УДК 577.21

ГЕНОМ ПРОКАРИОТ

© 2013 г. **Н.В. Равин[1, 2], С.В. Шестаков[2]**

[1] Центр «Биоинженерия» РАН, Москва, Россия, e-mail: nravin@mail.ru;
[2] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, e-mail: shestakovgen@mail.ru

Поступила в редакцию 4 июня 2013 г. Принята к публикации 1 ноября 2013 г.

ВВЕДЕНИЕ

К прокариотам относятся два домена (царства) организмов – бактерии и археи, которые в отличие от эукариот (третий домен живого мира) не содержат клеточных ядер и размножаются бинарным делением. Между собой археи и бактерии различаются по структуре клеточных стенок и мембран, структуре рибосом, ферментативным механизмам процессов реализации генетической информации (Адхья и др., 2009). В частности, археи имеют сходный с эукариотами, а не с бактериями аппарат репликации и репарации ДНК, а также компоненты транскрипционного комплекса. За 3,5 млрд лет обитания на планете бактерии и археи сформировали биогеохимические циклы, определяющие облик биосферы (Заварзин, 2010). В геномах более 10^8 видов прокариот содержится почти 90 % всей информации о генетическом биоразнообразии в понятиях молекулярной филогении.

Геномы прокариот включают два типа генетических структур: нуклеоид (аналог хромосомы) и внехромосомные элементы (плазмиды, способные к автономной репликации). В состав хромосомы входят: структурные гены, кодирующие белки и РНК, межгенные участки (спейсеры), регуляторные элементы, определяющие работу генов, различные мобильные элементы (табл. 1).

Геном – физическая и генетическая совокупность всех генов и генетических элементов клетки или вируса.

Большую часть генома прокариот (как правило, 80–90 %) составляют последовательности, кодирующие белки и РНК. Интроны у бактерий и архей встречаются как в генах, кодирующих рибосомные и транспортные РНК, так и в белок-кодирующих генах. Однако частота встречаемости интронов в генах прокариот гораздо ниже, чем у эукариот.

Геномы прокариот являются динамичными структурами даже в пределах одного вида. Полученные путем секвенирования генома одного конкретного штамма сведения не позволяют говорить о геноме всего вида из-за штаммовых различий в генном составе и размерах геномов. Так, у разных по патогенности штаммов кишечной палочки различия по количеству генов могут достигать 30 %. Исходя из внутривидовой вариабельности геномов сложились представления о базовом (core) и гибком вспомогательном наборе генов (Шестаков, 2007). Консервативный базовый набор включает гены так называемого «домашнего хозяйства», ответственные за информационные системы репликации, транскрипции, трансляции, ключевые пути метаболизма и формирования клеточных структур, определяющих видовую/родовую принадлежность. В категорию вспомогательных входят операционные гены, контролирующие разные процессы метаболизма и морфофизиологические признаки, обеспечивающие приспособленность к определенной экологической нише. Многие из таких генов локализованы в плазмидах, мобильных элементах, геномных островках, которые не обязательно присутствуют во всех штаммах одного вида. В процессе эволюции некоторые гены базового

Таблица 1

Состав генома прокариот

Локализация	Структуры
Хромосома Плазмиды	Кодирующие последовательности генов Нетранслируемые области генов: 5′- и 3′-концевые районы, интроны Регуляторные элементы генома: промоторы, терминаторы транскрипции, сайты связывания регуляторных белков, сайты связывания рибосом Сайты связывания с клеточными мембранами Мобильные элементы Интегроны Профаги и интегрированные в хромосому плазмиды CRISPR – структуры

набора могут переходить в категорию вспомогательных, а гены вспомогательного набора становятся базовыми (рис. 1). Под видовым геномом следует понимать совокупность всех генов (и базовых, и вспомогательных) всех штаммов данного вида.

На основе сведений о базовых наборах рассматривается вопрос о том, каков же минимальный набор генов, необходимых для обеспечения жизни клетки (и для ее искусственного создания). По мнению ряда исследователей, в таком наборе должно быть не менее 200 базовых генов, без которых клетка существовать не может.

РАЗМЕРЫ И СТРУКТУРА ГЕНОМОВ

В 1956 г. Ф. Жакоб и Э. Вольман предложили кольцевую модель организации бактериальных хромосом. Исследования структур геномов прокариот генетическими и физическими методами (электронная микроскопия, электрофорез в пульсирующем поле и др.), а позднее и посредством полногеномного секвенирования показали, что большинство геномов прокариот

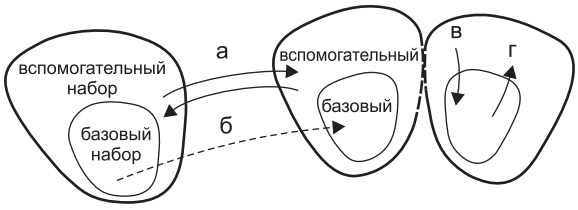

Рис. 1. Базовый и вспомогательный наборы генов.

а – межвидовой обмен вспомогательными генами; б – перенос генов базового набора; в – переход вспомогательных генов в базовый набор; г – переход базовых генов в категорию вспомогательных.

представляют собой кольцевые двухцепочечные молекулы ДНК. У некоторых бактерий обнаружены и линейные хромосомы, однако их структура отличается от эукариотических, которые имеют специальные концевые последовательности, теломеры, и используют при репликации теломеразу. В отличие от эукариот бактерии используют иные механизмы (рис. 2): у стрептомицетов, обладающих линейными хромосомами, к 5′-концам ковалентно присоединены белки, обеспечивающие свободный 3′-ОН конец для инициации репликации. Другой тип линейных хромосом, имеющих ковалентно замкнутые «шпилечные» концы, обнаружен у спирохет рода *Borrelia*. Некоторые бактерии помимо основной кольцевой хромосомы имеют и дополнительные. Так, две кольцевые хромосомы обнаружены у *Vibrio cholerae*, а у фитопатогенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* выявлены одна кольцевая и одна линейная хромосомы. Геномы архей представляют собой одну кольцевую хромосому. Исключением является архея *Haloarcula marismortui*, содержащая две кольцевые хромосомы.

Полногеномное секвенирование нуклеотидных последовательностей показало, что размеры геномов у культивируемых бактерий нахо-

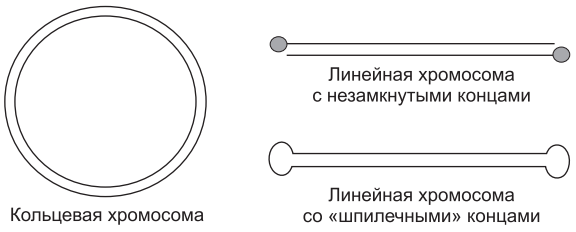

Рис. 2. Структуры хромосом прокариот.

дятся в диапазоне от 0,58 млн п.н. у *Mycoplasma genitalium* до 9,2 млн п.н. у *Bradhyrhizobium japonicum* (Боринская, Янковский, 1999) (табл. 2). Размер архейных геномов варьирует более чем в 12 раз, от 0,49 млн п.н. у облигатного симбионта *Nanoarchaeum equitans* до 5,75 млн п.н. у метаногенной археи *Methanosarcina acetivorans* (Марданов, Равин, 2012). Размер генома в большинстве случаев прямо пропорционален количеству генов при соотношении в среднем один ген на одну тысячу нуклеотидов. Археи и бактерии с наименьшими геномами являются, как правило, паразитами или симбионтами (Bentley, Parkhill, 2004). Среди свободноживущих видов небольшие геномы характерны для организмов, живущих в стабильных экологических нишах и обладающих специализированным метаболизмом. Например, у некоторых морских фотосинтезирующих цианобактерий геном составляет 0,6–1,8 млн п.н. Небольшие по размеру геномы имеют и многие гипертермофильные археи (Марданов, Равин, 2012). Организмы с крупными геномами обитают в сложных по структуре экосистемах с широким диапазоном условий. К ним относится большинство почвенных бактерий.

Важной характеристикой геномов прокариот является G + C состав, который находится в диапазоне от 23 до 72 %, причем этот параметр не коррелирует с температурой роста: для большинства гипертермофильных архей характерен низкий G + C состав, а стабильность хромосомы обеспечивается комплексом ДНК-связывающих белков.

ПЛАЗМИДЫ, ВИРУСЫ И МОБИЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Помимо хромосомных генов, кодирующих белки и РНК, в состав геномов прокариот входят и другие генетические структуры (Льюин, 2011) (табл. 1): мобильные элементы, плазмиды, интегроны, профаги, CRISPR локусы, различные регуляторные элементы.

Таблица 2

Размеры и структуры геномов некоторых прокариот

Вид бактерии или археи	Состав генома	Размер (т.п.н.)	Форма
Бактерии			
Escherichia coli K12 (MG1655)	Хромосома	4640	Кольцевая
Bradhyrhizobium japonicum	Хромосома	9207	Кольцевая
Mycoplasma genitalium	Хромосома	580	Кольцевая
Vibrio cholerae	Хромосома	2941	Кольцевая
	Хромосома	1072	Кольцевая
Agrobacterium tumefaciens	Хромосома	2842	Кольцевая
	Хромосома	2057	Линейная
	Плазмида	453	Кольцевая
	Плазмида	214	Кольцевая
Borrelia burgdorferi	Хромосома	911	Линейная
	11 плазмид	9-54	Кольцевые и линейные
Streptomyces coelicolor	Хромосома	8667	Линейная
	Плазмида	356	Линейная
	Плазмида	31	Кольцевая
Археи			
Methanosarcina acetivorans	Хромосома	5751	Кольцевая
Haloarcula marismortui	Хромосома	3132	Кольцевая
	Хромосома	288	Кольцевая
Nanoarchaeum equitans	Хромосома	491	Кольцевая

Мобильные элементы представляют собой фрагменты ДНК, способные к внутрихромосомным перемещениям (транспозициям) или к передаче в другую клетку. К ним относятся инсерционные элементы (IS-элементы), кодирующие ферменты, необходимые для их перемещения (транспозазы), транспозоны, а также миниатюрные инвертированные повторяющиеся элементы (MITE), которые не содержат генов транспозаз. Характерной структурной особенностью IS элементов является наличие на их концах коротких инвертированных повторов (рис. 3). Транспозоны представляют собой мультигенные структуры, как правило, фланкированные двумя идентичными IS элементами. При перемещении транспозона возможно как его «вырезание» и перенос в другой участок генома, так и дупликация, при которой исходная копия сохраняется.

Интеграция мобильных элементов может не только вызывать инактивацию гена при «попадании» внутрь гена, но также «включать» и «выключать» соседние гены, поскольку в транспозонах могут находиться промоторы или терминаторы транскрипции. Одинаковые мобильные элементы в разных районах хромосомы являются гомологичными участками, рекомбинация между которыми может приводить к геномным перестройкам. Число мобильных элементов в геномах варьирует в широких пределах. В некоторых геномах активные мобильные элементы вообще отсутствуют, а в других число их может исчисляться десятками. Например, в геноме археи *Sulfolobus solfataricus* обнаружено более 200 мобильных элементов, на долю которых приходится 11% генома, а в геноме другого представителя этого рода, *Sulfolobus acidocaldarius*, активные мобильные элементы отсутствуют. IS элементы одних и тех же семейств встречаются у архей и бактерий, что свидетельствует о возможности перемещения мобильных элементов между бактериями и археями, обитающими в одной экологической нише. Наряду с генами, необходимыми для собственной траспозиции, транспозоны могут содержать и полезные для клетки гены, например, гены устойчивости к антибиотикам и тяжелым металлам. Часто такие гены локализованы на конъюгативных транспозонах, способных к переносу в другие клетки. В этих крупных транспозонах (до 100 т.п.н.) находятся гены, обеспечивающие образование конъюгативного мостика между бактериями и перенос ДНК в клетку-реципиент.

К числу мобильных элементов относятся также интегроны – генетические элементы, имеющие в своем составе интеграционный модуль с геном интегразы, сайтом интеграции и промотором, направленным в противоположную от гена интегразы сторону. Благодаря этому модулю, интегроны способны встраиваться в геном и экспрессировать чужеродные гены в составе кассеты, которая может содержать десятки генов. Интегроны, захватывающие гены устойчивости к антибиотикам, являются одним из факторов распространения лекарственной устойчивости у бактерий.

Плазмиды – автономно реплицирующиеся внехромосомные генетические элементы (Квитко, Захаров, 2012). Как правило, они представляют собой кольцевые молекулы ДНК, но встречаются и линейные плазмиды, по структуре аналогичные линейным хромосомам. В отличие от хромосом плазмиды являются «необязательным» генетическим материалом, потеря которого не приводит к гибели клетки. Однако многие крупные плазмиды содержат десятки–сотни генов, кодирующих важные для клетки функции, которые могут оказаться необходимыми в определенных экологических

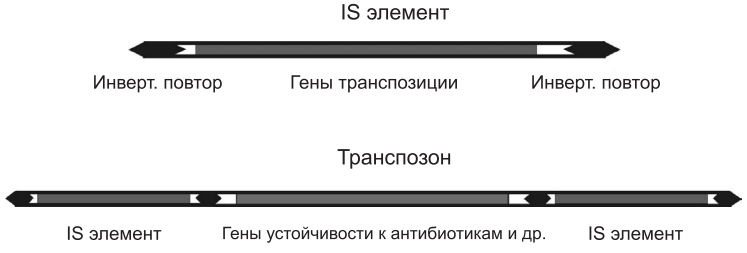

Рис. 3. Структура инсерционного элемента и транспозона.

условиях. Поэтому терминологическое отличие таких «мегаплазмид» от хромосом является условным. Приобретаемые с плазмидами новые признаки в ряде случаев определяют названия плазмид: например, F плазмида (fertility factor), придающая клеткам *Escherichia coli* донорные свойства, или плазмида R, определяющая резистентность клеток к антибиотикам. Способность к автономной репликации плазмид обеспечивается наличием сайта инициации репликации (*ori*) и набором генов, кодирующих необходимые белки. Плазмиды содержат лишь часть необходимых для собственной репликации ферментов, используя также компоненты репликационного аппарата клетки-хозяина. Специфичностью *ori*-сайта определяется группа несовместимости плазмид: разные плазмиды с одинаковым *ori*-сайтом не могут сосуществовать в одной клетке. Многие плазмиды кодируют и собственные инициаторные белки, специфически распознающие *ori*-сайты. Это снижает зависимость плазмиды от клетки-хозяина и расширяет спектр возможных хозяев, что способствует межвидовому переносу генетического материала. Плазмиды могут содержать несколько *ori*-сайтов, функционирующих в разных организмах-хозяевах или в одном штамме, но в разных условиях. Некоторые плазмиды могут интегрироваться в хромосому клетки-хозяина и реплицироваться в ее составе в виде эписомы. Число копий плазмид в клетке может варьировать в широких пределах, от одной до нескольких сот копий на хромосому, но во всех случаях их количество регулируется, поскольку неограниченная репликация плазмидной ДНК привела бы к гибели клетки. По механизму контроля числа копий плазмиды делятся на две группы. В одних плазмидах контроль осуществляется либо с помощью антисмысловой РНК, взаимодействующей с РНК, синтез которой инициирует репликацию (плазмида ColE1), либо на уровне регуляции экспрессии гена репликационного белка (плазмида R). Другой способ обеспечивается взаимодействием контролирующего репликацию плазмиды белка с повторяющимися последовательностями (итеронами) в районе *ori*-сайта. При «избыточном» числе копий эффективность инициации репликации снижается. При клеточном делении плазмиды могут распределяться между дочерними клетками случайным образом. Если для высококопийных плазмид вероятность попадания всех плазмид в одну из двух дочерних клеток ничтожно мала, то для низкокопийных такая вероятность весьма высока. Например, для плазмиды, две копии которой будут присутствовать в клетке перед делением, вероятность случайной потери составит 50 %. Поэтому для низкокопийных плазмид в процессе эволюции выработались специальные механизмы, обеспечивающие их поддержание в популяции (рис. 4). Первый из них – точное распределение реплицированных плазмид между дочерними клетками перед делением (сегрегационная

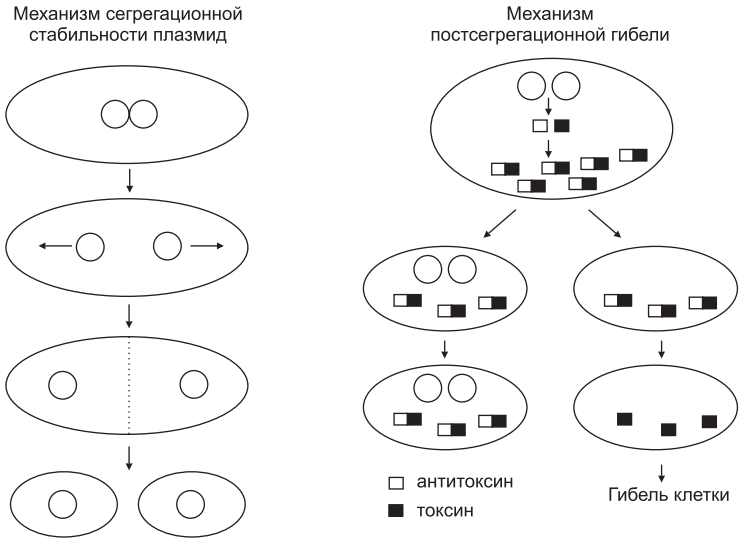

Рис. 4. Механизмы поддержания плазмид в клетках хозяина.

стабильность). Другим механизмом стабилизации плазмид является постсегрегационная гибель бесплазмидных клеток. В этой системе участвуют два гена, продуктами которых являются стабильный токсин и инактивирующий его «антитоксин», время деградации которого значительно меньше. Клетки, содержащие плазмиду, синтезируют оба компонента и сохраняют жизнеспособность. В клетках, потерявших плазмиду, после инактивации антитоксина сохранится стабильный токсин, что приведет к их гибели. Механизмы сегрегационной стабильности и постсегрегационной гибели не являются взаимоисключающими и у многих низкокопийных плазмид, в том числе плазмиды F, встречаются одновременно.

В отличие от плазмид провирусы (профаги) представляют собой вирусные геномы, встроенные в геном клетки-хозяина и реплицирующиеся в его составе (Льюин, 2011). При инфекции ДНК вируса инъецируется в клетку, после чего инициируются репликация и экспрессия вирусного генома (рис. 5). При этом происходит «перепрограммирование» клетки на синтез вирусных белков. В результате образуются десятки–сотни копий вирусного генома, которые упаковываются в образованные вирусными белками частицы – вирионы. На заключительной стадии инфекционного процесса происходят лизис клетки и освобождение свободных частиц вируса. Более сложным жизненным циклом обладают лизогенные бактериофаги. После инфекции возможны как литическое развитие, так и латентное сохранение провируса (рис. 5). В последнем случае происходят интеграция вирусной ДНК в хромосому клетки-хозяина и «выключение» большинства вирусных генов за счет действия белка-репрессора. В интегрированном состоянии профаг может наследоваться в составе хромосомы на протяжении многих генераций. Некоторые бактериофаги, например P1 и N15, в лизогенном состоянии не включаются в хромосому клетки-хозяина, а представляют собой плазмиды. Состояние профага, однако, не является необратимым: в случае инактивации репрессора происходит вырезание фагового генома из хромосомы и развивается литический процесс. Такая «индукция» профага, в частности, происходит при попадании клетки в неблагоприятные условия. Интегрированные в хромосому профаги могут накапливать мутации, в первую очередь делеции, вследствие которых они теряют способность к индукции и литическому развитию. Такие «дефектные» профаги присутствуют в геномах большинства прокариот. Часто профаги и другие мобильные элементы входят в состав «геномных островков», привносимых в геном в результате событий горизонтального переноса. Участки, отличающиеся по нуклеотидному составу от остального генома, могут содержать гены, ответственные за патогенез, симбиогенез, транспорт металлов и др.

Горизонтальный перенос – процесс, в котором организм передает генетический материал другому организму, не являющемуся его потомком.

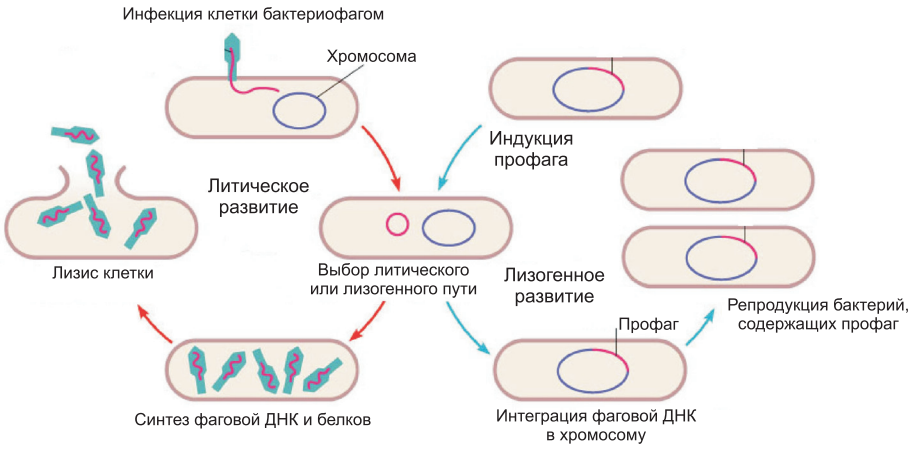

Рис. 5. Жизненный цикл бактериофага.

Прокариоты выработали несколько способов борьбы с попадающими в клетку извне мобильными элементами, вирусами. Эффективным механизмом являются системы рестрикции–модификации ДНК, которые расщепляют чужеродную ДНК специфическими рестрикционными ферментами, от действия которых защищена модифицированная метилированием ДНК клетки-хозяина. В геномах многих бактерий и большинства архей были найдены участки, представляющие собой кластеры из коротких повторяющихся последовательностей (от 20 до 40 п.н.), разделенных спейсерами с уникальными последовательностями. Эти кластеры были названы CRISPR-структурами (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Предполагается, что спейсерные последовательности «отбираются» из вирусов, плазмид и мобильных элементов, а роль CRISPR-структур состоит в блокировании распространения мобильных элементов, последовательности которых совпадают с последовательностями спейсеров.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕНОМА ПРОКАРИОТ

К числу регуляторных элементов генома относятся промоторы, терминаторы транскрипции, аттенюаторы, сайты связывания регуляторных белков (Адхья и др., 2009). Индивидуально экспрессируемый прокариотический ген помимо кодирующей структуру белка или РНК области содержит промотор и терминатор транскрипции (рис. 6).

Экспрессия генов – процесс, в ходе которого наследственная информация (последовательность нуклеотидов в ДНК) реализуется в синтезе РНК или белка.

Гены, вовлеченные в одну функцию, часто располагаются один за другим и транскрибируются в одной мРНК. Такая организация генов называется опероном. Гены, сцепленные в составе оперона, регулируются координированно, объединение в оперон облегчает горизонтальный перенос целого кластера генов.

Промотор – последовательность нуклеотидов в ДНК, узнаваемая РНК-полимеразой как стартовая площадка для начала специфической транскрипции. Промоторы имеют два консервативных участка, один из которых необходим для узнавания, а другой – для прочного связывания промотора с РНК-полимеразой. У большинства бактерий это последовательности с консенсусом TTGACA и TATAAT, расположенные на расстояниях 35 и 10 нуклеотидов от точки старта транскрипции. Промоторные области генов могут содержать сайты связывания регуляторных белков – специфические нуклеотидные последовательности, способные взаимодействовать с репрессорами или активаторами транскрипции. Между точкой начала транскрипции и стартовым кодоном обычно расположен сайт связывания рибосом, последовательность которого комплементарна 3′-концу 16S рибосомной РНК. Терминатор – участок ДНК, содержащий сигнал (последова-

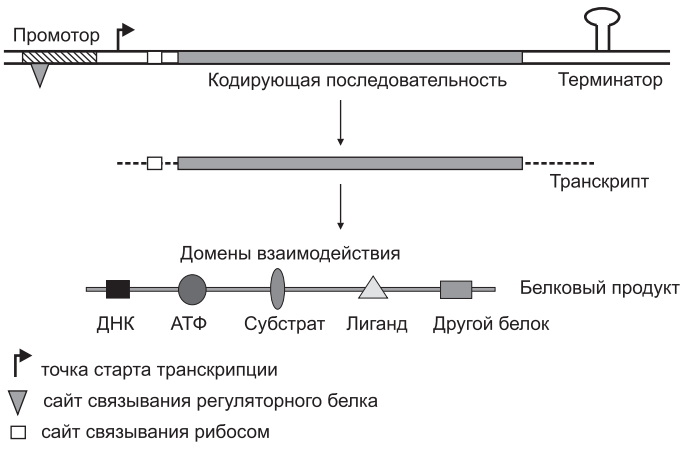

Рис. 6. Структура прокариотического гена.

тельность) окончания транскрипции в конце гена. Как правило, терминаторные последовательности содержат инвертированные повторы длиной несколько нуклеотидов, образующие шпильку в РНК. В остановке транскрипции могут принимать участие также аттенюаторы – ослабители транскрипции. Например, в составе триптофанового оперона *E. coli* содержится аттенюатор, который в условиях избытка триптофана обеспечивает снижение уровня синтеза мРНК, т. е. выполняет важную функцию регуляции экспрессии генов.

ВКЛАД МЕТАГЕНОМИКИ В ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОМОВ ПРОКАРИОТ

Основные сведения об организации геномов прокариот получены при изучении культивируемых видов, но почти 99 % бактерий и архей, обитающих в природных экосистемах, не растут на искусственных средах. В исследовании геномов некультивируемых видов ведущая роль принадлежит новым методам, включающим: а) секвенирование амплифицированных фрагментов геномов единичных клеток, изолированных с помощью проточной цитометрии; б) анализ коллективного метагенома – совокупности геномов всех микробов в пробе, взятой непосредственно из природной среды. Схема этапов метагеномного анализа приведена на рис. 7. С применением методов метагеномики открыты сотни новых видов, десятки тысяч новых генов, реконструированы геномы и пути метаболизма многих некультивируемых видов, уточнены филогенетические связи таксонов, изучены генные сети в различных сообществах, расшифрована природа ряда симбиотических систем, разработаны схемы мониторинга таксономического и генного составов природных сообществ, выявлены новые продуценты биотехнологически перспективных соединений (Handelsman, 2004; Шестаков, 2011).

В одной из первых работ (2004) по метагеномному анализу биоразнообразия микробиоты Саргассова моря было выявлено 4800 видов (включая около 150 ранее неизвестных филотипов) и более миллиона генов, 67 тыс. из которых не имели гомологов в базах данных. В этом исследовании были сделаны крупные открытия: а) показано участие бактериальных генов, кодирующих родопсин-подобные белки, в светозависимой энергетике морских экосистем; б) в метагеноме обнаружено много фаговых генов, что позволило обосновать важную роль вирусов в переносе генов внутри микробного сообщества. Масштабные метагеномные исследования внесли большой вклад в понимание генетической структуры различных почвенных, водных, экстремофильных экосистем; в изучение новых таксонов бактерий и архей в геотермальных источниках (Бонч-Осмоловская, Равин, 2010). На основе метагеномики разработана концепция «суперорганизма» (рис. 8), в котором гены человека действуют совместно с коллективным

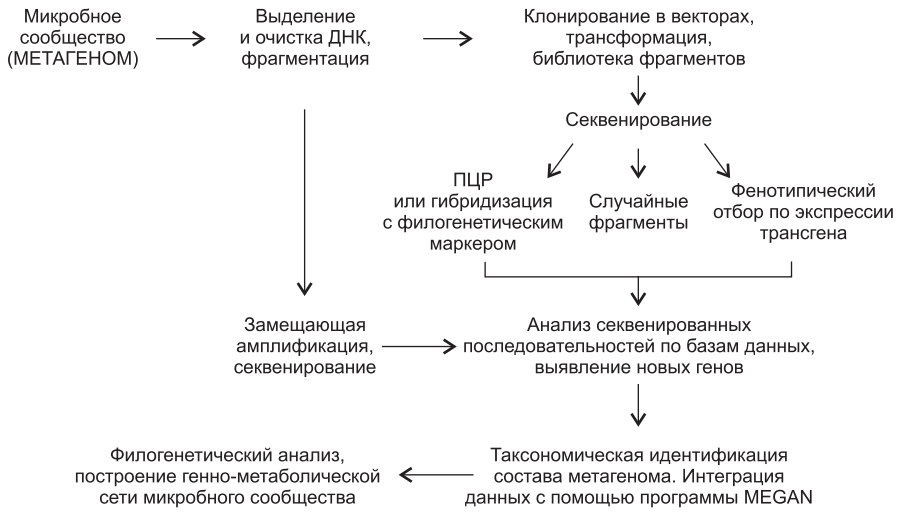

Рис. 7. Схема проведения метагеномного анализа.

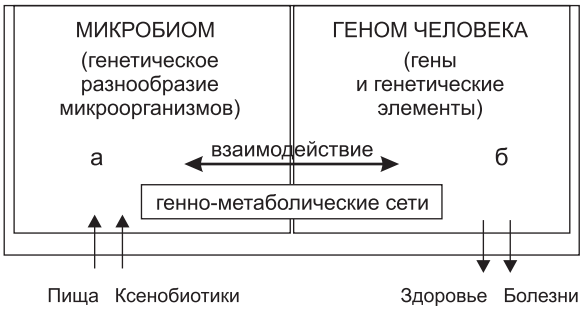

Рис. 8. Функциональная метагеномика суперорганизма.

а – виды и гены, влияющие на жизнедеятельность человека; взаимодействие микробов; б – гены и клеточные системы, влияющие на микробиоту и реагирующие на изменения в составе и активности микробиоты.

геномом микробов, живущих на/в теле человека (Шестаков, 2010).

Изучение таксономического и генного состава микробиоты желудочно-кишечного тракта человека и животных позволило идентифицировать много новых прокариотических генов и выяснить закономерности взаимодействия различных видов/штаммов экосистемы факультативного симбиоза (мутуализма) с организмом хозяина (рис. 9).

Геномный состав микробиоты индивидуален для каждого человека и зависит от его генотипа. Вместе с тем, геномная вариабельность близкородственных штаммов в экосистеме обеспечивает высокий адаптивный потенциал состава микробиома человека. Сбалансированный состав микробиома является одним из критериев оценки состояния здоровья человека (Dethlefsen *et al*., 2007). Изменения в типе питания при действии стрессовых факторов, ксенобиотиков, патогенов и т. п. могут быть причиной развития (при наличии генетической предрасположенности) различных патологий, таких как ожирение, рак, аутоиммунные, сердечно-сосудистые, инфекционные и прочие болезни. Метагеномный анализ микробиоты кишечника, ротовой полости, вагины, кожных покровов дает важную информацию для решения вопросов диагностики, профилактики и лечения многих болезней. В частности, разработаны технологии применения микробных препаратов пробиотиков для оптимизации деятельности кишечника и стимуляции систем иммунитета.

ФОРМИРОВАНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМОВ

Анализ полных геномов тысяч видов/штаммов прокариот позволил переосмыслить классические постулаты молекулярной филогении, соответствующие представлениям о едином универсальном дереве жизни, отражающем концепцию вертикальной эволюции на основе мутационных изменений и дивергенции. В сравнительной геномике для выяснения родственных связей и происхождения таксонов принято использовать понятия ортологичных и паралогичных генов. По степени гомологии ортологов судят о генетическом родстве видов/штаммов прокариот и на этой основе строят таксономическую классификацию. Наиболее часто молекулярно-филогенетический анализ ведут по консервативным генетическим маркерам, таким как последовательности генов 16S рибосомных РНК или белков аппарата транскрипции/трансляции. Но филогенетические деревья, построенные только по маркерам 16S рибосомной РНК, не отражают реальную историю эволюции вида,

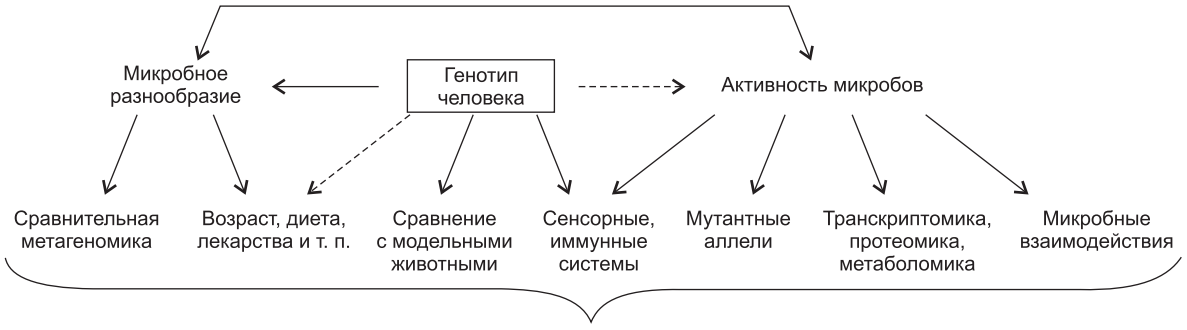

Рис. 9. Экосистема микробиоты кишечника.

поскольку часто не совпадают с деревьями по многим ортологичным белок-кодирующим генам. Вертикальное наследование по принципу бифуркации не является единственным механизмом, определяющим биологическую эволюцию на уровне организмов и сообществ.

Помимо мутационной изменчивости важную роль в формировании геномов играют и другие генетические процессы, приводящие к реорганизации геномов, утрате или приобретению генов и сегментов генома, к изменению размеров генома (рис. 10).

1. Эволюция многих таксонов шла по пути редукции геномов. Это характерно для облигатных внутриклеточных патогенов и эндосимбионтов (Смирнов, 2008). У них утеряны гены некоторых путей метаболизма и клеточных процессов, отсутствие которых компенсируется системами клетки хозяина. Экономически «выгодная» редукция геномов направлена на оптимизацию приспособленности микробов к узким специализированным эконишам. При этом могут теряться как «ненужные» гены (поскольку их функции обеспечиваются организмом хозяина), так и гены, «мешающие» адаптации, например, ответственные за вирулентность или чувствительность к ксенобиотикам. Редукционная эволюция характерна и для свободноживущих микробов, в частности для морских одноклеточных цианобактерий *Prochlorococcus*, обладающих маленькими геномами (1,0–1,8 Мб) и обитающими в относительно гомогенной, обедненной органикой среде. Уменьшение размеров геномов может происходить путем утраты больших сегментов в составе плазмид, профагов, мобильных элементов, геномных островков и т. п., а также в результате инактивации отдельных генов, которые превращаются в псевдогены, элиминируемые посредством делеций (рис. 10). Ключевую роль в эрозии геномов выполняют системы рекомбинации, участвующие в геномных перестройках.

Ортологичные гены – сходные по степени гомологии гены в геномах разных организмов, происходящие от общего предкового гена и передающиеся при вертикальном наследовании.

Паралогичные гены – сходные гены внутри одного генома. Они возникают в результате дупликаций и дают начало семействам генов с близкими функциями.

2. Функциональная реорганизация геномов осуществляется через процессы гомологичной и сайт-специфической рекомбинации, транспозиции, обеспечивающей перемещение внутри генома генов и генетических элементов, ответственных за регуляцию экспрессии генов. Такая нестабильность генома связана с наличием IS-элементов с функциями интеграз и транспозаз, участвующих в процессах транспозиции. Геномные перестройки лежат в основе «фазовых вариаций», проявляющихся в системной морфологической изменчивости бактерий, в адаптивном изменении многих признаков, определяющих направленность микроэволюционных процессов в популяциях. От различий в рекомбинационном потенциале зависят и сценарии эволюции геномов. У видов с активной системой транспозаз формирование геномов осуществляется преимущественно через геномные перестройки. Эволюция геномов с низкой рекомбинационной активностью идет по пути мутационных изменений, ответственных за генный полиморфизм.

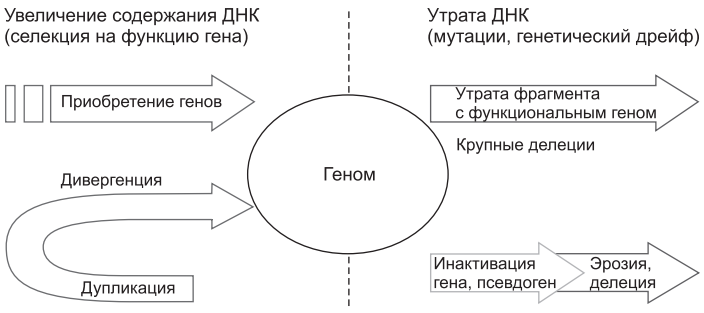

Рис. 10. Пути эволюции размера геномов прокариот.

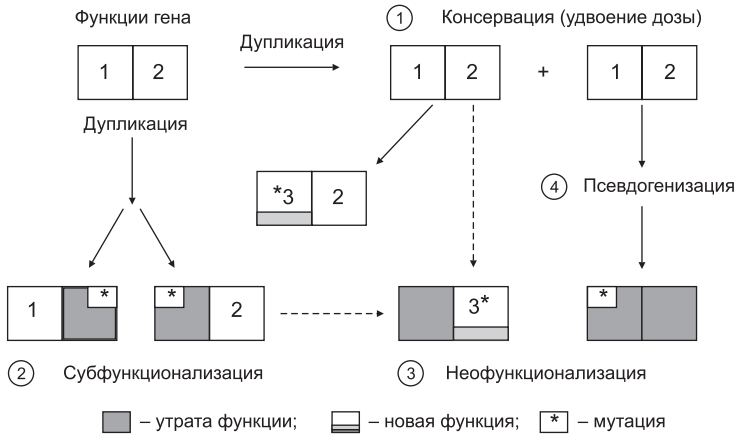

Рис. 11. Образование паралогичных генов при дупликации и дивергенции бифункционального гена.

3. Рекомбинационные механизмы отвечают за увеличение размеров геномов и через образование паралогичных генов, подвергающихся функциональной дивергенции. Образование паралогичных генов увеличивает белковый репертуар, адаптивный потенциал клеток и лежит в основе процессов усложнения клеточной организации. Это происходит в результате дупликации/мультипликации генов с помощью систем неравного кроссинговера, транспозиций (Hahn, 2009).

Возможны несколько вариантов реализации судьбы паралогичных генов (рис. 11).

1. Тандемно дуплицированные гены, чья активность дает безусловные преимущества, могут долго сохраняться в неизменном виде под действием мощного стабилизирующего отбора. Такая консервация увеличивает дозу гена и поддерживает высокий уровень генного продукта, ответственного за жизненно важные признаки. Наличие идентичных копий гарантирует сохранение функции, если произойдет инактивация одного из паралогов.

2. Главным же направлением в эволюционном преобразовании паралогичных генов является их трансформация с разделением функций (субфункционализация) или с образованием новой функции (неофункционализация). В первом случае у одного из паралогов сохраняются все исходные функции, тогда как у другого (а может быть, и у обоих) происходит разделение доменов (рис. 6), контролирующих разные функции: катализ, взаимодействие с лигандами и белками, связывание с ДНК и т. п. В итоге возникают два гена, кодирующих разные продукты. Структурно сходные паралоги, оказавшиеся под контролем различных промоторов, могут функционировать по-разному. Такая субфункционализация характерна для экопаралогов, которые в одной клетке экспрессируются дифференцированно в разных условиях обитания (pH, температура, соленость, наличие субстра-

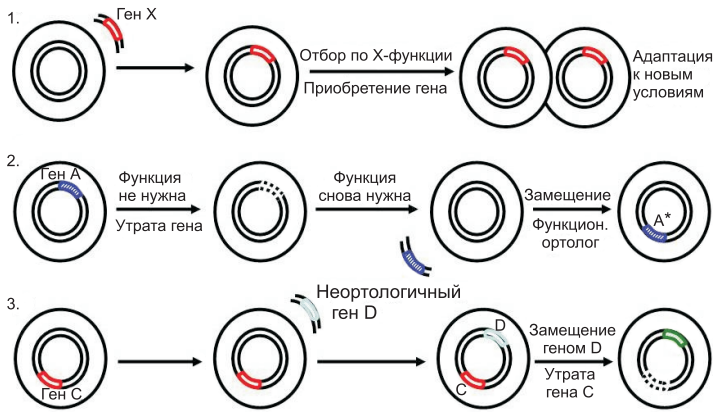

Рис. 12. Пути горизонтального переноса генов.

тов и т. п.). Изменение структуры паралога может привести к его неофункционализации, т. е. к приобретению совсем новой функции, отсутствующей у исходного гена, послужившего источником дупликации. В результате диверсификации паралогичных генов происходила экспансия родственных семейств генов: например, в геноме у обитающей в кишечнике человека бактерии *Bacteroides thetaiotaomicron* обнаружено более 170 паралогичных генов, кодирующих гликозил-гидролазы, расщепляющие в том числе различные олиго- и полисахариды. Вероятность дупликаций при образовании паралогичных генов зависит от их локализации в геноме и принадлежности к определенной функциональной категории. Наиболее часто дупликациям подвергаются гены, контролирующие сенсорные системы адаптивного ответа, транспорта ионов, синтеза поверхностных полисахаридов, белков рестрикции–модификации, процессов репарации ДНК, аппарата подвижности клеток и др.

4. Увеличение размеров генома и генного репертуара может быть следствием горизонтального переноса генов (ГПГ) как между близкородственными таксонами, так и между филогенетически отдаленными видами и даже между бактериями и археями. Если в результате мутаций и внутригеномных перестроек происходят изменения (перераспределение) в существующем геноме, то ГПГ заключается в приобретении новых генов, генных кластеров и генетических элементов, что ведет к появлению новых признаков, дающих клетке селективные преимущества (Шестаков, 2007; Boto, 2010). ГПГ между генетически далекими партнерами осуществляется через процессы трансформации, конъюгации, трансдукции посредством механизмов сайт-направленной и «незаконной» рекомбинации, путем внедрения плазмид и мобильных элементов. Инновационную ценность представляют три типа ГПГ (рис. 12): 1) привнесение гена, не имеющего гомологов в геноме реципиента; 2) перенос сходного ортологичного гена от филогенетически далекого донора; 3) замещение геном-ксенологом резидентного гена, ответственного за сходную функцию. Полученные «чужеродные» гены можно обнаружить по (1) отличию в нуклеотидном составе и частоте встречаемости кодонов нового сегмента от остальной части генома; (2) по высокой степени сходства с геном из филогенетически далекого таксона; (3) по отличию в положении анализируемого гена на филогенетическом дереве от других генов в геноме.

В результате ГПГ организмы получают новые метаболические возможности, системы защиты от патогенов, ксенобиотиков, стрессовых воздействий, факторы оптимизации/регуляции клеточных систем. Чаще всего мишенями ГПГ являются гены, контролирующие процессы вторичного метаболизма, транспортные и сигнальные системы, подвижность клеток, вирулентность, устойчивость к ксенобиотикам, т. е. гены, имеющие большое адаптивное значение. Реже в ГПГ участвуют гены информационных систем (репликации, транскрипции и др., составляющие базовый геном). Клетка служит проточной емкостью, в геноме которой в процессе эволюции элиминируются «ненужные» гены и приобретаются и закрепляются «полезные» гены (кластеры генов), обеспечивающие приспособленность к конкретным экологическим условиям. Приобретенные гены подвергаются амелиорации – унификации G + C состава и встречаемости кодонов (за счет накопления мутаций) и становятся неотличимыми от генов исходного генома. Поэтому можно надежно отслеживать сравнительно недавние события ГПГ и судить о времени приобретения генов, соотносить процессы формирования геномов с геологическими периодами и экологическими кризисами, изучать динамику региональной биоты.

В принципе возможен горизонтальный перенос любых генов, но вероятность их интеграции в геном реципиента лимитируется многими факторами: структурами клеточной поверхности, системами рестрикции–модификации, активностью систем рекомбинации, совместимостью с путями метаболизма, возможностями отбора клеток в популяции. Поэтому лишь небольшая доля перенесенных генов фиксируется стабильно в геноме реципиента. Тем не менее общепринятыми стали представления о том, что ГПГ является мощным ускорителем эволюционного процесса возникновения новых видов/штаммов. Все большую поддержку получает концепция, согласно которой основной вклад в эволюцию прокариот, формирование

их геномов внесли именно события горизонтального переноса. В настоящее время успешно разрабатываются методические подходы, направленные на построение новой системы молекулярной филогении, которая соединяет принципы вертикальной эволюции (на основе бифуркации) и горизонтального переноса генов, отражающего пути сетевой эволюции.

ЛИТЕРАТУРА

Адхья С., Альперт К.-А., Буккель В. и др. Современная микробиология. Прокариоты: В 2 т. / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. Пер. с англ. М.: Мир, 2009. 1192 с.

Бонч-Осмоловская Е.А., Равин Н.В. Анализ полных геномов – очередной этап в развитии микробиологии // Вестн. РАН. 2010. Т. 80. № 11. С. 977–984.

Боринская С.А., Янковский Н.А. Структура прокариотических геномов // Биохимия. 1999. Т. 33. № 6. С. 941–957.

Заварзин Г.А. Начальные этапы эволюции биосферы // Вестн. РАН. 2010. Т. 80. № 12. С. 1085–1098.

Квитко К.В., Захаров И.А. Генетика микроорганизмов: Уч. пособие / Под ред. А.В. Пиневича. 2-е изд. СПб.: Изд. дом СПб. ун-та, 2012. 268 с.

Льюин Б. Гены: Пер. 9-го англ. изд. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 896 с.

Марданов А.В., Равин Н.В. Роль геномики в исследовании разнообразия и эволюции архей // Биохимия. 2012. Т. 77. № 8. С. 965–980.

Смирнов Г.Б. Механизмы приобретения и потери генетической информации бактериальными геномами // Усп. соврем. биологии. 2008. Т. 28. № 1. С. 52–76.

Шестаков С.В. Вклад метагеномики в развитие биотехнологии // Биотехнология. 2011. № 6. С. 8–22.

Шестаков С.В. Как происходит и чем лимитируется горизонтальный перенос генов у бактерий // Экол. генетика. 2007. Т. 5. № 2. С. 12–24.

Шестаков С.В. Метагеномика микробиома человека // Усп. соврем. биологии 2010. Т. 30. № 6. С. 531–543.

Bentley S.D., Parkhill J. Comparative genomic structure of prokaryotes // Annu. Rev. Genet. 2004. V. 38. P. 771–791.

Boto L. Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges // Proc. Roy. Soc. 2010. V. 277. P. 819–827.

Dethlefsen L., McFall-Ngai M., Relman D.A. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease // Nature. 2007. V. 449. P. 811–818.

Hahn M.W. Distinguishing among evolutionary models for the maintenance of gene duplication // J. Heredity. 2009. V. 100. P. 605–617.

Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2004. V. 68. P. 669–685.