытым ортомитозом. Настоящий половой процесс у этих жгутиконосцев не обнаружен, но наличие плазмодиев в жизненном цикле морских видов позволяет предположить, что у них возможны парасексуальные процессы. *Apusomonas* — пресноводные и почвенные жгутиконосцы, часто встречаются в очистных сооружениях. Большинство других апузомонад, культивируемых на сегодняшний день, выделены из морских вод с пониженной солёностью^{14,148–150}.

В настоящий момент группа включает около 30 видов. В том числе 11 описаны в недавнем исследовании Guifré Torruella и соавт¹⁵¹. Виды распределены по 10 признанным родам: *Thecamonas*, *Manchomonas*, *Podomonas*, *Multimonas*, *Chelonomonas*, *Catacumbia*, *Cavaliersmithia*, *Karpovia*, *Mylnikovia* и *Singekia*, также существует "Amastigomonas-подобный" архетип, включающий виды, пока не отнесенные к другим родам.

Имеется несколько беглых отчетов об ультраструктуре апузомонад и подробные реконструкции жгутикового аппарата для *Apusomonas proboscidea*¹⁵². и *Thecamonas trahens*¹⁵³. Большинство молекулярно-генетических данных получено из *Thecamonas trahens*, для которого существует проект генома. Геном *Thecamonas trahens* кодирует несколько белков и путей, ранее считавшихся специфичными для животных, включая большую часть системы интегринов, которая участвует в формировании межклеточных контактов и адгезии у Metazoa¹⁴⁹.

Общая архитектура **жгутикового аппарата** Apusomonadida (см. Рис. 1. в Приложениях, нижняя часть, слева) достаточно сложна и близка по структуре к «экскаватному» типу, характерному для базальных групп эукариот.

Жгутиковый аппарат состоит из **двух кинетосом**, которые соединены двумя или тремя **фибрилярными связками**. Наиболее заметной из них является **многослойная фибриллярная структура (МФС, SC)**. Другая связка представляет собой широкий мостик между кинетосомами с электронно-плотной палочковидной структурой в середине.

Передняя кинетосома лежит справа от задней. Кинетосомы имеют длину около 500 нм. Проксимальный конец кинетосом обычно косо срезан. В дистальной части кинетосомы находится полый тонкостенный цилиндр, который на поперечных срезах выглядит как тонкая нить, связывающая короткие мостики, отходящие от А-трубочек. Цилиндр не заходит в переходную зону, упираясь в поперечную пластинку. Проксимальная часть каждой кинетосомы содержит хорошо заметное «тележное колесо» (**cartwheel**). Клоесообразная структура имеет длину примерно 100 нм и не заходит в скошенную область кинетосомы.

Дополнительных структур в **переходной зоне** не обнаружено. Переходная зона устроена довольно просто: поперечная пластинка расположена на уровне плазмалеммы и не всегда отчётливо различима, в нее упираются две центральные трубочки аксонемы.

Апузомонады, по-видимому, демонстрируют типичный эукариотический паттерн трансформации жгутиков во время клеточного цикла, с более молодыми передними кинетосомами (ПК, ВВ2) и более старыми задними (ЗК, ВВ1).

Задний правый корешок («RR»; эквивалент **R2** в универсальной терминологии Ø. Moestrup) направлен к ядру и вместе с диктиосомой и электронно-плотной структурой образует специфический комплекс органелл в основании хоботка. Он состоит из 8-16 микротрубочек, одна-две крайних левых, из которых (**iR2**) расходятся с остальными. Оставшаяся широкая лента микротрубочек – **ризостиль («RH», «RR7», oR2)** на поперечных срезах выглядит S-образно, микротрубочки в нем слегка раздвинуты и связаны между собой мостиками. Каждая микротрубочка несет продольные гребни с вентральной и дорсальной стороны, которые на выпуклой дорсальной стороне ризостиля объединяются общей пластинкой. В средней части корешка от пластинки отходят длинные дорсальные нити.

Задний левый корешок («LR», эквивалент **R1**) обычно содержит две микротрубочки. Многослойная структура (MLS), ассоциированная с ним у других эукариот, у апузомонад не наблюдается. Между остальными задними корешками проходит **синглетный корешок (SR)**.

Передний микротрубочковый корешок («AR», эквивалент **R3**) представляет собой дублет, который проходит через дорсальную поверхность клетки назад и влево.

Лента микротрубочек, отходящая от ПК иногда идентифицируется как ещё один («правый») микротрубочковый корешок (**«RM»**), но вероятно также, что она гомологична

системам вторичных периферических микротрубочек других эукариот. Лента начинается рядом с КП у МФС и включает около 10 микротрубочек.

Фибриллярный исчерченный корешок начинается примерно от середины КП с правой ее стороны и продолжается по внутренней стороне микротрубочковой ленты. На уровне кинетосомы он достигает в толщину до 90 нм, а в задней части постепенно истончается. Период исчерченности корешка составляет примерно 50 нм.

По крайней мере, в задней половине *T. trahens* **задние корешки реорганизуются в две структуры**, обе на левой стороне клетки; Первая – смещенный дорсально корень, состоящий из большей части микротрубочек правого корня (oR2), и вторая – вентральная «левая полоса», состоящая из левого корня, синглетного корня и одной микротрубочки из правого корня. Левая полоса доходит до заднего конца клетки, вероятно, до основания задней псевдоподии. Правый корень проходит напротив левого края юбки, и аналогичным образом лента проходит напротив правого края юбки, вероятно, усиливая периметр клетки^{8,149,150,152,153}.

Поскольку у всех изученных в этом отношении видов апузомонад от кинетосом отходят вглубь клетки 3 комплекса (LR, RR, «RM»), различающихся по количеству микротрубочек, С. А. Карпов предлагает описать их в виде формул, как это принято для некоторых групп жгутиконосцев. Так, у *Apusomonas proboscidea* количество микротрубочек в корешках распределяется следующим образом: 4(в левом корешке, в это число С. А. Карпов включает, помимо двух микротрубочек LR также SR и iR2) — (9-12 в ризостиле) — (5-9 в «правом» корешке – ленте периферических микротрубочек). У "*Amastigomonas*" *caudata*, соответственно, (3-5)—(8-10)—5; у *Manchomonas bermudensis* 4—(12-16)—(10-12). Жгутики неопределенного вида "*Amastigomonas* sp." (Карпов, Мыльников, 1989). имеют всего два микротрубочковых корешка: 3— (7-9), вероятно, третий корешок редуцировался в связи с небольшими размерами переднего жгутика^{150,152}.

Breviatea (Cavalier-Smith et al. 2004)¹⁵⁴ представляет собой группу анаэробных или микроаэрофильных амeboидных жгутиконосцев с апикальным передним жгутиком и задним жгутиком, либо бесжгутиковой задней кинетосомой. Первоначально описанные как представители Mastigamoeba, сейчас эти амёбофлагелляты занимают положение в корне Obazoa, вместе с апузомонадами. Описано четыре рода, в каждом из которых представлен один вид: пресноводная *Breviata anathema* и морские *Subulatomonas tetraspora*, *Pygsuia biforma* и *Lenisia limosa*. Breviatea формируют тонкие псевдоподии, которыми поглощают бактерий. Сообщается, что по крайней мере у некоторых Breviatea образуются цисты.

Половых стадий не наблюдается. Все исследованные брeвиаты имеют крупную митохондрию-подобную органеллу (MRO), которая иногда содержит несколько трубчатых крист. Однако все культивируемые брeвиаты содержатся исключительно в анаэробных условиях, а MRO действует как гидрогеносома, которая анаэробно генерирует АТФ посредством субстратного фосфорилирования^{149,155}.

Breviata anathema имеет **жгутиковую переднюю кинетосому (ПК)** и **бесжгутиковую заднюю (ЗК)**, расположенные примерно под прямым углом друг к другу. ПК имеет длину около 430 нм и состоит из дублетов на большей части своей длины: триплеты на её проксимальном конце имеют длину всего около 100 нм. ЗК имеет длину около 100 нм. и состоит из дублетов. Ни одно из базальных тел не имеет заметного «тележного колеса». Вместо этого тонкое кольцо из электронно-плотного материала выстилает просвет на большей части длины базального тела. **Переходная пластинка** имеет чашеобразную форму и совпадает с местом прикрепления жгутика к телу клетки.

Три **фибриллярные связки** соединяют кинетосомы: два исчерченных волокна, одно слева и одно справа и многослойная структура в виде «двойного сэндвича» в центре. Каждое из двух исчерченных волокон имеет чередующиеся волокнистые и темные полосы. Структура-«двойной сэндвич» (DS) состоит из пяти чередующихся слоев электронной плотности и прозрачности неодинаковой толщины.

Другим немикротрубочковым элементом цитоскелета является **полуконический комплекс (СК)**. Он имеет конусообразную форму в продольном сечении и полукруглую в поперечном, диаметр около 150 нм. с двухслойным внешним слоем и отдельным электронно-плотным ядром. Он находится близ ЗК с правой стороны жгутикового аппарата.

Присутствуют три микротрубочковых корешка, связанных с ЗК, два из которых синглетные. **Левый синглетный корешок (LR, вероятно – R1)**, начинается с левой стороны ЗК и идет вентрально к заднему концу клетки. Другой, **средний синглетный (MR, вероятно – SR)**, возникает между основаниями ПК и ЗК с их правой стороны и проходит кзади от ЗК по направлению к заднему концу клетки.

Третий, **правый корешок (RR, вероятно – R2)**, возникает на правой стороне ЗК в связи с правой исчерченной связкой. Первоначально он состоит из трех микротрубочек, но почти сразу разделяется на две части: **левую часть (RRa, iR2)** с одной микротрубочкой и **правую часть (RRb, oR2)** с двумя микротрубочками. На расстоянии 100–200 нм от расщепления каждая из ветвей приобретает одну дополнительную микротрубочку. Вентральная сторона RR от своего начала связана с тонкой пластинкой, с которой

микротрубочки RR соединены короткими мостиками. RRb очень длинный: он удваивается, когда приближается к задней части клетки, возвращается к передней части, почти к жгутиковому аппарату, а затем изгибается дорсально вправо, примыкая к веерным микротрубочкам.

ПК окружена с дорсальной стороны тонким электронно-плотным **веерообразным листом (FAS)**, с которым она соединяется переходными волокнами своих пяти самых дорсальных дублетов. FAS поддерживает передний конец **веера из 14-20 периферических микротрубочек**, который простирается до заднего конца клетки. Расходясь, соседние микротрубочки веера остаются связанными между собой тонкими волокнами.

Очень короткая (~100 нм. длиной) одиночная микротрубочка – **передний корешок (AR, R3)** – возникает на дорсальной стороне ПК, между ним и FAS¹⁵⁶.

Таким образом, можно отметить, что структура жгутикового аппарата *Breviatea* хоть и является внешне более простой, чем у *Arusomonadida*, но принципиально включает сходный набор компонентов.

Ancyromonadida (Cavalier-Smith, 1997), жгутиконосцы ранее относимые к *Arusozoa*, не будут рассмотрены в данном параграфе, так как в настоящее время четко показано их филогенетическое положение за пределами *Obazoa*^{119,156}. Достаточно сказать, что они имеют корешковый аппарат ещё более развитый и близкий к каноничному для «Excavata» и эукариот в целом, в частности, у них присутствует **микротрубочковый корешок R4**, отсутствующей у *Obazoa* и *Amoebozoa*⁸.

§ 2.3. Нуклеарииды (**Nucleariidae**)

Nucleariidae (Cann and Page, 1979) известные также как *Rotosphaerida* (Rainer, 1968) или *Cristidiscoidea* (Page, 1987) объединяют бесжгутиковых, шаровидных или сплюснутых амёб с заметными ядрами и радиально расходящимися длинными филоподиями на основе актина. Кристы митохондрий дисковидные. Некоторые *Nucleariidae* имеют только слизистую оболочку, другие покрыты кремнеземными чешуйками (идиосомами), экзогенными частицами (ксеносомами) или симбиотическими бактериями. Всего описано 11 родов: *Nuclearia*, *Fonticula*, *Parvularia*, *Lithocolla*, *Pompholyxophrys*, *Vampyrellidium*, *Elaeorhanis*, *Pinaciophora*, *Rabdiophrys*, *Rabdiaster* и *Thomseniophora*. Это свободноживущие, фаготрофные, большей частью пресноводные организмы. Наземный сапротроф *Fonticula alba* способен к образованию сорокарпов для расселения^{157,158}.

У Nucleariidae в интерфазе редко наблюдаются цитоплазматические микротрубочки и **полностью отсутствует жгутиковый аппарат** в жизненном цикле, а также генетический инструментарий, необходимый для его формирования. Микротрубочковое веретено деления формируется внутри ядра при закрытом митозе, однако выраженные **ЦОМТ при этом не визуализируются**. Полная редукция жгутикового аппарата особенно интересна в свете того, что Nucleariidae занимают крайне базальное положение среди Nucleotmycea (Holomycota), одной из двух линий эволюции Opisthokonta^{17,158,159}.

§ 2.4. Опистоспоридии (*Opisthosporidia*)

Opisthosporidia (Karpov, Aleoshin & Mikhailov, 2014)¹³⁹ это группа, с высокой вероятностью парафилетическая по отношению к грибам и включающая внутриклеточных паразитов или паразитоидов с амебоидной вегетативной стадией. Они имеют инвазионные споры/цисты с хитиновой клеточной стенкой и специализированным аппаратом для проникновения в клетку хозяина (трубка проникновения; задняя вакуоль).

Опистоспоридии включают розеллид (*Rozellida*, Lara et al. 2010, emend Karpov and Aleoshin 2014), также известных как криптомицеты (*Cryptomycota*, M. D. M. Jones & T. A. Richards 2011), микроспоридий (*Microsporidia*, Balbiani 1882) и афелид (*Aphelida*, Gromov, 2000). Микроспоридии, вероятно, происходят от розеллид и формируют с ними единую кладу¹⁶⁰. Афелиды же филогенетически ближе к грибам и в последних исследованиях включаются в состав этой группы как отдел *Aphelidiomycota* (Tedersoo, 2018). Розеллиды, афелиды и некоторые группы низших грибов демонстрируют ряд сходств в строении и жизненном цикле, например, обладают зооспорами с классическим опистоконтным жгутиковым аппаратом (см. Рис. 1. в Приложениях, средняя часть, слева)^{17,140,141}.

Розеллиды (*Rozellida*) – одноклеточные эндобиотические (внутриклеточные или внутриядерные) паразиты, хозяевами для которых являются, в основном грибы (*Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Peronosporomycetes*, *Basidiomycota*), гораздо реже – зелёные водоросли (*Coleochaete sp.*). В настоящее время выделяют около 30 видов, большинство из которых относятся к роду *Rozella*, помимо него признаны рода *Nucleophaga*, *Morellospora*, *Mitosporidium* и *Paramicrosporidium*^{161,162}. Структура жгутикового аппарата зооспор описана для *Rozella allomycis*¹⁶³ и *R. rhizoclosmatii*¹⁶⁴ и *R. multimorpha*¹⁶⁵.

Зооспоры сферической или удлинённой формы, диаметром 1,2–2,2 мкм, со шлемовидным ядром, выпуклым спереди. В центральной области зооспоры находится комплекс микротельце-липидная глобула (MLC), состоящий из одной или нескольких

липидных глобул, микротельца и защитной мембраны. Сзади от ядра находится единственная сферическая митохондрия, расположенная на вогнутой поверхности ядра. От неё исчерченный ризопласт (фибрилярный корешок) идет к жгутиковой кинетосоме. Единственный **жгуттик** направлен назад, его основание сильно вдаётся в клетку, находясь на дне глубокого впячивания.

Ризопласт или исчерченный корешок полый, расширяется кпереди. Его длина составляет около 180 нм, его основание, которое подходит к переднему концу кинетосомы, имеет диаметр около 230 нм, а вершина расширяется до 400 нм. С дорсальной стороны ризопласт расширяется сильнее, чем с вентральной. Полый просвет ризопласта имеет общую форму удлинённого купола с узкими продольными расширениями. Тело ризопласта, по-видимому, состоит из плотно упакованных филаментов, которые идут параллельно и создают узор из непрерывных поперечных полос. Просвет ризопласта переходит в просвет кинетосомы.^{162,164}

Жгутиковая кинетосома (ЖК) имеет диаметр около 200 нм. и длину 900 нм. Передний отдел кинетосомы длиной около 90 нм. имеет триплетное строение. На срединных продольных срезах его просвет оказывается заполненным параллельными поперечными перемычками, сходящимися на центральной оси (соответствуют «тележному колесу»). Оставшаяся часть кинетосомы имеет дуплетное строение. Она слегка изогнута к вентральной стороне зооспоры. Переходная пластинка отсутствует, а две центральные синглетные микротрубочки входят в клетку на расстояние 400 нм. и более. С-трубочки триплетов исчезают, а В-трубочки имеют изогнутые отростки, ниже эти отростки соприкасаются с перикинетосомными канальцами. Дистальная часть кинетосомы окружена сложной системой нечетких, электронно-непрозрачных структур

Бесжгутиковая кинетосома (БК) имеет длину всего 80 нм. и внутреннее «тележное колесо». Проксимально-задний конец БК касается места соединения ризопласта со ЖК и направлен вентрально и назад примерно под углом 60° к ЖК.

Цитоплазматические микротрубочки видны на продольных срезах пред-передней части клетки вблизи плазмалеммы или вблизи митохондрии; иногда на поперечном срезе можно наблюдать комплексы из трёх микротрубочек. Предположительно, эти субантериальные микротрубочки образуют вокруг митохондрии полную или частичную корзину из двух и более рыхлых рядов. Начало большинства цитоплазматических микротрубочек, по-видимому, находится на стыке ризопласта и ЖК, от которой они

расходятся веером вперед, назад и в стороны. Некоторые микротрубочки также, по-видимому, отходят из БК. Выраженные **микротрубочковые корешки отсутствуют**^{157,163}.

Микроспоридии (Microsporidia) большая (около 1500 описанных видов) группа крайне специализированных облигатных внутриклеточных паразитов. Паразитируют преимущественно на Metazoa, включая человека, реже на протистах из групп Amoebozoa, Ciliophora или Apicomplexa. Облигатные анаэробы, лишены митохондрий и пероксисом, но имеют митосомы. Образуют неподвижные споры с внутренней хитиновой оболочкой, внешней белковой оболочкой и выстреливающей полярной трубкой для проникновения в тело хозяина. Микроспоридии имеют самые маленькие среди эукариот и самые компактные геномы. Тенденция к такому уплотнению начинает прослеживаться уже у розеллид, которые, вероятно, являются парафилетической по отношению к микроспоридиям группой^{165–168}.

В связи с облигатным внутриклеточным паразитизмом микроспоридии полностью утратили жгутиковый аппарат, центриоли и необходимый генетический инструментарий для формирования этих структур¹⁴³. У микроспоридий закрытый митоз в ходе которого визуализируется неканоничный ЦОМТ – так называемая **электроплотная бляшка веретена (electrodense spindle plaques)**. Бляшка выглядят как стопка из 1-5 уложенных друг на друга электроплотных структур, она располагается на внешней поверхности ядра, в небольшом углублении и, вероятно, прободает ядерную оболочку. Со стороны кариоплазмы от бляшки отходят микротрубочки веретена деления, а с цитоплазматической стороны она всегда взаимодействует с одной или двумя небольшими двумембранными **полярными везикулами** (вероятно, митосомами)^{168,169}. Показано, что в ядре *Nosema bombycis* локализуется белок «тележного колеса» SAS-6, который у других эукариот участвует в сборке центриолей¹⁷⁰.

Афелиды (Aphelida) – внутриклеточные паразитоиды водорослей с фаготрофной амебодной стадией и сложным жизненным циклом. Они формируют одножгутиковые зооспоры с филоподиями и/или ламеллиподиями для расселения. Прикрепляясь к клеточной стенке хозяина зооспоры инцистируются, одеваясь хитиновой оболочкой. Затем инвазионная циста проникает через клеточную стенку хозяина с помощью короткой трубки проникновения и становится фаготрофной амемой, которая поглощает содержимое клетки хозяина. В результате образуется характерная центральная пищевая вакуоль с красно-буроватым остаточным телом; Рост паразитоида и последующее деление ядра приводят к многоядерному плазмодию, полностью поглощающему клетку хозяина, который в результате производит либо покоящуюся спору с толстой гладкой клеточной

стенкой, либо зооспоры, высвобождающиеся из стенки хозяина; митохондриальные кристы от трубчатых до пластинчатых. На данный момент описано около 15 видов афелид, относящихся к 4 родам: *Aphelidium*, *Amoebaphelidium*, *Paraphelidium* и *Pseudaphelidium*, однако данные метагеномики указывают, что их реальное разнообразие значительно выше. Афелиды, вероятно, являются наиболее эволюционно близкой к грибам группой эукариот, по некоторым данным они даже парафилетичны по отношению к грибам^{139,140,171}. Как и для зооспоровых грибов, строение зооспор является наиболее информативным и важным морфологическим признаком для филогении и систематики афелид, поэтому сведения об ультраструктуре жгутикового аппарата в этой группе получены для некоторой части видов: *Amoebaphelidium protococcorum*¹⁷², *Paraphelidium tribonematis*, *Aphelidium chlorococcalium*, *Ap. tribonematis*¹⁷³, *A. desmodesmi*¹⁷⁴, *A. collabens*¹⁷⁵ и *A. insulamus*¹⁷⁶.

Наиболее полный жгутиковый аппарат (см. Рис. 1. в Приложениях, средняя часть, слева) среди афелид представлен у *Aphelidium chlorococcalium*. Свободная часть жгутика имеет типичную аксонему без особенностей. В **переходной зоне** имеется тонкая поперечная не всегда заметная пластинка, а у некоторых видов, например, у *A. melosirae* и *A. insulamus* имеется спиральная нить в переходной зоне. Переходные фибриллы (дистальные придатки) показаны у *A. Insulamus*.

Жгутиковая кинетосома (ЖК) имеет длину 200-300 нм, состоит из триплетов микротрубочек и не содержит «тележного колеса». **Бесжгутиковая кинетосома (БК)** обычно очень короткая (50-60 нм), состоит из триплетов и имеет «тележное колесо». Она лежит под прямым или острым углом к ЖК. **Фибриллярная связка** идет от латеральной части ЖК к БК

Фибриллярный корешок отходит от проксимального конца ЖК и заякоревается, обычно к митохондрии, лежащей под БК. К митохондрии от кинетосом в дополнение к фибриллярному корешку отходят одна или две короткие, тонко поперечно исчерченные коннективы. У *Aphelidium collabens* вместо небольшого фибриллярного корешка присутствует массивный ризопласт который простирается до переднего конца клетки, его сопровождает также пучок из трёх микротрубочек.

Субдистальный придаток («базальная ножка») располагается на поверхности ЖК напротив БК. Эта ножка состоит из двух стебельков, которые возникают независимо от соседних триплетов ЖК. Оба стебелька остаются отдельными на достаточно большом расстоянии (около 150 нм), а затем сливаются. От конца базальной ножки отходит 1, 2 и

более одиночных микротрубочек, ориентированных либо в цитоплазму, либо к плазматической мембране.

Внутри рода *Aphelidium* наблюдается **утрата разными видами различных кинетидных структур** (фибриллярного корешка, базальной ножки) и уменьшение интенсивности жгутикового движения зооспор в пользу амебоидного движения^{173–176}.

Зооспоры *Paraphelidium* имеют более короткий жгутик, чем у *Aphelidium*, а также широкие передние ламеллиподии с субфилоподиями. Кинетида *Paraphelidium* содержит только одну гораздо более короткую жгутиковую кинетосому, состоящую преимущественно из дублетов микротрубочек и более короткий фибриллярный корешок, который может быть не связан с митохондрией. Бесжгутиковая кинетосома и базальная ножка отсутствуют. Для зооспор *Amoebophilidium protococcorum* характерно наличие неподвижной задней псевдоцилии не содержащей аксонему, а подвижность достигается только за счет амебоидного движения^{172,173}.

§ 2.5. Зооспоровые низшие грибы («Chytridiomycota»)

Царство грибы (Fungi, Moore 1980) венчает одну из двух основных эволюционных ветвей Opisthokonta. Это гетеротрофные, осмотрофные организмы с ризомицелиальным, мицелиальным или дрожжевым типом организации. Обычно они имеют клеточную стенку, содержащую β-глюкан и хитин. Также для них характерен ААА-путь биосинтеза лизина.

Несмотря на то, что высшие грибы (Dikarya) формируют на основе своего довольно простого мицелиального строения огромное разнообразие жизненных форм, жгутиковые или зооспоровые низшие грибы, ранее относимые к отделу хитридиомицеты в широком смысле («Chytridiomycota sensu lato»), ничем качественно не отличаются от представителей розеллид и афелид, с которыми грибы имеют тесную эволюционную связь.

В настоящий момент группа зооспоровых низших грибов разбита на несколько более или менее родственных друг другу отделов, занимающих относительно базальные позиции на филогенетическом древе грибов. Это собственно Chytridiomycota (Doweld 2001, emend. M. J. Powell, 2019) в узком смысле, Monoblepharidomycota (Doweld 2001) и Neocallimastigomycota (M. J. Powell, 2007), Blastocladiomycota (James, 2007), Olpidiomycota (Doweld, 2013) и Sanchytriomycota (Galindo et al., 2021). Интересно, что некоторые из этих отделов возможно дивергируют не от корня древа, а от от групп бесжгутиковых низших грибов («Zygomycota sensu lato»), демонстрируя таким образом либо многократную утрату жгутикового аппарата у грибов, либо вторичное приобретение этого аппарата некоторыми группами^{141–143}.

Ввиду ограничения по объему работы и формальной принадлежности Fungi к многоклеточным Opisthokonta подробный обзор структуры жгутикового аппарата этих групп в данной работе производиться не будет. С основными сведениями по этому вопросу можно ознакомиться по следующим ссылкам: Chytridiomycota, Monoblepharidomycota и Neocallimastigomycota¹⁷⁷⁻¹⁸⁰, Blastocladiomycota^{181,182}, Olpidiomycota^{183,184}, Sanchytriomycota^{17,185}.

Здесь ограничимся лишь общими сведениями о том, что жгутиковый аппарат (см. Рис. 1. в Приложениях, верхняя часть, слева) почти всех перечисленных групп содержит единственный задний жгутик и две **кинетосомы** – **жгутиковую (К)** и **бесжгутиковую (NfC)**. Исключением здесь являются Neocallimastigomycota, у которых количество жгутиков может увеличиваться, а NfC не наблюдается. А также недавно описанные Sanchytriomycota, для которых характерно наличие неподвижной псевдоцилии, содержащей аксонему всего из четырёх микротрубочек, в основании которой находится единственная неполная кинетосома из 9 микротрубочковых синглетов. Кинетосомы связаны **фибриллярной связкой (FB)** и обычно расположены параллельно или под острым углом. В **переходной зоне** могут быть различные структуры, но часто наблюдается так называемая «**пробка**» (**FP**) - очень электроноплотный участок, охватывающий переходную зону **Комплекс микротельце-липидная глобула (MLC)** присутствует у большинства зооспоровых грибов и представляет собой совокупность органелл, состоящую из липидных глобул, цистерн, митохондрий и микротельца. Он участвует в преобразовании запасенных липидов в энергию для зооспор. От противоположной NfC стороны жгутиковой кинетосомы часто тянется **пучок микротрубочек (микротрубочковый корешок, Mt)**, присоединяющийся к MLC. У Monoblepharidomycota вместо этого от жгутиковой кинетосомы отходит обширный **веер микротрубочек** в форме полуконуса, направленного основанием в сторону цитоплазмы. Вблизи кинетосом могут располагаться **кинетосомно-ассоциированные структуры (KAS)** различной формы и природы. У Blastocladiomycota, Olpidiomycota, а также порядка Spizellomycetales из Chytridiomycota наблюдаются массивные **фибриллярные корешки (ризопласты)**, связывающие обе кинетосомы с ядерной оболочкой^{179,181,186}.

Все прочие группы грибов, иногда объединяемые в группу Eufungi (Cavalier-Smith, 1981) полностью лишены жгутикового аппарата и центриолей. ЦОМТ при закрытом митозе у них служит так называемое **полярное тельце веретена (SPB)**, которое подробно исследовано на дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Эта структура локализуется в просвете

специального отверстия в ядерной оболочке, подобного ядерной поре и содержит многие центриольные белки^{187,188}.

§ 2.6. Ихтиоспорида (Ichthyosporea) и *Corallochytrium sp.*

В основании Holozoa – второй ветви Opisthokonta, ведущей к многоклеточным животным – ответвляются **Ихтиоспорида** (Ichthyosporea, Cavalier-Smith 1998). Эти осмотрофные протисты, известные также как Mesomycetozoa (Herr et al., 1999) за редким исключением являются тканевыми паразитами (иногда факультативными) кишечника рыб, амфибий и водных беспозвоночных. *Rhinosporidium seeberi* – паразит млекопитающих, в т. ч. человека. Обладают сложным жизненным циклом, в тканях хозяина формируют шаровидные или вытянутые многоядерные плазмодии, покрытые толстой хитин-содержащей оболочкой, которые могут производить неподвижные и подвижные споры. Подвижные споры обычно амебоидные, но у Dermocystida, меньшего из двух отрядов ихтиоспорид могут формироваться зооспоры с опистоконтным жгутиковым аппаратом¹⁸⁹⁻¹⁹¹.

От жгутиковой кинетосомы к плотному центральному клеточному включению неясной природы идет **массивный фибриллярный корешок**. По пути он охватывает **бесжгутиковую кинетосому**, которая лежит под прямым углом к жгутиковой. По меньшей мере одна микротрубочка идет от жгутиковой кинетосомы вглубь клетки¹⁹².

У представителей второго отряда Ichthyophonida, полностью лишенных жгутиков и центриолей, при митозе наблюдается **структура, аналогичная полярному тельцу (SPB)** грибов¹⁹³.

Corallochytrium limacisporum необычный морской хищный протист со сферической клеткой покрытой тонкой оболочкой. Находясь в ветви Holozoa он, тем не менее осуществляет ААА-путь биосинтеза лизина, характерный для грибов. Некоторое время считалось, что *Corallochytrium* занимает сестринское положение к ихтиоспоридам, но после открытия жгутиконосца *Syssomonas multiformis* он кластеризовался с ним в кладу **Pluriformea** (Hehenberger et al., 2017). Хотя жгутики у *Corallochytrium* до сих пор не наблюдали, обнаружено, что его транскриптом содержит дельта/эпсилон -тубулины, компоненты IFT-A и IFT-B и кинезин-II, что может указывать на наличие скрытой жгутиковой стадии, как это произошло у *Ministeria vibrans*^{15,194,195}.

§ 2.6. Амебоидные филастерии (Filasterea)

Filasterea (Salchian-Tabrizi, 2008) до недавнего времени включали всего два вида. Оба имеют длинные и более равномерные по толщине чем обычные филоподии щупальца,

собранные на основе актинового цитоскелета подобно микроворсинкам. *Ministeria vibrans* является морским донным бактериотрофом, а *Capsaspora owczarzaki* была первоначально описана как факультативный симбионт, выделенный из гемолимфы улитки *Biomphalaria glabrata*. Показано, что у Filasterea, как и у хоанофлагеллят с животными присутствует ген фасцина, который необходим для формирования микроворсинок и не встречается у других эукариот^{131,196,197}.

В клетке *Ministeria vibrans* обнаружен уникальный **центр организации микрофиламентов (ЦОМФ)**, который позволяет ей втягивать свои щупальца. Кроме того, обнаружена **кинетида** (см. Рис. 1. в Приложениях, средняя часть, справа), состоящая из двух расположенных под прямым углом **кинетосом**, связанных **фибриллярной связкой**. От одной из кинетосом к ядру отходит **фибриллярный корешок**, она же служит началом неподвижного жгутика, который *Ministeria* использует в качестве прикрепительного стебелька. Также на жгутиковой кинетосоме присутствует **базальная ножка**¹⁹⁸.

Относительно недавно группа Filasterea пополнилась хищными жгутиконосцами *Pigoraptor chileana* и *P. vietnamica*¹⁴⁵.

§ 2.7. Свободноживущие хищные жгутиконосцы из ветви Holozoa

Недавно было описано несколько свободноживущих хищных жгутиконосцев ветвящихся глубоко из дерева Holozoa. Как уже было отмечено, *Syssomonas multiformis*, выделенный из пресноводного ила оказался родственником *Corallochytrium limacisporum* и сформировал с ним новый таксон Pluriformea. *Syssomonas* способен принимать много различных **жизненных форм** в ходе жизненного цикла, включая жгутиковые, амебофлагеллятные, амебоидные нежгутиковые клетки, которые также могут образовывать небольшие агрегации и даже сливаться в плазмодий. Амебоидные формы могут формировать как филоподии, так и широкие лобоподии. Внутри округлой цисты, в которую трансформируется амеба могут происходить множественные деления, в результате которых высвобождается 2, 4, 8 или 16 жгутиковых клеток. Питаются высасывая цитоплазму из клетки добычи, могут осуществлять совместное питание, вероятно скоординированное за счёт химических сигналов^{145,199}.

Наиболее распространенная стадия ЖЦ – плавающий жгутиконосец диаметром около 10 мкм. с единственным задним голым **жгутиком**, который прикреплен немного сбоку и заканчивается короткой акронемой (см. Рис. 1. в Приложениях, средняя часть, справа). Акронема жгутика имеет обычное строение (9*2 + 2). Жгутик может быть втянут в клетку. На поверхности клеток вокруг основания жгутика наблюдалось конусообразное

возвышение. Две **кинетосомы**, жгутиковая (ЖК) и бесжгутиковая (БК), лежат примерно под углом 45–90° друг к другу. **Переходная зона** содержит поперечную пластинку, расположенную над поверхностью клетки. В переходной зоне не наблюдалось одиночной спирали, центральной нити или других дополнительных элементов.

Корешковый аппарат включает несколько элементов. Дугообразный **плотный материал**, представляющий собой центриолярные сателлиты, соединяется с ЖК и нуклеирует микротрубочки. Радиальные нити отходят от ЖК и напоминают переходные фибриллы (дистальные придатки). К кинетосомам присоединяются по крайней мере два **фибрилярных корешка**, один из которых возможно является связкой между кинетосомами. На серийных срезах видно, что микротрубочки возникают вблизи обоих кинетосом и расходятся от них поодиночке или в виде веера. Рядом с кинетосомами располагаются **плотные (осмиофильные) пятна** (возможно, соответствуют субдистальным придаткам), часть из которых нуклеирует пучки микротрубочек. Одна **группа смежных микротрубочек** начинается от плотного пятна и идет поверхностно вплотную к плазмалемме¹⁹⁹.

Pigoraptor vietnamica и *P. chileana* также выделенные из пресноводных донных отложений оказались представителями Filasterea. Как и *Syssomonas* они способны к амебофлагеллярным трансформациям, образованию цист и многоклеточных агрегаций, но не образуют плазмодий. Жгутиковая форма может также образовывать тонкие длинные, иногда ветвящиеся филоподии. *P. chileana* морфологически сходен с *P. vietnamica*, но имеет сниженную склонность к формированию псевдоподий.

Две **кинетосомы** расположены вблизи ядра, лежат примерно под углом 90° друг к другу и не связаны видимыми фибриллами. У *P. chileana* показано наличие в ЖК «тележного колеса». Аксонема имеет обычное строение. В **переходной зоне** наблюдалась **тонкая центральная нить**, соединяющая центральную пару синглетов с поперечной пластинкой. **Корешковая система редуцирована**. Некоторые микротрубочки возникают из **плотных пятен** вблизи кинетосом. Переходные фибриллы отходят от ЖК. На серийных срезах видно, что БК не инициирует сборку микротрубочек¹⁹⁹.

Точное филогенетическое положение последнего жгутиконосца *Tunicaraptor unikontum*, который был выделен из прибрежных морских вод, пока достоверно не установлено. Это мелкие (длиной 3,5–5,1 мкм.) плавающие удлинено-овальные клетки с одним задним жгутиком. Он изредка образует короткие филоподии, а одиночные жгутиковые или бесжгутиковые клетки могут образовывать временные агрегации из 3–6

штук. Туникараптор питается другими эукариотами. Как и у *Syssomonas* показано совместное питание одной клеткой-жертвой и образование скоплений. Интересной особенностью является то, что вся клетка, за исключением жгутика и небольшого переднего участка («цитостома»), покрыта внешней оболочкой (текой), несущей длинные (~110 нм.) наружные волоски. Специализированные цитостомальные структуры неизвестны у других одноклеточных опистоконтов. Две кинетосомы расположены под острым углом. Они соединены **фибрилярным корешком** с находящимся над ними аппаратом Гольджи. ЖК имеет латеральный корень из микротрубочек¹⁴⁶.

§ 2.8. Воротничковые жгутиконосцы (*Choanoflagellata*)

Воротничковые жгутиконосцы (*Choanoflagellata*, Saville-Kent 1880) филогенетически являются ближайшей к животным группой эукариот. Их отличительная особенность – воротничок из нескольких десятков микроворсинок, окружающий единственный жгутик, который отходит от апикальной поверхности клетки. Жгутик создает ток воды, необходимый для оседания пищевых частичек (в основном – бактерий) на воротничке и их последующего фагоцитоза. Воротничковые жгутиконосцы могут иметь стебелёк для прикрепления к субстрату, формировать колонии различной формы, а также иметь полисахаридную теку или лорику, укрепленную кремнезёмными тяжами²⁰⁰.

Жгутиковая кинетосома (см. Рис. 1. в Приложениях, верхняя часть, справа) соединена с мембраной хорошо развитыми переходными фибриллами (дистальными придатками) и окружена кольцами электроноплотного материала, а из самого внутреннего кольца во все стороны выходят, равномерным кольцом или несколькими пучками около 60 **кортикальных микротрубочек**, которые поддерживают основание воротничка, контактируя с пучками микрофиламентов. В непосредственной близости от основания жгутиков микротрубочки уложены стопкой в два слоя, а два дополнительных кольца из электронно-плотного материала заполняют промежутки между слоями.

Невозможно гомологизировать систему микротрубочек хоанофлагеллят и микротрубочечковые корешки других протистов. Она вероятно, является специализацией хоанофлагеллят, появившейся в связи с образованием воротничка. **Бесжгутиковая кинетосома** расположена под прямым углом и соединяется ЖК **фибрилярной связкой**. От нижней поверхности БК косо к аппарату Гольджи идет длинный, узкий, слегка исчерченный, **фибрилярный корешок**. Он связан с одной поверхностью ограниченного мембраной мешочка, который простирается от области основания жгутика и проходит примерно до середины диктиосомы, образуя с ФК **фибрилярно-мембранный комплекс**.

Длинная **переходная зона** содержит поперечную пластинку, расположенную над поверхностью клетки. Иногда имеется утолщение в центре поперечной пластинки. В переходной зоне визуализируется центральный филамент, связывающий две центральные микротрубочки аксонемы с поперечной пластинкой. Центральный филамент рассматривают как важный диагностический признак данной группы^{201,202}.

Имеется информация о репликации жгутиков и **жгутиковой трансформации** у *Monosiga ovata*. Пред делением жгутик разбирается, а рядом с каждой из двух кинетосом формируется дочерняя. При этом, связанная с жгутиковой кинетосомой система микротрубочек, поддерживающая воротничок, наследуется одной из дочерних клеток, оставаясь связанной всё с той же кинетосомой из которой после деления вновь отрастет жгутик, в соответствии с этим фактом, жгутиковую кинетосому можно назвать ВВ1 в терминологии Ø. Moestrup. Бесжгутиковая кинетосома мигрирует на противоположный полюс митотического веретена и в новой клетке также даёт начало жгутику, являясь, таким образом, ВВ2²⁰³.

При помощи криоэлектронной микроскопии показано, что аксонемные динеины, радиальные спицы и комплекс центральной пары у *S. rosetta* больше напоминают эти структуры многоклеточных животных, чем у одноклеточных организмов из других супергрупп. В частности, внешние динеиновые ручки у них также несут только две динеиновых головки²⁰⁴.

Глава 3. Сравнительный анализ и обобщение сведений о эволюции жгутикового аппарата Opisthokonta

§ 3.1. Основные направления эволюции жгутикового аппарата Opisthokonta.

Объединив имеющиеся сведения о филогении одноклеточных Opisthokonta и ультраструктуре их цитоскелета и жгутикового аппарата, рассмотрим один из возможных вариантов эволюции ЦОМТ одноклеточных Opisthokonta в целом (Рис 1. в Приложениях), и отметим ряд ключевых моментов:

1) Обратившись к имеющимся данным о гомологии микротрубочковых корешков можно заметить, что после исключения Ancoomonadida из Amoebozoa, **отсутствие корешка R4 может рассматриваться как синапоморфия Amorphea**. Однако, учитывая незначительную роль этой структуры в функционировании клетки (R4, вероятно, просто является зачатком R2, который с тем же успехом можно сформировать и после репликации кинетосом) это вряд ли можно считать весомым признаком.

2) Строение **жгутикового аппарата** и системы микротрубочковых корешков у *Arusomonadida* и *Breviatea*, вероятнее всего, указывает на **сложную организацию этой системы у предка Obazoa**, унаследованную им напрямую от LECA. Это предположение идёт вразрез с гипотезами о первичности «униконтного» состояния для эукариот, кроме случая при котором корень эукариотического древа жизни оказывается непосредственно на ветви ведущий к *Opisthokonta*^{156,205}.

3) Не смотря на утверждения о том, что кортикальные микротрубочки *Opisthokonta* невозможно гомологизировать с микротрубочковыми структурами других эукариот, опираясь на информацию о жгутиковой трансформации у хоанофлагеллят, можно **сделать крайне слабое предположение** о том, что такие структуры, как **микротрубочковый корешок хитридиомицетов** или **звездчатая конструкция**, поддерживающая воротничок хоанофлагеллят, могут быть **гомологичны R2**, так как это более крупная структура связанная с **VB1** и в случае хоанофлагеллят также участвующая в поддержании питательного аппарата.

4) Принимая, что корень эукариот находится за пределами *Obazoa* мы вынуждены признать, что ***Opisthokonta* претерпели значительную редукцию жгутикового аппарата**, практически **полностью утратив систему микротрубочковых корешков**.

5) **Эволюционируя в направлении редукции жгутикового аппарата**, как минимум, четыре группы одноклеточных *Opisthokonta*, не считая различных случаев у *Metazoa* и *Fungi* полностью (независимо?) утратили способность к формированию жгутиков. Это *Ichthyophonida*, *Microsporidia*, *Capsaspora owczarzaki* и *Nucleariida*

6) Интересным также является наблюдаемое **конвергентное сходство жизненных форм** между неродственными группами *Opisthokonta*. Например, филастерии куда больше напоминают по форме и образу жизни нуклеариид, чем остальных *Holozoa*. В то время как ихтиоспорида и *Corallochytrium* имеют много общего со жгутиковыми низшими грибами.¹³¹

7) **Кинетидно-митохондриальная связь** через **ринопласт** характерна для большинства базальных ветвей опистоспориций (розеллид и афелид) и грибов (бластокладиомицеты). Это строение можно расценивать как один из предковых признаков всей ветви (*Fungi* + *Opisthosporidia*).¹⁷³. В связи с этим интересным направлением исследований может стать анализ структуры и белкового состава **неканоничных ЦОМТ микроспориций**. Учитывая близкое родство микроспориций и розеллид, можно выдвинуть предположение о том, что **ассоциация между бляшкой веретена и митосомами** у

микроспоридий может быть эволюционно связана с ассоциацией между кинетосомами и митохондриями розеллид. С другой стороны, интригующим является морфологическое и функциональное сходство бляшек веретена микроспоридий и **полярных телец (SPB)** высших грибов, которое либо представляет собой интересный результат конвергенции, либо заставляет задуматься о поиске нескольких альтернативных вариантов ЦОМТ на различных стадиях жизненного цикла у розеллид и афелид.

8) Наличие центрального филамента в переходной зоне теперь показано не только для Choanoflagellata. Равно как и наличие «плотной пробки» в переходной зоне не является уникальной для хитридиомицетов¹⁰. Эти сведения требуют дополнительного переосмысления распределения признаков, связанных со структурой переходной зоны.

§ 3.2. Функциональные и эволюционные причины опистоконтности. Обзор гипотез.

Если мы принимаем доминирующее на сегодняшний день предположение о том, что корень эукариот находится за пределами ветви Obazoa, становится очевидно, что жгутиковый аппарат Opisthokonta претерпел ряд серьезных **редукционных изменений** в ходе ранней эволюции данной группы. Подобная редукция могла произойти из-за того, что общие предки Opisthokonta прошли некий эволюционный этап, на котором существование развитого жгутикового аппарата и системы микротрубочковых корешков не имело выраженного адаптивного значения. Для объяснения этой ситуации потенциально можно выдвинуть три гипотезы, относительно возможного образа жизни таких предковых опистоконтов:

Седентарная («хоанозойная») гипотеза, которая активно поддерживалась Томасом Кавалье-Смитом^{10,206}, а недавно была вновь упомянута Д. В. Тихоненковым в связи с организацией клетки *Tunicaraptor*¹⁴⁶, предполагает, что общий предок Opisthokonta был похож на современных воротничковых жгутиконосцев и вёл прикрепленный образ жизни, в связи с чем сохранил лишь один жгутик (Т. Кавалье-Смит утверждал, что это был передний жгутик, соответствующий жгутику ВВ2 у апузомонад), использовавшийся для создания токов воды, обеспечивающих улавливание пищевых частиц.

Эта гипотеза не вполне согласуется с **филогенетическим положением воротничковых жгутиконосцев**, которые не являются базальными среди Holozoa, а напротив формируют ближайшую к Metazoa сестринскую группу. Кроме того, заманчивая одножгутиковость у некоторых Breviatea скорее всего **не связана с одножгутиковостью Opisthokonta**, так как у одножгутиковых Breviatea сохраняется жгутик на второй (передней, молодой) кинетосоме. А для воротничковых жгутиконосцев показано, что их

жгутик является первым (старым) жгутиком в ходе жгутиковой трансформации. Наконец, есть сведения что **фасцин** – белок, позволяющий формировать микроворсинки, **уникален для кледы Filozoa** (Filasteria+Choanoflagellata+Metazoa) и отсутствует у прочих Opisthokonta.

В качестве альтернатив седентарной гипотезе можно предложить **амебодную («нуклеариидную»)** и **паразитарную («ихтиоспоридную»)** гипотезы, обозначенные так в связи с двумя наиболее базальными таксонами в ветвях Holomycota и Holozoa.

Обе гипотезы подразумевают полную или, по крайней мере, весьма значительную редукцию жгутикового аппарата, и последующее его вторичное (но уже не полноценное) восстановление у жгутиковых групп Opisthokonta. На то, что такая **рекапитуляция** потенциально возможна указывает недавно уточненная филогения Амоевозоа²⁰⁷. Хотя авторы данного исследования придерживаются гипотезы множественной независимой (полной или частичной) редукции жгутикового аппарата в ветвях Tubulinea, Discosea, Cutosea, Variosea и Archamoebae, в рамках предложенной ими филогении можно также предположить **полную или значительную утрату жгутикового аппарата у предка Амоевозоа** и его **последующее восстановление в ветви Conosa**. Это предположение также косвенно может быть поддержано тем фактом, что многие белки жгутикового аппарата и ЦОМТ, или их ближайшие паралоги **имеют альтернативные функции** в клетке, за счет которых могут «пережить» временное исчезновение жгутикового аппарата в эволюции группы²⁰⁸.

В таком случае, в рамках **амебодной («нуклеариидной»)** гипотезы можно предложить аналогичный сценарий и для ветви Opisthokonta, согласно которому, двужгутиковые амёбофлагелляты, разошедшиеся с апузомонадами перешли к полностью амебодному жизненному циклу приняв форму филозной амёбы, близкую к современным нуклеариидам. После чего в ветвях Holozoa и Holomycota независимо произошло частичное восстановление жгутикового аппарата. Конечно, можно было бы пойти и дальше и предположить, что жгутиковый аппарат уже был редуцирован у общего предка Opisthokonta и Амоевозоа, но такая *«панамебодная» гипотеза* предстаёт совсем уж фантастичной, учитывая родство Opisthokonta с Apusomonadida и Breviatea.

Однако, даже без этого, несколько более вероятной выглядит **паразитарная («ихтиоспоридная»)** гипотеза. Она предполагает, что общий предок Opisthokonta был паразитом или прازیтоидом, подобно современным Rozellida, Aphelidea и Dermocystida и жгутик был необходим ему лишь на быстротечной расселительной и не питающейся стадии

зооспоры, в связи с чем жгутиковый аппарат значительно редуцировался. Впоследствии часть его потомков специализировалась в направлении паразитизма ещё сильнее, а часть (нуклеарииды, кроновые Holozoa) по тем или иным причинам вернулась к хищничеству. В рамках этой гипотезы можно объяснить и заднее расположение жгутика, способствующее более вероятному и прямому взаимодействию тела клетки расселительной жгутиковой стадии и искомой клетки хозяина.

Стоит отметить, что обе эти гипотезы упираются в так называемый **закон Долло**, о низкой вероятности обратимости эволюционных процессов. В частности, однажды став паразитами, очень мало какие группы организмов возвращались к свободноживущему образу жизни. Однако огромные отрезки времени и сравнительно высокая скорость эволюции протистов, возможно компенсируют эту проблему.

Современные филогеномные реконструкции предполагают, что **ЛОСА – последний общий предок Opisthokonta** существовал в промежутке от **1,5 до 2 млрд. лет назад**¹²². Для эволюции микроорганизмов этот огромный даже в геологических масштабах отрезок времени – бескрайнее поле эволюционных возможностей, на котором предки современных групп Opisthokonta могли опробовать самые разные жизненные формы и конструктивные типы организации. Не зря в недавних работах подчеркиваются **конвергентные сходства между некоторыми линиями Holomycota и Holozoa**¹³¹. У каждой из этих линий было достаточно времени, чтобы реализовать все доступные варианты.

Недавние открытия новых групп хищных жгутиконосцев среди Holozoa демонстрируют, что **филогения Opisthokonta не так четко разрешена**, как это казалось в более ранних анализах, а напротив очень чувствительна к таксономическим выборкам¹⁴⁶. Данные метагеномики также свидетельствуют о существовании **большого количества ещё не описанных эволюционных линий Opisthokonta**¹⁴⁷. Всё это наталкивает на мысль, просматривающуюся в работе Р. Keeling и Ф. Burki¹¹⁷, о том, что мы пытаемся реконструировать рисунок кроны древа жизни имея на руках лишь отдельные листья, упавшие с него. Но это не повод останавливаться, ведь наши технологии и методы анализа становятся всё совершеннее, а сбор листьев происходит всё быстрее.

Раздел II. Заключение

В результате синтеза актуальных литературных данных о филогении эукариот и ультраструктуре цитоскелета и жгутикового аппарата одноклеточных представителей супергруппы Opisthokonta предложена **возможная схема эволюции центров организации микротрубочек в рамках данной группы** (Рис 1. в Приложениях). Она подразумевает **редукционную эволюцию** жгутикового аппарата Opisthokonta, которая могла произойти в связи с различным эволюционными и функциональными причинами. В частности, у Opisthokonta практически полностью утрачены микротрубочковые корешки жгутиков, они не наблюдаются даже у недавно открытых глубоко ветвящихся жгутиковых форм. А в нескольких группах отсутствует генетический инструментарий для формирования жгутикового аппарата как такового.

Ряд выявленных в недавних исследованиях ультраструктурных признаков могут оказаться значимыми для тех или иных подгрупп Opisthokonta. Так, связь кинетосомы с митохондрией посредством фибриллярного корешка может быть важной для клады объединяющей Opisthosporidia и Fungi, а наличие центрального филамента в переходной зоне теперь показано не только для Choanoflagellata.

Проведен краткий **сравнительный разбор потенциально существующих гипотез**, описывающих происхождение и тенденции эволюции опистоконтного (заднежгутикового) аппарата. Доминирующая на данный момент седентарная («хоанозойная») гипотеза имеет некоторые нестыковки с актуальной картиной филогении Opisthokonta, а также с имеющимися сведениями о порядке жгутиковой трансформации. С другой стороны, актуальная филогения данной группы может оказаться неустойчивой, а альтернативные гипотезы – амeboидная («нуклеариидная») и паразитарная («ихтиоспориidная») – также не имеют достаточного подтверждения. Сделан вывод о том, что в настоящий момент мы ещё не располагаем необходимыми данными, чтобы отдать предпочтение одному из объяснений заднежгутиковости Opisthokonta, и в рамках текущих исследований необходимо учитывать их все.

Список литературы

1. Fletcher, D. A. & Mullins, R. D. Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature* **463**, 485–492 (2010).
2. Bershadsky, A. D. & Vasiliev, J. M. *Cytoskeleton*. (Springer Science & Business Media, 2012).
3. Plopper, G., Sharp, D. & Sikorski, E. *Lewin's Cells*. (Jones & Bartlett Publishers, 2013).
4. Pollard, T. D., Earnshaw, W. C., Lippincott-Schwartz, J. & Johnson, G. *Cell Biology*. (Elsevier Health Sciences, 2016).
5. Alberts, B. *Molecular Biology of the Cell*. (Garland Science, 2017).
6. Wickstead, B. & Gull, K. The evolution of the cytoskeleton. *J. Cell Biol.* **194**, 513–525 (2011).
7. Mitchell, D. R. Evolution of Cilia. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **9**, a028290 (2017).
8. Yubuki, N. & Leander, B. S. Evolution of microtubule organizing centers across the tree of eukaryotes. *Plant J.* **75**, 230–244 (2013).
9. Gupta, A. & Kitagawa, D. Ultrastructural diversity between centrioles of eukaryotes. *J. Biochem. (Tokyo)* **164**, 1–8 (2018).
10. Cavalier-Smith, T. Ciliary transition zone evolution and the root of the eukaryote tree: implications for opisthokont origin and classification of kingdoms Protozoa, Plantae, and Fungi. *Protoplasma* (2021) doi:10.1007/s00709-021-01665-7.
11. Cavalier-Smith, T. The origin of fungi and pseudofungi. in *Evolutionary biology of the fungi : Symposium of the British Mycological Society, held at the University of Bristol, April 1986* (ed. Rayner, A. D. M.) 339–353 (Cambridge University Press, 1987).
12. Adl, S. M. *et al.* The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* **52**, 399–451 (2005).
13. Adl, S. M. *et al.* The Revised Classification of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* **59**, 429–514 (2012).

14. Adl, S. M. *et al.* Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* **66**, 4–119 (2019).
15. Torruella, G. *et al.* Phylogenomics Reveals Convergent Evolution of Lifestyles in Close Relatives of Animals and Fungi. *Curr. Biol.* **25**, 2404–2410 (2015).
16. Ruiz-Trillo, I. & de Mendoza, A. Towards understanding the origin of animal development. *Development* **147**, dev192575 (2020).
17. Galindo, L. J., López-García, P., Torruella, G., Karpov, S. & Moreira, D. Phylogenomics of a new fungal phylum reveals multiple waves of reductive evolution across Holomycota. *Nat. Commun.* **12**, 4973 (2021).
18. Индейкин, Ф. А., Мавликеев, М. О. & Деев, Р. В. Цилии и цилиопатии. *Гены И Клетки* **15**, 20–32 (2020).
19. Valentine, M. & Van Houten, J. Using Paramecium as a Model for Ciliopathies. *Genes* **12**, 1493 (2021).
20. Meng, D. & Pan, J. Chlamydomonas: Cilia and Ciliopathies. in *Chlamydomonas: Biotechnology and Biomedicine* (ed. Hippler, M.) 73–97 (Springer International Publishing, 2017). doi:10.1007/978-3-319-66360-9_4.
21. Soares, H., Sunter, J. D., Wloga, D., Joachimiak, E. & Miceli, C. Trypanosoma, Paramecium and Tetrahymena: From genomics to flagellar and ciliary structures and cytoskeleton dynamics. *Eur. J. Protistol.* **76**, 125722 (2020).
22. Andorfer, R. & Alper, J. D. From isolated structures to continuous networks: A categorization of cytoskeleton-based motile engineered biological microstructures. *WIREs Nanomedicine Nanobiotechnology* **11**, e1553 (2019).
23. Banerjee, S., Gardel, M. L. & Schwarz, U. S. The Actin Cytoskeleton as an Active Adaptive Material. *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.* **11**, 421–439 (2020).
24. Keya, J. J., Kabir, A. Md. R. & Kakugo, A. Synchronous operation of biomolecular engines. *Biophys. Rev.* **12**, 401–409 (2020).

25. Paweletz, N. Walther Flemming: pioneer of mitosis research. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 72–75 (2001).
26. Flemming, W. Beitrage zur Kenntniss der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. *Arch. Für Mikrosk. Anat.* **16**, 302–436 (1879).
27. Koltzoff, N. K. Ueber formbestimmende elastische Gebilde in Zellen. *Biologisches Zentralblatt* 680–696 (1903).
28. Кольцов, Н. К. *Организация клетки. Сборник экспериментальных исследований, статей и речей. 1903-1935 гг.* (Гос. изд-во биол. и мед. литературы, 1936).
29. Frixione, E. Recurring views on the structure and function of the cytoskeleton: a 300-year epic. *Cell Motil. Cytoskeleton* **46**, 73–94 (2000).
30. Wintrebert, P. La rotation immédiate de l'oeuf pondu et la rotation d'activation chez *Discoglossus pictus* Otth. *CR Soc. Biol* (1931).
31. Haase, K. & Pelling, A. Investigating cell mechanics with atomic force microscopy. *J. R. Soc. Interface R. Soc.* **12**, (2015).
32. Mostowy, S. & Cossart, P. Septins: the fourth component of the cytoskeleton. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**, 183–194 (2012).
33. Dawson, S. C. & Paredez, A. R. Alternative cytoskeletal landscapes: cytoskeletal novelty and evolution in basal excavate protists. *Curr. Opin. Cell Biol.* **25**, 134–141 (2013).
34. Vignaud, T., Blanchoin, L. & Théry, M. Directed cytoskeleton self-organization. *Trends Cell Biol.* **22**, 671–682 (2012).
35. Pegoraro, A. F., Janmey, P. & Weitz, D. A. Mechanical Properties of the Cytoskeleton and Cells. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **9**, a022038 (2017).
36. Sweeney, H. L. & Holzbaur, E. L. F. Motor Proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **10**, a021931 (2018).
37. Coluccio, L. M. *Myosins: A Superfamily of Molecular Motors.* (Springer International Publishing, 2020).

38. Moujaber, O. & Stochaj, U. The Cytoskeleton as Regulator of Cell Signaling Pathways. *Trends Biochem. Sci.* **45**, 96–107 (2020).
39. Discher, D. E., Mooney, D. J. & Zandstra, P. W. Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science* **324**, 1673 (2009).
40. Janota, C. S., Calero-Cuenca, F. J. & Gomes, E. R. The role of the cell nucleus in mechanotransduction. *Curr. Opin. Cell Biol.* **63**, 204–211 (2020).
41. Cole, E. & Gaertig, J. Anterior–posterior pattern formation in ciliates. *J. Eukaryot. Microbiol.* **69**, (2022).
42. Wagstaff, J. & Löwe, J. Prokaryotic cytoskeletons: protein filaments organizing small cells. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 187–201 (2018).
43. Akil, C. *et al.* Structure and dynamics of Odinarchaeota tubulin and the implications for eukaryotic microtubule evolution. *Sci. Adv.* **8**, eabm2225 (2022).
44. Lindås, A.-C., Valegård, K. & Ettema, T. J. G. Archaeal Actin-Family Filament Systems. *Subcell. Biochem.* **84**, 379–392 (2017).
45. Rodrigues-Oliveira, T. *et al.* Actin cytoskeleton and complex cell architecture in an Asgard archaeon. *Nature* **613**, 332–339 (2023).
46. Pollard, T. D. Actin and Actin-Binding Proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **8**, a018226 (2016).
47. Rottner, K., Faix, J., Bogdan, S., Linder, S. & Kerkhoff, E. Actin assembly mechanisms at a glance. *J. Cell Sci.* **130**, 3427–3435 (2017).
48. Velle, K. B. & Fritz-Laylin, L. K. Diversity and evolution of actin-dependent phenotypes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **58–59**, 40–48 (2019).
49. Kelsch, D. J. & Tootle, T. L. Nuclear Actin: From Discovery to Function. *Anat. Rec.* **301**, 1999–2013 (2018).
50. Kelkar, M., Bohec, P. & Charras, G. Mechanics of the cellular actin cortex: From signalling to shape change. *Curr. Opin. Cell Biol.* **66**, 69–78 (2020).

51. GRPECKI, A. Supramolecular aspects of amoeboid movement. *Prog. Protozool.* 117.
52. Pelaseyed, T. & Bretscher, A. Regulation of actin-based apical structures on epithelial cells. *J. Cell Sci.* **131**, jcs221853 (2018).
53. Sauvanet, C., Wayt, J., Pelaseyed, T. & Bretscher, A. Structure, Regulation, and Functional Diversity of Microvilli on the Apical Domain of Epithelial Cells. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **31**, 593–621 (2015).
54. Schaks, M., Giannone, G. & Rottner, K. Actin dynamics in cell migration. *Essays Biochem.* **63**, 483–495 (2019).
55. Mullins, R. D. Actin-Related Proteins. in *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition)* (eds. Lennarz, W. J. & Lane, M. D.) 36–41 (Academic Press, 2013).
doi:10.1016/B978-0-12-378630-2.00468-0.
56. Trivedi, D. V., Nag, S., Spudich, A., Ruppel, K. M. & Spudich, J. A. The Myosin Family of Mechanoenzymes: From Mechanisms to Therapeutic Approaches. *Annu. Rev. Biochem.* **89**, 667–693 (2020).
57. Kollmar, M. & Mühlhausen, S. Myosin repertoire expansion coincides with eukaryotic diversification in the Mesoproterozoic era. *BMC Evol. Biol.* **17**, 211 (2017).
58. Fili, N. & Toseland, C. P. Unconventional Myosins: How Regulation Meets Function. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 67 (2020).
59. Robert-Paganin, J., Pylypenko, O., Kikuti, C., Sweeney, H. L. & Houdusse, A. Force Generation by Myosin Motors: A Structural Perspective. *Chem. Rev.* **120**, 5–35 (2020).
60. Agarwal, P. & Zaidel-Bar, R. Principles of Actomyosin Regulation In Vivo. *Trends Cell Biol.* **29**, 150–163 (2019).
61. Akil, C. *et al.* Mythical origins of the actin cytoskeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* **68**, 55–63 (2021).
62. Preisner, H., Habicht, J., Garg, S. G. & Gould, S. B. Intermediate filament protein evolution and protists. *Cytoskeleton* **75**, 231–243 (2018).

63. Herrmann, H. & Aebi, U. Intermediate Filaments: Structure and Assembly. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **8**, a018242 (2016).
64. Eldirany, S. A., Lomakin, I. B., Ho, M. & Bunick, C. G. Recent insight into intermediate filament structure. *Curr. Opin. Cell Biol.* **68**, 132–143 (2021).
65. Kollmar, M. Polyphyly of nuclear lamin genes indicates an early eukaryotic origin of the metazoan-type intermediate filament proteins. *Sci. Rep.* **5**, 10652 (2015).
66. Švagr, E. Protein composition of the cytoskeleton of protists. (2020).
67. Nabi, A., Yano, J., Valentine, M. S., Picariello, T. & Van Houten, J. L. SF-Assemblin genes in Paramecium: phylogeny and phenotypes of RNAi silencing on the ciliary-striated rootlets and surface organization. *Cilia* **8**, 2 (2019).
68. Soh, A. W. J. *et al.* Ciliary force-responsive striated fibers promote basal body connections and cortical interactions. *J. Cell Biol.* **219**, e201904091 (2020).
69. Preisner, H. *et al.* The Cytoskeleton of Parabasalian Parasites Comprises Proteins that Share Properties Common to Intermediate Filament Proteins. *Protist* **167**, 526–543 (2016).
70. Vaughan, S., Kohl, L., Ngai, I., Wheeler, R. J. & Gull, K. A repetitive protein essential for the flagellum attachment zone filament structure and function in *Trypanosoma brucei*. *Protist* **159**, 127–136 (2008).
71. Styczynska-Soczka, K. & Jarman, A. P. The *Drosophila* homologue of Rootletin is required for mechanosensory function and ciliary rootlet formation in chordotonal sensory neurons. *Cilia* **4**, 9 (2015).
72. Auxier, B., Dee, J., Berbee, M. L. & Momany, M. Diversity of opisthokont septin proteins reveals structural constraints and conserved motifs. *BMC Evol. Biol.* **19**, 4 (2019).
73. Geimer, S. & Melkonian, M. Centrin Scaffold in *Chlamydomonas reinhardtii* Revealed by Immunoelectron Microscopy. *Eukaryot. Cell* **4**, 1253–1263 (2005).

74. Dantas, T. J., Daly, O. M. & Morrison, C. G. Such small hands: the roles of centrin/caltractins in the centriole and in genome maintenance. *Cell. Mol. Life Sci.* **69**, 2979–2997 (2012).
75. Fleury-Aubusson, A. “Novel Cytoskeletal Proteins in Protists”: Introductory Remarks 1. *J. Eukaryot. Microbiol.* **50**, 3–8 (2003).
76. Zhang, J. *et al.* Giant proteins in a giant cell: Molecular basis of ultrafast Ca²⁺-dependent cell contraction. *Sci. Adv.* **9**, eadd6550 (2023).
77. Lüders, J. *The Microtubule Cytoskeleton: Organisation, Function and Role in Disease.* (Springer, 2016).
78. Chaaban, S. & Brouhard, G. J. A microtubule bestiary: structural diversity in tubulin polymers. *Mol. Biol. Cell* **28**, 2924–2931 (2017).
79. Tovey, C. A. & Conduit, P. T. Microtubule nucleation by γ -tubulin complexes and beyond. *Essays Biochem.* **62**, 765–780 (2018).
80. Findeisen, P. *et al.* Six subgroups and extensive recent duplications characterize the evolution of the eukaryotic tubulin protein family. *Genome Biol. Evol.* **6**, 2274–2288 (2014).
81. Janke, C. & Magiera, M. M. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **21**, 307–326 (2020).
82. Joachimiak, E. & Wloga, D. Tubulin post-translational modifications in protists – Tiny models for solving big questions. *Semin. Cell Dev. Biol.* (2021)
doi:10.1016/j.semcdb.2021.12.004.
83. Bodakuntla, S., Jijumon, A. S., Villablanca, C., Gonzalez-Billault, C. & Janke, C. Microtubule-Associated Proteins: Structuring the Cytoskeleton. *Trends Cell Biol.* **29**, 804–819 (2019).
84. Ali, I. & Yang, W.-C. The functions of kinesin and kinesin-related proteins in eukaryotes. *Cell Adhes. Migr.* **14**, 139–152 (2020).

85. Vicente, J. J. & Wordeman, L. Mitosis, Microtubule Dynamics and the Evolution of Kinesins. *Exp. Cell Res.* **334**, 61–69 (2015).
86. Hirose, K. & Amos, L. A. *Handbook of Dynein*. (CRC Press, 2012).
87. Canty, J. T., Tan, R., Kusakci, E., Fernandes, J. & Yildiz, A. Structure and Mechanics of Dynein Motors. *Annu. Rev. Biophys.* **50**, 549–574 (2021).
88. Bettencourt-Dias, M. Q&A: Who needs a centrosome? *BMC Biol.* **11**, 28 (2013).
89. Joukov, V., Walter, J. C. & De Nicolo, A. The Cep192-Organized Aurora A-Plk1 Cascade Is Essential for Centrosome Cycle and Bipolar Spindle Assembly. *Mol. Cell* **55**, 578–591 (2014).
90. Bornens, M. Centrosome composition and microtubule anchoring mechanisms. *Curr. Opin. Cell Biol.* **14**, 25–34 (2002).
91. O’Connell, K. F. Centrosomes: An acentriolar MTOC at the ciliary base. *Curr. Biol.* **31**, R730–R733 (2021).
92. Basal bodies and associated structures are not required for normal flagellar motion or phototaxis in the green alga *Chlorogonium elongatum*. *J. Cell Biol.* **100**, 297–309 (1985).
93. Uzbekov, R. E. & Avidor-Reiss, T. Principal Postulates of Centrosomal Biology. Version 2020. *Cells* **9**, 2156 (2020).
94. Hatch, E. & Stearns, T. The Life Cycle of Centrioles. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **75**, 425–431 (2010).
95. Gönczy, P. & Hatzopoulos, G. N. Centriole assembly at a glance. *J. Cell Sci.* **132**, jcs228833 (2019).
96. Le Guennec, M. *et al.* A helical inner scaffold provides a structural basis for centriole cohesion. *Sci. Adv.* **6**, eaaz4137 (2020).
97. Gomes Pereira, S., Dias Louro, M. A. & Bettencourt-Dias, M. Biophysical and Quantitative Principles of Centrosome Biogenesis and Structure. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **37**, 43–63 (2021).

98. Sanchez, A. D. & Feldman, J. L. Microtubule-organizing centers: from the centrosome to non-centrosomal sites. *Curr. Opin. Cell Biol.* **44**, 93–101 (2017).
99. Paz, J. & Lüders, J. Microtubule-Organizing Centers: Towards a Minimal Parts List. *Trends Cell Biol.* **28**, 176–187 (2018).
100. Wu, J. & Akhmanova, A. Microtubule-Organizing Centers. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **33**, 51–75 (2017).
101. Azimzadeh, J. Evolution of the centrosome, from the periphery to the center. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **66**, 96–103 (2021).
102. Ito, D. & Bettencourt-Dias, M. Centrosome Remodelling in Evolution. *Cells* **7**, 71 (2018).
103. Гиляров, М. С. *Биологический энциклопедический словарь*. (Рипол Классик, 1989).
104. Khan, S. & Scholey, J. M. Assembly, Functions and Evolution of Archaeella, Flagella and Cilia. *Curr. Biol. CB* **28**, R278–R292 (2018).
105. Fisch, C. & Dupuis-Williams, P. Ultrastructure of cilia and flagella – back to the future! *Biol. Cell* **103**, 249–270 (2011).
106. Pedersen, L. B., Schröder, J. M., Satir, P. & Christensen, S. T. The Ciliary Cytoskeleton. in *Comprehensive Physiology* 779–803 (John Wiley & Sons, Ltd, 2012).
doi:10.1002/cphy.c110043.
107. Хаусман, К., Хюльсман, Н. & Радек, Р. *Протистология*. (Товарищество научных изданий КМК, 2010).
108. Карпов, С. А. *Строение клетки протистов*. (ТЕССА, 2001).
109. Moestrup, O. The flagellate cytoskeleton. Introduction of a general terminology for microtubular flagellar roots in protists. *Flagellates Unity Divers. Evol.* (2000).
110. Osinka, A. *et al.* Ciliary Proteins: Filling the Gaps. Recent Advances in Deciphering the Protein Composition of Motile Ciliary Complexes. *Cells* **8**, 730 (2019).
111. Croft, J. T., Zabeo, D., Subramanian, R. & Höög, J. L. Composition, structure and function of the eukaryotic flagellum distal tip. *Essays Biochem.* **62**, 815–828 (2018).

112. Lindemann, C. & Lesich, K. Flagellar and ciliary beating: The proven and the possible. *J. Cell Sci.* **123**, 519–28 (2010).
113. Rao, Q. *et al.* Structures of outer-arm dynein array on microtubule doublet reveal a motor coordination mechanism. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **28**, 799–810 (2021).
114. Ishikawa, T. Cryo-electron tomography of motile cilia and flagella. *Cilia* **4**, 3 (2015).
115. Gui, M., Wang, X., Dutcher, S. K., Brown, A. & Zhang, R. Ciliary central apparatus structure reveals mechanisms of microtubule patterning. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **29**, 483–492 (2022).
116. Lin, J. & Nicastro, D. Asymmetric distribution and spatial switching of dynein activity generates ciliary motility. *Science* **360**, eaar1968 (2018).
117. Keeling, P. J. & Burki, F. Progress towards the Tree of Eukaryotes. *Curr. Biol.* **29**, R808–R817 (2019).
118. Burki, F., Roger, A. J., Brown, M. W. & Simpson, A. G. B. The New Tree of Eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.* **35**, 43–55 (2020).
119. Brown, M. W. *et al.* Phylogenomics Places Orphan Protistan Lineages in a Novel Eukaryotic Super-Group. *Genome Biol. Evol.* **10**, 427–433 (2018).
120. Tikhonenkov, D. V. *et al.* Microbial predators form a new supergroup of eukaryotes. *Nature* **612**, 714–719 (2022).
121. Pawlowski, J. The new micro-kingdoms of eukaryotes. *BMC Biol.* **11**, 40 (2013).
122. Strasser, J. F. H., Irisarri, I., Williams, T. A. & Burki, F. A molecular timescale for eukaryote evolution with implications for the origin of red algal-derived plastids. *Nat. Commun.* **12**, 1879 (2021).
123. Schön, M. E. *et al.* Single cell genomics reveals plastid-lacking Picozoa are close relatives of red algae. *Nat. Commun.* **12**, 6651 (2021).
124. Yazaki, E. *et al.* The closest lineage of Archaeplastida is revealed by phylogenomics analyses that include *Microheliella maris*. *Open Biol.* **12**, 210376 (2022).

125. Cavalier-Smith, T. Kingdom protozoa and its 18 phyla. *Microbiol. Rev.* **57**, 953–994 (1993).
126. Cavalier-Smith, T. Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. *Eur. J. Protistol.* **39**, 338–348 (2003).
127. Cavalier-Smith, T. The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of Protozoa. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**, 297–354 (2002).
128. Sebé-Pedrós, A., Grau-Bové, X., Richards, T. A. & Ruiz-Trillo, I. Evolution and Classification of Myosins, a Paneukaryotic Whole-Genome Approach. *Genome Biol. Evol.* **6**, 290–305 (2014).
129. Ball, S., Colleoni, C., Cenci, U., Raj, J. N. & Tirtiaux, C. The evolution of glycogen and starch metabolism in eukaryotes gives molecular clues to understand the establishment of plastid endosymbiosis. *J. Exp. Bot.* **62**, 1775–1801 (2011).
130. Azimzadeh, J. Exploring the evolutionary history of centrosomes. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **369**, 20130453 (2014).
131. Torruella i Cortés, G. Phylogeny and evolutionary perspective of Opisthokonta protists. (2014).
132. Torruella, G. *et al.* Phylogenetic Relationships within the Opisthokonta Based on Phylogenomic Analyses of Conserved Single-Copy Protein Domains. *Mol. Biol. Evol.* **29**, 531–544 (2012).
133. Paps, J., Medina-Chacón, L. A., Marshall, W., Suga, H. & Ruiz-Trillo, I. Molecular Phylogeny of Unikonts: New Insights into the Position of Apusomonads and Ancyromonads and the Internal Relationships of Opisthokonts. *Protist* **164**, 2–12 (2013).
134. Brown, M. W., Spiegel, F. W. & Silberman, J. D. Phylogeny of the “Forgotten” Cellular Slime Mold, *Fonticula alba*, Reveals a Key Evolutionary Branch within Opisthokonta. *Mol. Biol. Evol.* **26**, 2699–2709 (2009).

135. Cavalier-Smith, T. Early evolution of eukaryote feeding modes, cell structural diversity, and classification of the protozoan phyla Loukozoa, Sulcozoa, and Choanozoa. *Eur. J. Protistol.* **49**, 115–178 (2013).
136. Brown, M. W. *et al.* Phylogenomics demonstrates that breviate flagellates are related to opisthokonts and apusomonads. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **280**, 20131755 (2013).
137. Liu, Y. *et al.* Phylogenomic analyses predict sistergroup relationship of nucleariids and Fungi and paraphyly of zygomycetes with significant support. *BMC Evol. Biol.* **9**, 272 (2009).
138. Lang, B. F., O’Kelly, C., Nerad, T., Gray, M. W. & Burger, G. The Closest Unicellular Relatives of Animals. *Curr. Biol.* **12**, 1773–1778 (2002).
139. Karpov, S. A. *et al.* Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. *Front. Microbiol.* **5**, 112 (2014).
140. Torruella, G. *et al.* Global transcriptome analysis of the aphelid *Paraphelidium tribonemae* supports the phagotrophic origin of fungi. *Commun. Biol.* **1**, 1–11 (2018).
141. Tedersoo, L. *et al.* High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Divers.* **90**, 135–159 (2018).
142. Li, Y. *et al.* A genome-scale phylogeny of the kingdom Fungi. *Curr. Biol.* **31**, 1653–1665.e5 (2021).
143. Voigt, K. *et al.* Early-diverging fungal phyla: taxonomy, species concept, ecology, distribution, anthropogenic impact, and novel phylogenetic proposals. *Fungal Divers.* 1–40 (2021) doi:10.1007/s13225-021-00480-y.
144. Ros-Rocher, N., Pérez-Posada, A., Leger, M. M. & Ruiz-Trillo, I. The origin of animals: an ancestral reconstruction of the unicellular-to-multicellular transition. *Open Biol.* **11**, 200359 (2021).

145. Hehenberger, E. *et al.* Novel Predators Reshape Holozoan Phylogeny and Reveal the Presence of a Two-Component Signaling System in the Ancestor of Animals. *Curr. Biol.* **27**, 2043-2050.e6 (2017).
146. Tikhonenkov, D. V. *et al.* New Lineage of Microbial Predators Adds Complexity to Reconstructing the Evolutionary Origin of Animals. *Curr. Biol.* **30**, 4500-4509.e5 (2020).
147. Arroyo, A. S., Lannes, R., Baptiste, E. & Ruiz-Trillo, I. Gene Similarity Networks Unveil a Potential Novel Unicellular Group Closely Related to Animals from the Tara Oceans Expedition. *Genome Biol. Evol.* **12**, 1664–1678 (2020).
148. Карпов, С. А. & МЫЛЬНИКОВ, А. П. Биология и ультраструктура бесцветных жгутиконосцев Apusomonadida ord. n. *ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ* **68**, 5–17 (1989).
149. Heiss, A. A., Brown, M. W. & Simpson, A. G. B. Apusomonadida. in *Handbook of the Protists* (eds. Archibald, J. M. et al.) 1–27 (Springer International Publishing, 2016). doi:10.1007/978-3-319-32669-6_15-1.
150. Karpov, S. Apusozoa. *Protista Part III Handb. Zool. St Petersburg-Mosc. KMK Sci. Press LTD St Petersburg-Mosc.* 308–328 (2011).
151. Torruella, G. *et al.* Expanding the molecular and morphological diversity of Apusomonadida, a deep-branching group of gliding bacterivorous protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* **70**, e12956 (2023).
152. Karpov, S. A. The flagellar apparatus structure of Apusomonas proboscidea and apusomonad relationships. *Protistology* **5**, 146–155 (2007).
153. Heiss, A. A., Walker, G. & Simpson, A. G. B. The Microtubular Cytoskeleton of the Apusomonad Thecamonas, a Sister Lineage to the Opisthokonts. *Protist* **164**, 598–621 (2013).
154. Cavalier-Smith, T., Chao, E. E.-Y. & Oates, B. Molecular phylogeny of Amoebozoa and the evolutionary significance of the unikont Phalansterium. *Eur. J. Protistol.* **40**, 21–48 (2004).

155. Hamann, E. *et al.* Environmental Breviatea harbor mutualistic Arcobacter epibionts. *Nature* **534**, 254–258 (2016).
156. Heiss, A. A., Walker, G. & Simpson, A. G. B. The flagellar apparatus of Breviata anathema, a eukaryote without a clear supergroup affinity. *Eur. J. Protistol.* **49**, 354–372 (2013).
157. Galindo, L. J. *et al.* Combined cultivation and single-cell approaches to the phylogenomics of nucleariid amoebae, close relatives of fungi. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **374**, 20190094 (2019).
158. Gabaldón, T., Völcker, E. & Torruella, G. On the Biology, Diversity and Evolution of Nucleariid Amoebae (Amorphea, Obazoa, Opisthokonta). *Protist* **173**, 125895 (2022).
159. Patterson, D. J., Surek, B. & Melkonian, M. The Ultrastructure of Vampyrellidium perforans Surek & Melkonian and Its Taxonomic Position Among the Naked Filose Amoebae. *J. Protozool.* **34**, 63–67 (1987).
160. James, T. Y. *et al.* Shared Signatures of Parasitism and Phylogenomics Unite Cryptomycota and Microsporidia. *Curr. Biol.* **23**, 1548–1553 (2013).
161. Wijayawardene, N. N. *et al.* Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere Online J. Fungal Biol.* **11**, 1060–1456 (2020).
162. Letcher, P. M. & Powell, M. J. A taxonomic summary and revision of Rozella (Cryptomycota). *IMA Fungus* **9**, 383–399 (2018).
163. Held, A. A. The zoospore of Rozella allomycis: ultrastructure. *Can. J. Bot.* **53**, 2212–2232 (1975).
164. Letcher, P. *et al.* Morphological, molecular, and ultrastructural characterization of Rozella rhizoclosmatii, a new species in Cryptomycota. *Fungal Biol.* **121**, (2016).
165. Letcher, P. M. *et al.* Morphology, ultrastructure, and molecular phylogeny of Rozella multimorpha, a new species in Cryptomycota. *J. Eukaryot. Microbiol.* **65**, 180–190 (2018).

166. Wadi, L. & Reinke, A. W. Evolution of microsporidia: An extremely successful group of eukaryotic intracellular parasites. *PLoS Pathog.* **16**, e1008276 (2020).
167. Park, E. & Poulin, R. Revisiting the phylogeny of microsporidia. *Int. J. Parasitol.* **51**, 855–864 (2021).
168. Cali, A., Becnel, J. & Takvorian, P. Microsporidia. in *Handbook of the Protists: Second Edition* 1559–1618 (2017). doi:10.1007/978-3-319-28149-0_27.
169. Bigliardi, E. & Sacchi, L. Cell biology and invasion of the microsporidia. *Microbes Infect.* **3**, 373–379 (2001).
170. Dai, W. *et al.* Identification and localization of SAS-6 in the microsporidium *Nosema bombycis*. *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.* **70**, 182–188 (2019).
171. Mikhailov, K. V. *et al.* Genomic analysis reveals cryptic diversity in aphelids and sheds light on the emergence of Fungi. *Curr. Biol.* **32**, 4607-4619.e7 (2022).
172. Karpov, S. A. *et al.* Obligately Phagotrophic Aphelids Turned out to Branch with the Earliest-diverging Fungi. *Protist* **164**, 195–205 (2013).
173. Karpov, S. A., Cvetkova, V. S., Annenkova, N. V. & Vishnyakov, A. E. Kinetid Structure of Aphelidium and Paraphelidium (Aphelida) Suggests the Features of the Common Ancestor of Fungi and Opisthosporidia. *J. Eukaryot. Microbiol.* **66**, 911–924 (2019).
174. Letcher, P. M., Powell, M. J., Lee, P. A., Lopez, S. & Burnett, M. Molecular Phylogeny and Ultrastructure of *Aphelidium desmodesmi*, a New Species in Aphelida (Opisthosporidia). *J. Eukaryot. Microbiol.* **64**, 655–667 (2017).
175. Seto, K., Matsuzawa, T., Kuno, H. & Kagami, M. Morphology, Ultrastructure, and Molecular Phylogeny of *Aphelidium collabens* sp. nov. (Aphelida), a Parasitoid of a Green Alga *Coccomyxa* sp. *Protist* **171**, 125728 (2020).
176. Karpov, S. A. *et al.* Morphology and molecular phylogeny of *Aphelidium insulamus* sp. nov. (Aphelida, Opisthosporidia). *Protistology* **14**, (2020).

177. Letcher, P. & Powell, M. Phylogenetic position of *Phlyctochytrium planicorne* (Chytridiales, Chytridiomycota) based on zoospore ultrastructure and partial nuclear LSU rRNA gene sequence analysis. *Nova Hedwig*. **80**, 135–146 (2005).
178. Letcher, P. & Powell, M. Hypothesized evolutionary trends in zoospore ultrastructural characters in Chytridiales (Chytridiomycota). *Mycologia* **106**, (2014).
179. Powell, M. J. & Letcher, P. M. Chytridiomycota, Monoblepharidomycota and Neocallimastigomycota. in *Systematics and Evolution: Part A* (eds. McLaughlin, D. J. & Spatafora, J. W.) 141–175 (Springer, 2014). doi:10.1007/978-3-642-55318-9_6.
180. Letcher, P. M., Powell, M. J. & Davis, W. J. Morphology, zoospore ultrastructure, and molecular position of taxa in the Asterophlyctis lineage (Chytridiales, Chytridiomycota). *Fungal Biol.* **122**, 1109–1123 (2018).
181. James, T. Y. *et al.* A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia* **98**, 860–871 (2006).
182. Powell, M. J. Blastocladiomycota. in *Handbook of the Protists* (eds. Archibald, J. M., Simpson, A. G. B. & Slamovits, C. H.) 1497–1521 (Springer International Publishing, 2017). doi:10.1007/978-3-319-28149-0_17.
183. Lange, L. & Olson, L. W. The zoospore of *Olpidium brassicae*. *Protoplasma* **90**, 33–45 (1976).
184. Barr, D. J. & Hadland-Hartmann, V. Zoospore ultrastructure of *Olpidium cucurbitacearum* (Chytridiales). *Can. J. Bot.* **55**, 3063–3074 (1977).
185. Galindo, L. J., Milner, D. S., Gomes, S. L. & Richards, T. A. A light-sensing system in the common ancestor of the fungi. *Curr. Biol.* **32**, 3146-3153.e3 (2022).
186. Barr, D. Chytridiomycota. in *The Mycota Systematics and Evolution: Part A* 93–112 (Springer, 2001).
187. Jaspersen, S. L. & Winey, M. THE BUDDING YEAST SPINDLE POLE BODY: Structure, Duplication, and Function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **20**, 1–28 (2004).

188. Jaspersen, S. L. Anatomy of the fungal microtubule organizing center, the spindle pole body. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **66**, 22–31 (2021).
189. Glockling, S. L., Marshall, W. L. & Gleason, F. H. Phylogenetic interpretations and ecological potentials of the Mesomycetozoa (Ichthyosporea). *Fungal Ecol.* **6**, 237–247 (2013).
190. Ragan, M. A., Murphy, C. A. & Rand, T. G. Are Ichthyosporea animals or fungi? Bayesian phylogenetic analysis of elongation factor 1 α of *Ichthyophonus irregularis*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **29**, 550–562 (2003).
191. Reynolds, N. K. *et al.* Resolving relationships at the animal-fungal divergence: A molecular phylogenetic study of the protist trichomycetes (Ichthyosporea, Eccrinida). *Mol. Phylogenet. Evol.* **109**, 447–464 (2017).
192. Pekkarinen, M., Lom, J., Murphy, C., Ragan, M. & Dyková, I. Phylogenetic position and ultrastructure of two *Dermocystidium* species (Ichthyosporea) from the common perch (*Perca fluviatilis*). *Acta Protozool.* (2003).
193. Marshall, W. L. & Berbee, M. L. Comparative morphology and genealogical delimitation of cryptic species of sympatric isolates of *Sphaeroforma* (Ichthyosporea, Opisthokonta). *Protist* **164**, 287–311 (2013).
194. Cavalier-Smith, T. & Paula Allsopp, M. T. E. *Corallochytrium*, an enigmatic non-flagellate protozoan related to choanoflagellates. *Eur. J. Protistol.* **32**, 306–310 (1996).
195. Kożyczkowska, A. *et al.* Stable transfection in protist *Corallochytrium limacisporum* identifies novel cellular features among unicellular animals relatives. *Curr. Biol.* **31**, 4104–4110.e5 (2021).
196. Shalchian-Tabrizi, K. *et al.* Multigene phylogeny of choanozoa and the origin of animals. *PloS One* **3**, e2098 (2008).
197. Sebé-Pedrós, A. *et al.* Insights into the origin of metazoan filopodia and microvilli. *Mol. Biol. Evol.* **30**, 2013–2023 (2013).

198. Mylnikov, A. P., Tikhonenkov, D. V., Karpov, S. A. & Wylezich, C. Microscopical Studies on *Ministeria vibrans* Tong, 1997 (Filasterea) Highlight the Cytoskeletal Structure of the Common Ancestor of Filasterea, Metazoa and Choanoflagellata. *Protist* **170**, 385–396 (2019).
199. Tikhonenkov, D. V. *et al.* Insights into the origin of metazoan multicellularity from predatory unicellular relatives of animals. *BMC Biol.* **18**, 39 (2020).
200. Richter, D. J. & Nitsche, F. Choanoflagellata. in *Handbook of the Protists* (eds. Archibald, J. M. *et al.*) 1–19 (Springer International Publishing, 2016). doi:10.1007/978-3-319-32669-6_5-1.
201. Karpov, S. A. & Leadbeater, B. S. C. Cytoskeleton Structure and Composition in Choanoflagellates. *J. Eukaryot. Microbiol.* **45**, 361–367 (1998).
202. Karpov, S. A. Flagellar apparatus structure of choanoflagellates. *Cilia* **5**, 11 (2016).
203. Leadbeater, B. S. C. & Green, J. C. *The flagellates: unity, diversity, and evolution.* (Taylor & Francis, 2000).
204. Pinsky, J. M. *et al.* Three-dimensional flagella structures from animals' closest unicellular relatives, the Choanoflagellates. *eLife* **11**, e78133 (2022).
205. Cerón-Romero, M. A., Fonseca, M. M., de Oliveira Martins, L., Posada, D. & Katz, L. A. Phylogenomic Analyses of 2,786 Genes in 158 Lineages Support a Root of the Eukaryotic Tree of Life between Opisthokonts and All Other Lineages. *Genome Biol. Evol.* **14**, evac119 (2022).
206. Cavalier-Smith, T. & Chao, E. E. The opalozoan *Apusomonas* is related to the common ancestor of animals, fungi, and choanoflagellates. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **261**, 1–6 (1995).
207. Tekle, Y. I., Wang, F., Wood, F. C., Anderson, O. R. & Smirnov, A. New insights on the evolutionary relationships between the major lineages of Amoebozoa. *Sci. Rep.* **12**, 11173 (2022).

208. Beeby, M., Ferreira, J. L., Tripp, P., Albers, S.-V. & Mitchell, D. R. Propulsive nanomachines: the convergent evolution of archaella, flagella and cilia. *FEMS Microbiol. Rev.* **44**, 253–304 (2020).
209. Gräf, R., Grafe, M., Meyer, I., Mitic, K. & Pitzén, V. The Dictyostelium Centrosome. *Cells* **10**, 2657 (2021).
210. Bullitt, E., Rout, M. P., Kilmartin, J. V. & Akey, C. W. The Yeast Spindle Pole Body Is Assembled around a Central Crystal of Spc42p. *Cell* **89**, 1077–1086 (1997).
211. Pozdnyakov, I. R., Sokolova, A. M., Ereskovsky, A. & Karpov, S. A. Kinetid structure of choanoflagellates and choanocytes of sponges does not support their close relationship. *Protistology* **11**, 248–264 (2017).
212. Lundin, K., Schander, C. & Todt, C. Ultrastructure of epidermal cilia and ciliary rootlets in Scaphopoda. *J. Molluscan Stud. - J MOLLUS STUD* **75**, 69–73 (2008).
213. Burki, F., Roger, A. J., Brown, M. W. & Simpson, A. G. B. The New Tree of Eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.* **35**, 43–55 (2020).

Приложения

Приложение I. Таблицы

Таблица 1. Сравнительная характеристика основных компонентов цитоскелета эукариот

Название компонента	Микротрубочки	Микрофиламенты	Септины	Промежуточные филаменты
Структура мономеров	Тубулин - глобулярный белок, состоящий из двух субъединиц - альфа- и бета-тубулина. Каждая имеет сайт связывания ГТФ	G-актин - глобулярный белок, состоящий из одной полипептидной цепи.	Септины - глобулярные белки, состоящий из одной полипептидной цепи.	Разные белки, имеющие общую структуру: центральный альфа-спиральный стержневой домен, окруженный неструктурированными N- и C-терминальными доменами
Размер мономеров	55 кДа (одна субъединица)	42 кДа	32-65 кДа	40-220 кДа
Кофакторы сборки	GTP/GDP	ATP/ADP	GTP/GDP	Нет
Структура филаментов	Полые цилиндры из 13 параллельных протофиламентов, образованных линейными цепями тубулиновых димеров. Протофиламенты имеют лестничную структуру с чередующимися альфа- и бета-субъединицами.	F-актин. Двойная спираль - две витых цепи, образованных линейными цепями G-актина. Каждая мономерная единица актина повернута на 166° относительно предыдущей, образуя спираль с 13 мономерами на оборот.	Кольца или цепи из нескольких параллельных филаментов, образованных септиновыми мономерами. Каждый мономер имеет два интерфейса для связывания с другими мономерами: G и NC. G-интерфейс образует линейные цепи, а NC-	Веретена из восьми параллельных тетрамеров, образованных двумя параллельными димерами. Каждый димер состоит из двух антипараллельных полипептидных цепей.

			интерфейс образует кольца.	
Полярность	Да. Бета-субъединицы на плюс-конце	Да	Нет	Нет
Диаметр филаментов	25 нм., с просветом 15 нм.	5 – 9 нм.	5 – 20 нм.	8 – 12 нм.
Средняя длина филаментов	200 нм. – 25 мкм.	100 нм. – 30 мкм.	0.5 – 10 мкм.	1– 10 мкм.
Персистентная длина филаментов	5000 мкм.	13,5 мкм.	12 мкм.	0,5 мкм.
Динамика филаментов	Динамически нестабильны на плюс-конце.	Склонны к активной реорганизации и тредмиллингу	Медленная полимеризация и деполимеризация с обоих концов	Сравнительно статичны
Факторы нуклеации	γ -TuRC (γ -tubulin ring complex)	Arp2/3 (actin-related proteins-2/3)	SEPT2, SEPT7,	н/д
Факторы полимеризации	EB1 (end-binding protein 1) , XMAP215 (Xenopus microtubule-associated protein 215), MAP2, Tau	Профилин, тимозин-бета-4, кофилин, формин, Ена/VASP (enabled/vasodilator-stimulated phosphoprotein)	SEPT6, SEPT12	н/д
Факторы деполимеризации	Статмин, кинезин-13 , МСАК (mitotic centromere-associated kinesin),	ADF (actin-depolymerizing factor) / кофилин, гельзолин	н/д	н/д
Стабилизирующие белки	Tau, MAP4, MAP2, таксол	Тропомиозин, альфа-актинин, спектрин,	SEPT9, SEPT11	Плектин, десмин
Факторы разрыва	Катанин, спастин, казпаза 3, катепсин D	Гельзолин, кофилин, виллин	н/д	н/д
Кэпирующие белки	CAP-Gly (CAP-glycine-rich domain) , CLIP-170 (cytoplasmic linker protein-170)	CapZ (capping protein Z-line), GCap39 (gelsolin capping protein of 39 kDa), тропомодулин	н/д	н/д

Сшивающие белки	MAP65, MAP2, Тау, спектроплакины	Фимбрин, альфа-актинин, филамин, спектроплакины, GAS2-like	SEPT6, SEPT8	Филаггрин, спектроплакины
Моторные белки	Кинезины, динеины	Миозины	н/д	н/д
Разнообразие и распространение	Альфа- и бета-тубулин (13 изоформ), гамма-тубулин. Распространены во всех эукариотических клетках.	G-актин (6 изоформ), F-актин. Распространены во всех эукариотических клетках.	Септины (13 изоформ). Распространены в животных и грибах.	Разные белки (75 изоформ). Распространены в животных.
Локализация и комплексы	ЦОМТ, в т. ч. centrosомы, жгутиковый аппарат, веретено деления, аксоподии, отростки нервных клеток.	Кортикальный слой, стресс-волокна, лобоподии, ламеллиподии, филоподии, микроворсинки, адгезионные контакты, сократимый кольцевой аппарат, саркомеры.	Септиновые кольца, участки контакта клеток с субстратом или другими клетками, основания жутиков и других цитоплазматических выростов	Ядерная ламина, цитоплазма, клеточные соединения (десмосомы, гемидесмосомы).
Основные функции	Обеспечивают форму и подвижность клетки, ориентацию и транспорт органелл, сборку веретена деления и жгутикового аппарата	Обеспечивают форму и подвижность клетки, участвуют в сокращении мышц, адгезии клеток, делении клеток и формировании микроворсинок	Участвуют в делении клеток, формировании барьеров между клетками и поддержании клеточной полярности	Обеспечивают механическую прочность и упругость клетки, стабилизируют положение ядра и других органелл, участвуют в образовании клеточных соединений
Прокариотические гомологи	FtsZ, BtubA/B, TubZ	MreB, crenactin	Нет	CreS

Приложение II. Иллюстрации

Рис. 1 (авт.). Схема эволюции центров организации микротрубочек у Opisthokonta (верхняя часть). Источники иллюстраций 8,73,93,146,153,156,157,164,168,173,175,176,179,187,192,198,199,201,209–212. Филогения на основе 14,17,120,124,213. Средняя и нижняя часть иллюстрации на следующих страницах.

Эволюция ЦОМТ одноклеточных Opisthokonta

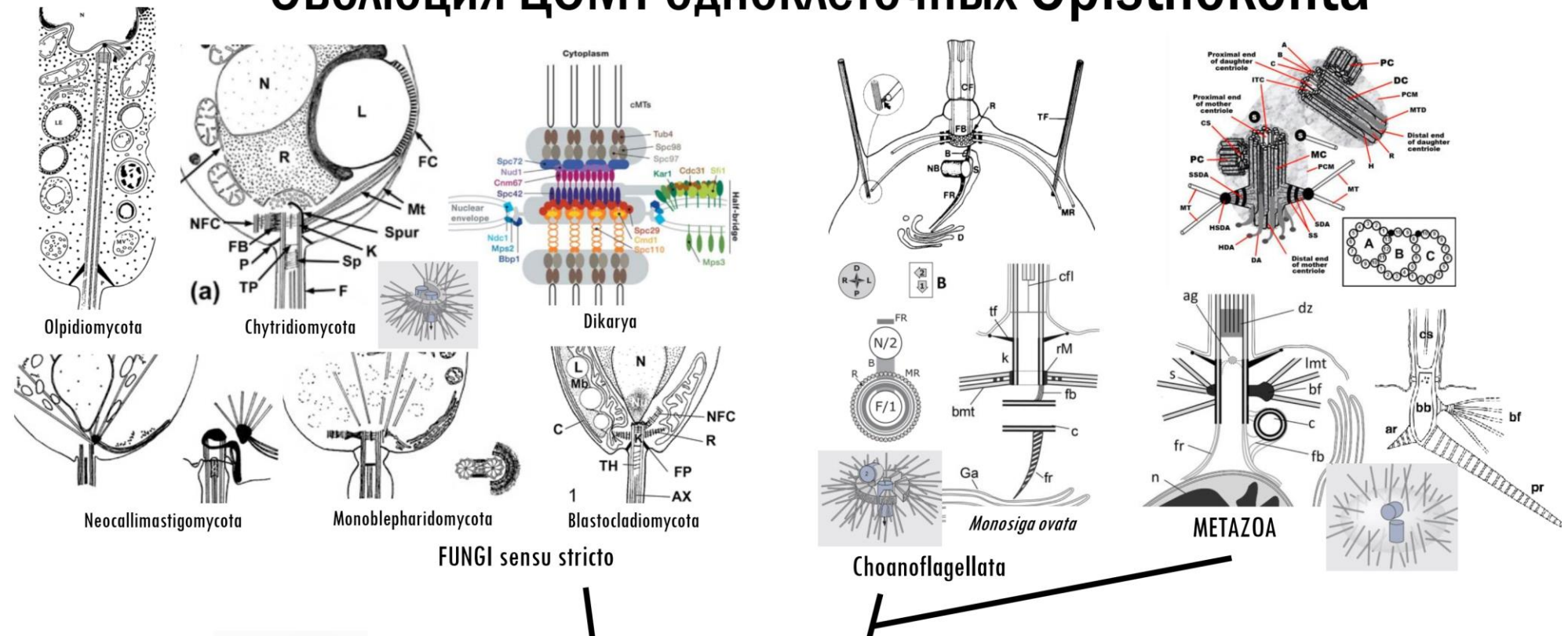


Рис.1.(средняя часть)

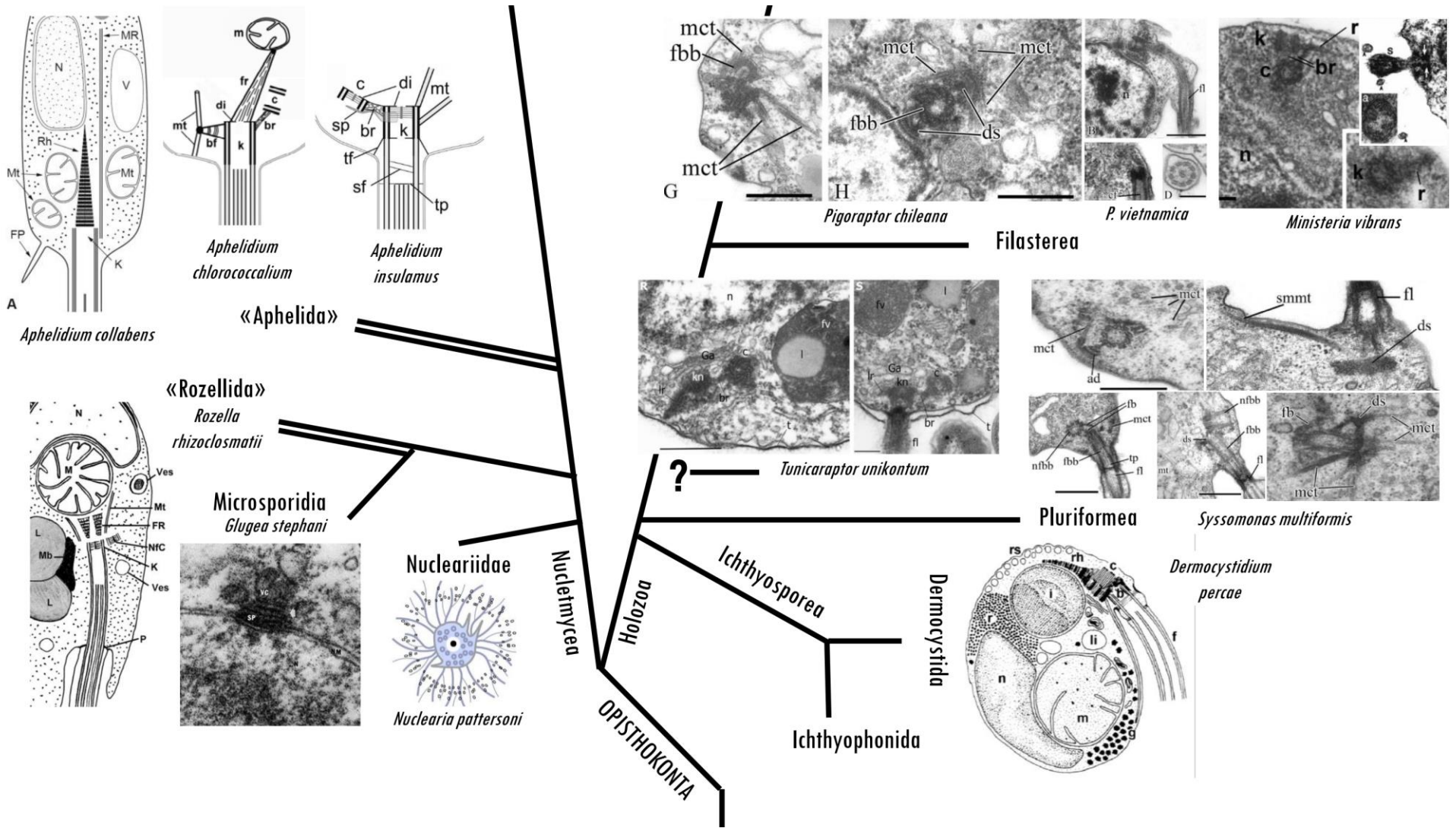
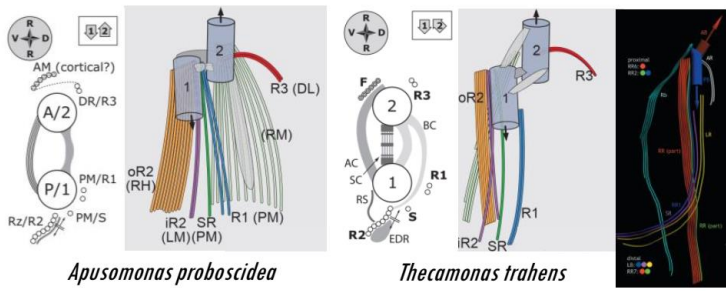


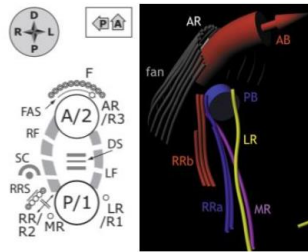
Рис 1. (нижняя часть)



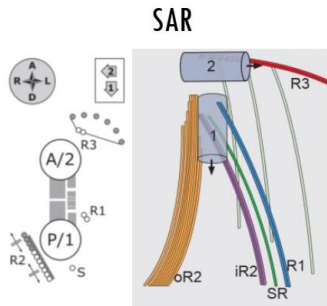
Apusomonas proboscidea

Thecamonas trahens

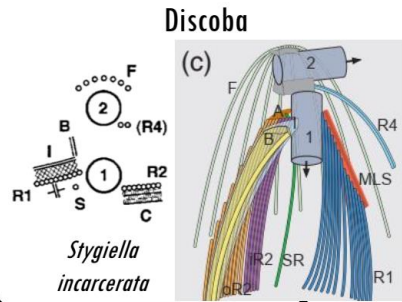
Источники иллюстраций: Yubuki et al., 2013; Heiss et al., 2013a; Heiss et al., 2013b; Geimer et al., 2005; Graf et al., 2021; Pekkarinen et al., 2003; Galindo et al., 2019; Letcher et al., 2016; Cali et al., 2017; Tikhonenkov et al., 2020a; Tikhonenkov et al., 2020b; Mylnikov et al., 2019; Karpov et al., 2019; Karpov et al., 2020; Seto et al., 2020; Powell et al., 2014; Jaspersen et al., 2004; Bullitt et al., 1997; Karpov et al., 1998; Pozdnyakov et al., 2017; Lundin et al., 2008; Uzbekov et al., 2020; **Филогения на основе:** Adl et al., 2019; Burki et al., 2020; Galindo et al., 2021; Tikhonenkov et al., 2022; Yazaki et al., 2022;



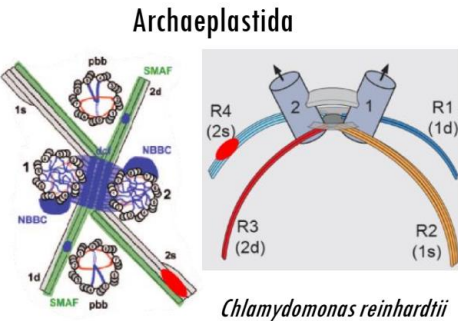
Breviata anathema



Rictus lutensis



Stygiella incarcerata



Chlamydomonas reinhardtii

Apusomonadida

Breviata

Obazoa

«Lobosa»

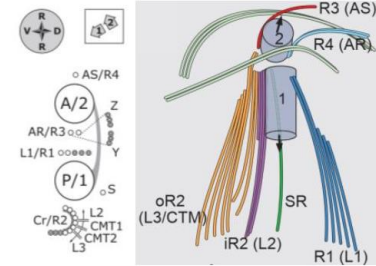
Archamoebae

Amoebozoa

Conosa

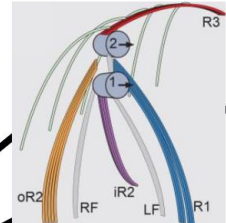
Myxomycota

Ancyromonadida



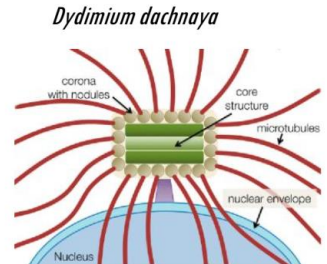
Ancyromonas sigmoides

CRuMs



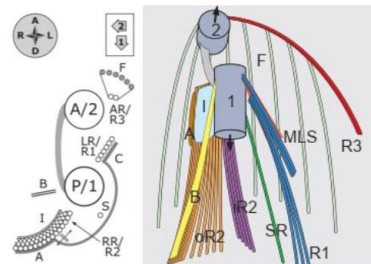
Sulcomonas lacustris

AMORPHEA



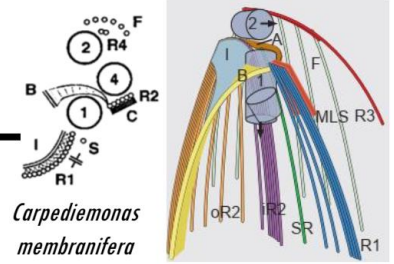
Dictyostelium discoideum

Malavimonadida



Malawimonas jakobiformis

Metamonada



Carpediemonas membranifera

LECA

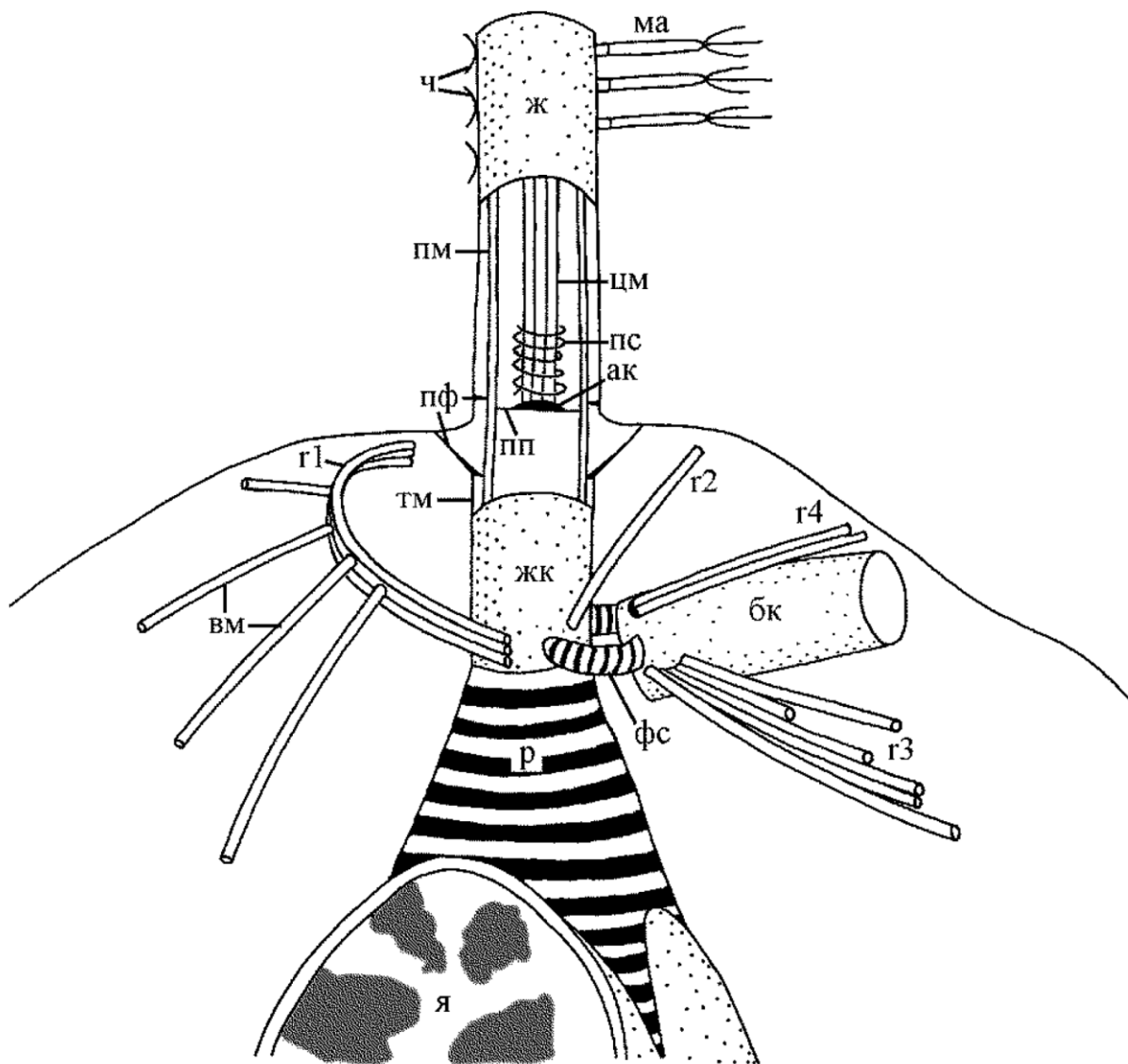


Рис. 2 Обобщённая схема строения жгутикового аппарата эукариот (Из: С. А. Карпов, 2001)¹⁰⁸.
 Обозначения: ак – аксиальная гранула (аксосома); бк – безжгутиковая кинетосома; вл – вторичные микротрубочки; ж – жгутик; жк – жгутиковая кинетосома; ч – чешуйки; пм – периферические микротрубочковые дублеты аксонемы; пп – поперечная пластинка; пс – переходная спираль; пф – переходные фибриллы; р – фибриллярный корешок системы II (риозпласт); тм – микротрубочковые триплеты кинетосомы; фс – фибриллярная связка скинетосом; цм – центральные микротрубочки аксонемы; я – ядро; г1 – ребристый микротрубочковый корешок с отходящими от него вторичными микротрубочками; г2-г4 – микротрубочковые корешки.