

## Лекция третья: "Молекулярная эволюция генетических систем: концепции и задачи"

Лектор – [профессор Колчанов Николай Александрович](#)

Третья вводная лекция посвящена рассмотрению закономерностей Молекулярной эволюции генетических систем, сформировавшимся в этой области информационной биологии концепциям и наиболее актуальным задачам (Рис. 1).

### ПРЕДБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Рассмотрим, прежде всего, закономерности предбиологической эволюции, в результате которой возникли примитивные формы жизни. Как отмечалось выше, генетические системы воспроизводятся и функционируют на основе информации, закодированной в их геномах. Для генетических систем характерно (Рис. 2) наличие процессов кодирования и преобразования генетической информации на основе матричных биополимеров - ДНК, РНК и белков: синтез ДНК по ДНК-матрице (репликация), РНК по ДНК-матрице (транскрипция), ДНК по РНК-матрице (обратная транскрипция), для эукариот - вырезание некодирующих фрагментов РНК-матрицы (сплайсинг), синтез белка по РНК-матрице (трансляция). Именно эти процессы создают молекулярно-информационные основы функционирования генетических самовоспроизводящихся систем. Таким образом, вопрос о возникновении генетических систем сводится, в первую очередь, к выяснению условий возникновения матричного синтеза генетических макромолекул.

Прежде чем приступить к рассмотрению этого вопроса, следует подчеркнуть, что в современной науке существует два альтернативных взгляда на возникновение жизни на Земле. Первый из них, концепция панспермии (Рис. 3) утверждает, что в основе возникновения жизни на Земле лежал метеоритно-пылевой занос на нашу планету примитивных или одноклеточных форм жизни из окружающего космического пространства.

В пользу этого взгляда свидетельствуют факты обнаружения в метеоритах органических соединений. На рисунке 4 слева показан метеорит, найденный в Австралии. Слева на нем показаны везикулы - окруженные мембраной пузырьки, внешне похожие на живые клетки. Эти везикулы получены из органических соединений, входящих в состав метеорита.

Второй взгляд (Рис. 5), детально рассмотренный ниже, основан на предположении о самозарождении жизни на Земле на основе комплекса благоприятных физико-химических условий, способствовавших возникновению самореплицирующихся матриц с их последующей дарвиновской эволюцией.

Качественно возникновение жизни на Земле можно представить как постепенное усложнение химической структуры и морфологического облика предшественников жизни (предбионтов) с последующим переходом к примитивным генетическим самовоспроизводящимся системам (собственно возникновение жизни) и дальнейшим усложнением СВ систем в процессе создания и освоения многообразия экологических ниш, что и привело к существованию многообразия форм жизни в современных формах.

Период добиологической эволюции наиболее загадочен, хотя его изучению посвящено огромное количество исследований. Переход этой проблемы в область конструктивных экспериментальных исследований связан с именем выдающегося Российского ученого А.И. Опарина, показавшего в первой трети 20-го века, что в концентрированных растворах белков и других органических соединений могут формироваться сгустки, называемые коацерватами. Они способны адсорбировать

химические соединения из окружающей среды, а также выделять в нее продукты их преобразования. Таким образом, коацерваты являются открытыми системами, по таким свойствам как рост и обмен с окружающей средой сходными с живыми организмами. Однако, это сходство является внешним, так как коацерваты не обладают наиболее важным свойством - способностью к самовоспроизведению.

Следующий важнейший шаг в понимании ранних этапов возникновения жизни на Земле был сделан Стэнли Миллером. На рисунке 6 он показан рядом с одним из своих приборов, применявшихся для изучения реакций предбиологического синтеза органических соединений.

В пионерских работах, проводившихся в начале 50-х годов прошлого века Стэнли Миллером показан (Рис. 7), что из смеси химических элементов при определенных экспериментальных условиях, похожих на те, которые по мнению ученых существовали в океанах древней Земли (температура, pH и т.д.), возможен синтез большого спектра органических соединений, в том числе - аминокислот, сахаров и азотистых оснований - мономеров белков, ДНК и РНК. Показано также, что в результате таких реакций возникали примитивные аналоги биологических макромолекул с зачатками биологической активности (короткие олигонуклеотиды полипептиды), а также протеиноиды - разветвленные белки, обладающие способностью к формированию микросфер.

В пятидесятые - первой половине 60-х годов прошлого века исследования А.И. Опарина по коацерватам нашли продолжения в работах Фокса. Было показано, что молекулы, формируемые в условиях "предбиологического" синтеза, способны формировать микросферы (аналоги коацерватов А.И. Опарина), названные Фоксом протоклетками. Они обладают каталитической активностью и способностью осуществлять нематричный синтез пептидов и олигонуклеотидов во внутренней полости.

Следующий важный этап в исследовании проблемы возникновения жизни связан с именем Нобелевского лауреата Манфреда Эйгена. Начиная со второй половины 60-х годов с использованием теоретических подходов он провел фундаментальный цикл исследований по проблемам самоорганизации материи и эволюции биологических макромолекул. Эйген предложил концепцию каталитического гиперцикла - замкнутого самовоспроизводящегося ансамбля полинуклеотидов и полипептидов (Рис. 8). Гиперцикл содержит два класса функциональных элементов: информационные носители  $I_i$  и ферменты  $E_i$ .

Каждый информационный носитель  $I_i$  инструктирует, во-первых, собственное воспроизведение и, во-вторых, трансляцию фермента  $E_i$ . Каждый фермент  $E_i$ , в свою очередь, катализирует воспроизведение следующего носителя информации  $I_{i+1}$ .

Простейшая система дифференциальных уравнений, описывающая динамику популяции самореплицирующихся матриц, представлена на рисунке 9. Здесь  $i$  - индекс, которым помечены все различные самовоспроизводящиеся молекулярные единицы;  $x_i$  - популяционная переменная;  $D_i$  - константа деградации,  $A_i Q_i$  - константа  $A_i Q_i$  - константа самовоспроизведения матрицы  $x_i$ ;  $v_{ik}$  - параметр индивидуального темпа мутаций;  $\Phi_i$  - индивидуальный поток или транспорт, который описывает добавление или удаление  $i$ -го вида любым способом, кроме химической реакции.

Фундаментальная заслуга М.Эйгена состояла в том, что он показал возможность дарвиновской эволюции популяций предбиологических макромолекул, организованных в гиперциклы, под действием мутационного процесса и отбора, конкуренции между гиперциклами и их эволюции в направлении повышения приспособленности.

Принципиальным недостатком эйгеновского гиперцикла являлась неуниверсальность процессов репликации, так как каждая информационная матрица в гиперцикле синтезируется под действием своего фермента (тогда как в генетических системах все процессы матричного синтеза осуществляются универсальными ферментами).

Для преодоления этого принципиального недостатка В.А. Ратнером была предложена другая модель примитивных самовоспроизводящихся систем - так называемый сайзер (Рис. 10). В простейшем варианте сайзер состоит из двух информационных матриц. Матрица I1 кодирует белок репликации E1, а матрица I2 - белок трансляции E2. В этом случае достигается универсальность матричных процессов, так как E1 обеспечивает репликацию всех матриц сайзера, а белок P2 - их трансляцию. Проведенные теоретические исследования показали, что сайзер обладает богатым набором эволюционно-динамических свойств, полезных для изучения ранних этапов биологической эволюции.

Однако, все перечисленные выше экспериментальные и теоретические исследования не давали конструктивного решения проблемы нематричного синтеза генетических макромолекул. Также оставался нерешенным вопрос о том, какой из двух типов генетических макромолекул (ДНК или РНК) был наиболее вероятным первичным носителем генетической информации в примитивных самовоспроизводящихся системах.

В современных генетических системах (Рис. 2) задачи хранения генетической информации и ее копирования для передачи к последующим поколениям четко разделены. Нуклеиновые кислоты кодируют информацию, а белки ее реплицируют. Большинство процессов в современных молекулярно-генетических системах начинаются с переноса информации от ДНК к информационной или матричной РНК и затем происходит трансляция этой мРНК с образованием белковых молекул.

При рассмотрении двух возможных вариантов предковой информационной матрицы (ДНК и РНК) первоначально предпочтение отдавалось молекуле ДНК, как обладающей существенно большей химической стабильностью и, следовательно, надежностью хранения генетической информации. Считалось также, что процессы матричного синтеза ДНК и РНК обязательно требуют участия белковых ферментов.

Однако, открытия в области молекулярной биологии РНК, произошедшие во второй половине 80-х годов прошлого века, привели к выводу, что скорее РНК, чем белкам и ДНК, принадлежала ключевая роль на ранних этапах происхождения жизни.

Начало прорыву в понимании закономерностей предбиологической эволюции было положено Томасом Сечем и Сиднеем Альтманом, которые открыли новый класс природных молекул РНК - рибозимов. Эти редко встречающиеся в природе молекулы ведут себя как белковые ферменты и способны катализировать реакции. На рисунке 11 представлен пример молекулярной структуры одного из рибозимов, обладающих способностью расщеплять РНК.

Открывшаяся при этом картина поразила воображение исследователей, показав, что приведенная выше логика о ДНК как первичном носителе генетической информации, по-видимому, не соответствует действительности. Исследования, направленные на изучение ферментативной активности РНК позволили сформулировать концепцию Мира РНК, исходящую из предположения, что именно РНК являлись предбиологическими самореплицирующимися информационными матрицами, на основе которых возникла жизнь.

Важнейшим средством моделирования закономерностей предбиологической эволюции являются селекс-техника, называемая также молекулярной эволюцией в пробирке (Рис. 12). Она включает создание исходной популяции макромолекул, например случайных последовательностей (в случае создания необходимого молекулярного свойства *de novo*) или природных молекул, выполняющих определенную функцию (в случае, если ее необходимо существенным образом модифицировать в определенном направлении). Затем осуществляется необходимое количество раундов эволюции, включающих: (1) мутирование исходной популяции последовательностей и (2) отбор в направлении увеличения целевого свойства.

Селекс-подходы - эффективный практический способ получения молекулярных продуктов с заданными свойствами. В настоящее время на их основе получены тысячи различных

макромолекул с целевыми свойствами. При этом количество раундов отбора, как правило, не очень велико. Эти подходы имеют практическое значение для улучшения каталитической активности белков, а также для "переключения" белков с одного вида субстрата на другой. Например, таким образом, была получена аспарат-трансаминаза, имевшая в 2 миллиона раз большую активность по отношению к новому субстрату - валину, чем к исходному - аспарагину. При этом только одна из фиксировавшихся 17 замен локализовалась непосредственно вблизи активного центра, в то время как остальные затрагивали удаленные от него позиции.

Помимо нуклеотидных замен важную роль в генерации изменчивости в ходе эволюции имеют рекомбинации. В последнее время селек-методы, основанные на рекомбинациях, также используются для получения белков с новыми свойствами. Наконец, созданы селек-подходы, позволяющие моделировать эволюцию многоэтапных метаболических путей, обеспечивающих производство определенных молекулярных продуктов.

В 1995 году Дэвид Бартель (Рис. 13) с использованием селек- технологий синтезировал рибозимы с неизвестными ранее свойствами, которые катализировали реакции в 10 раз быстрее, чем известные природные рибозимы. Размер, структура и эффективность катализа реакций этими рибозимами удивили ученых и привели к мысли, что сложные рибозимы могли возникнуть за один шаг из длинных случайных последовательностей РНК.

Для понимания закономерностей ранней эволюции наибольшее значение имел следующий результат: из пула рибозимов после нескольких раундов эволюции авторы выделили рибозим с РНК-полимеразной активностью, который с использованием нуклеотидтрифосфата в качестве субстрата может на основе РНК-матрицы синтезировать комплементарную нить РНК длиной до 14 нуклеотидов (то есть более чем полный оборот спирали РНК) (Рис. 14). Этот фермент присоединяет нуклеотиды к короткой "праймерной" последовательности, которая комплементарна РНК-матрице. В результате подобного ферментативного синтеза образуется РНК, комплементарная исходной матрице. Фактически, этот результат может рассматриваться как важнейшее доказательство реальности предкового "мира РНК", в котором репликация РНК-матрицы осуществляется на основе РНК-фермента.

В экспериментах Бартеля с помощью селек-технологии также был получен рибозим, обладавший способностью репарации разрывов в двухнитевой РНК (Рис. 15). Он выполняет лигирующую функцию, то есть способен ковалентно соединять одноцепочечный разрыв в двухцепочечной РНК, используя в качестве отщепляющейся группы пирофосфат (pp).

Эти результаты показывают, что в условиях предбиологической эволюции на основе дарвиновского отбора из случайных полимеров могли возникать молекулы РНК, с широким спектром специфических ферментативных активностей, обеспечивающих как репарацию разрывов в двухнитевой РНК так и (что самое важное) - репликацию РНК.

Как же обстояло дело с синтезом самих нуклеотидов? В мире РНК примитивные формы жизни должны были не только обладать способностью к репликации РНК, но и синтезу исходных мономеров - нуклеотидов. В экспериментах Бартеля с помощью селек-технологии получен рибозим, обладавший способностью катализировать реакцию присоединения основания к сахару с образованием нуклеотида.

Таким образом, появляется возможность полного замыкания цикла самовоспроизведения РНК - матрицы с помощью рибозимной активности: от синтеза РНК-мономеров (нуклеотидов) до собственно синтеза новой молекулы РНК на РНК-матрице. При этом, опираясь на эксперименты Стэнли Мюллера, можно полагать, что сахара и основания синтезировались спонтанно в первичном бульоне с использованием механизмов предбиологического синтеза.

Для построения концепции мира РНК необходимо также ответить на вопрос о том,

насколько вероятно было возникновение рибозимов в ходе предбиологической эволюции? Отвечая на него, Бартель с использованием селек-методов показал что hammerhead ribosome возникает de novo из пула случайных последовательностей при физиологических условиях. Он является наиболее часто встречающейся расщепляющей молекулой, возникающей в условиях селекции in vitro и обеспечивающей биологически приемлемую скорость ферментативной реакции. Этот эксперимент указывает на возможность жесткой канализованности и, следовательно, высокой вероятности появления РНК-ферментов в условиях предбиологической эволюции.

Конечно, уточнение описанной выше картины требует большой дополнительной работы. Например, у полученной в ходе селек-экспериментов рибозимной РНК-полимеразы отсутствуют 2 свойства полноценной полимеразы: она не может полностью копировать длинные матрицы, и процесс полимеризации идет медленно, при этом дочерние РНК образуются медленнее, чем распадается родительская РНК. Кроме того, отсутствует "цикличность": после добавления первого нуклеотида, наиболее вероятен процесс диссоциации полимеразы от матрицы, а не процесс присоединения следующего нуклеотида. Наконец, самокомплементарные районы матрицы могут образовывать структуры, препятствующие доступу полимеразе. Более продвинутой полимеразе должна уметь "раскручивать" эти структуры.

Ясно, что рибозимная РНК-полимераза, способная выполнять все эти функции, должна иметь весьма сложную структуру. С помощью селек-технологии Бартелю удалось получить такой вариант рибозима, обладающего свойствами РНК-полимеразы, для которого имеются существенно меньшие ограничения на длину реплицируемой последовательности. Эта РНК-полимераза уже способна дифференцировать правильные (комплементарные) праймеры от неправильных с достоверностью 96-99%. Последняя синтезированная группой Бартеля полимеразы, обладающая более высокими функциональными свойствами, относительно длинна (189 нуклеотидов) и имеет сложную пространственную структуру.

Приведенные данные показывают, что в условиях предбиологической эволюции на основе дарвиновского отбора из случайных полимеров могли возникать молекулы со специфической структурой и функцией, в том числе - самореплицирующиеся матрицы. Таким образом, для объяснения закономерностей возникновения самовоспроизводящихся систем нет необходимости привлекать ничего кроме изменчивости, наследственности и отбора. Особую убедительность взгляду на молекулы РНК как на первичные носители генетической информации, придает тот факт, что матричное воспроизведение РНК в настоящее время может быть доказано в наглядных экспериментах на основе селек-подходов.

Итак, сложившее к настоящему времени представление о предковом мире РНК может быть суммировано следующим образом.

1. Молекулы РНК образуются из рибозы и других низкомолекулярных органических соединений (Рис. 16).
2. В ходе эволюции молекул РНК развивается способность к ауторепликации - синтезу копий самих себя (Рис. 17).
3. Молекулы РНК выступают в роли матриц, синтезирующих белки, которые могут служить катализаторами различных процессов, происходящих в молекулярно-генетических системах (Рис. 18).
4. С помощью белковых молекул репликация РНК и синтез белков происходят более эффективно. Молекулы РНК служат матрицами (также при участии белков) для синтеза двухцепочечных молекул ДНК (Рис. 19).
5. ДНК становится доминирующим носителем информации. Она направляет синтез белков на РНК-матрицах. Белки, в свою очередь, способствуют репликации ДНК и ее транскрипции, то

есть синтезу РНК-копий. Доминирующий перенос информации осуществляется в направлении ДНК → РНК → белок (Рис. 20).

Мир РНК мог возникать в порах скальных отложений рядом с горячими источниками, где присутствовали как газовая, так и жидкая фаза. Предполагается, что окружающая среда должна была содержать высокое содержание фосфатов, что обеспечивало избыток фосфора, необходимый для синтеза РНК. С геологической точки зрения такая среда могла встречаться вокруг щелочных вулканов (гидротермальных вулканных систем). Существенно, что такие вулканические отложения могли также содержать ионы многих металлов, кофакторов каталитических реакций синтеза молекулярных компонент жизни.

В науке замечательно то, что к моменту возникновения уверенности в познании истины, появляются факты, разрушающие сложившуюся пирамиду представлений. Это же происходит на наших глазах и с концепцией мира РНК. Исследования последних лет вносят сомнения в роль РНК как первичной самореплицирующейся информационной генетической матрицы. Действительно, с помощью селекс-технологии созданы искусственные одонитевые ДНК-ферменты длиной 50 пар нуклеотидов, которые обладают способностью расщеплять РНК. Механизм их действия напоминает катализ, осуществляемый рибозимами (Рис. 21) Возможность селекции в "пробирке" такого не существующего в природе фермента указывает на то, что подобного рода акт "творения" мог происходить и в ходе ранней предбиологической эволюции.

Этот результат свидетельствует о том, что на ранних этапах возникновения жизни молекулы ДНК также могли выступать в качестве самореплицирующихся ферментов - носителей генетической информации. У ДНК-фермента есть два преимущества перед рибозимом: (1) он существенно более стабилен, чем рибозим (время жизни - 48 часов для ДНК по сравнению с несколькими минутами для рибозимов; (2) ДНК-фермент в силу конформационной жесткости молекулы обеспечивает более точное позиционирование активного центра по отношению к РНК.

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что не только ДНК, но и ДНК могут рассматриваться в качестве источника возникновения жизни. Однако вопрос о том, что же представляла собой первая самореплицирующаяся генетическая молекула, по-прежнему остается открытым.

Проблемам эволюционного возникновения генетического кода и его реализации в белок-синтезирующем аппарате клетки будет посвящена отдельная лекция. Здесь же мы отметим, что, по мнению ряда исследователей, трансляционная (белок-синтезирующая) машина возникла на основе эволюции механизмов матричного синтеза РНК с использованием рибозимов.

В заключение этого раздела следует подчеркнуть, что исследование добиологических этапов возникновения жизни является одной из наиболее интересных и актуальных проблем современной информационной биологии. В частности, необходима разработка широкого спектра теоретических представлений и компьютерных моделей, направленных не только на выяснение существенных шагов предбиологической эволюции, но и на планирование экспериментов, позволяющих воспроизводить "в пробирке" ранние ключевые этапы добиологической эволюции (Рис. 22).

## **РАННЯЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И ФОРМИРОВАНИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ ТАКСОНОВ**

Рассмотрим последовательность макроэволюционных событий, которые привели к возникновению основных форм жизни на Земле, следуя известному эволюционисту

Кавалайери-Смиту (Рис. 23).

Датировка возникновения одноклеточных форм жизни может быть отнесена к периоду 3,5 - 3.8 млрд лет назад. Во всяком случае, в это время существовали одноклеточные формы жизни, внешне напоминающие цианобактерии и строматолиты (Рис. 24).

Предполагается, что иррадиация примитивных одноклеточных предковых форм жизни - прогенот привела к возникновению империи прокариот, которым свойственна кольцевая хромосома, отсутствие мембранных компартментов и муреиновый экзоскелет - клеточная стенка (Рис. 23). Эволюционное совершенствование этих свойств привело к возникновению современного надцарства бактерий, включая *Cyanobacteria*, освоивших фотосинтез с выделением кислорода.

Как следствие, примерно 1 миллиард лет назад в атмосфере начал накапливаться кислород, что привело к снижению биоразнообразия анаэробных прокариот и "расчистило" пространство для эволюции эукариот (Рис. 23).

В одной из ветвей прогенотов произошла так называемая неомуральная революция - потеря способности синтезировать муреин. Это привело к возникновению надцарства НЕОМУРА, представители которого потеряли клеточную стенку (Рис. 23). Одна из ветвей Неомура дала начало современным архебактериям, восстановив экзоскелет на основе гликопротеинов и приспособившись к экстремальным условиям. Другая линия Неомура - *Procarayota* характеризовалась развитием белкового эндоскелета и цитоплазматической мембраны эукариотического типа (Рис. 23).

Дальнейшая эволюция в этой линии привела к возникновению презукариот, развивших на базе эндоскелета клеточные моторы, что обеспечило возникновение внутриклеточных мембран и компартментализацию. Компартмент, окруживший хромосому, дал начало ядру - возникла империя EUCARYOTA (Рис. 23). При этом ДНК могла выполнять добавочную функцию эндоскелета, что потребовало роста количества ДНК.

Возникшая у эукариот способность к новому типу питания - фаготрофии послужила основой для первого эндосимбиоза с альфа-протеобактериями, что привело к возникновению митохондрий (Рис. 23).

Возникло обширное надцарство одноклеточных эукариот - ПРОТОЗОА (Рис. 23).

Независимо возникшая многоклеточность привела в одной ветви к возникновению царств грибов и животных, а в другой ветви - царства растений (Рис. 23). Одноклеточные предки растений вступили в эндосимбиоз с цианобактериями, что привело к возникновению хлоропластов и увеличило интенсивность фотосинтеза в планетарном масштабе (Рис. 23).

К числу важнейших задач, которые решает информационная биология при изучении рассматриваемой проблемы относится РЕКОНСТРУКЦИЯ КЛЮЧЕВЫХ СОБЫТИЙ РАННЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ, которые привели к ФОРМИРОВАНИЮ ГЛОБАЛЬНЫХ ТАКСОНОВ (Рис. 25).

О том, насколько значимые результаты может дать решение этих задач свидетельствуют результаты, полученные Вэзе и Фоксом по реконструкции эволюции рибосомных РНК, которые привели к открытию нового сверхцарства - архебактерий, выделившихся в отдельную эволюционную ветвь на ранних этапах биологической эволюции.

## ЭВОЛЮЦИОННЫЕ МОТИВАЦИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МНОГОКЛЕТОЧНОСТИ

Важнейшее событие эволюции - возникновение многоклеточности.

Эволюционное формирование многоклеточных организмов требовало, в первую очередь, возникновения системы развитых и эффективных межклеточных коммуникаций,

обеспечивающих обмен метаболитами, сигнальными молекулами и т.д., адгезионных взаимодействий, обеспечивающих поддержание физической целостности многоклеточных организмов, возникновение генетических систем, контролирующей дифференцировку клеток, морфогенез органов и тканей, рост и развитие организмов.

Становление постоянной многоклеточности могло проходить через такую организацию популяций одноклеточных, при которой они в определенных ситуациях на некоторое время формируют многоклеточный организм. Изучение жизненного цикла амебы *Dictyostelium* (Рис. 26) позволяет предположить, что возникновение постоянной (облигатной) многоклеточности могло проходить через этап так называемой факультативной многоклеточности, то есть такой организации популяций одноклеточных организмов, при которой они в определенных ситуациях формируют многоклеточный организм. В нормальных условиях амеба *Dictyostelium* живет в виде популяций одноклеточных изолированных организмов, питающихся бактериями. При наступлении неблагоприятных условий, при недостатке пищи и постоянном голодании, ранее независимые особи образуют агрегаты, содержащие до 100 000 амеб. При этом центрами агрегации являются амебы, продуцирующие в ответ на неблагоприятные условия цАМФ. Агрегаты способны к передвижению и формированию двух органов: (1) ножки и (2) органа размножения, формирующего споры. При наступлении благоприятных условий эти споры трансформируются в активных амеб. Предполагается, что именно факультативные многоклеточные организмы, клетки которых обладали способностью на определенных этапах жизненного цикла взаимно координировать свою функцию, образуя факультативный многоклеточный организм, являлись наилучшими кандидатами для возникновения облигатных многоклеточных организмов.

Рассматривая эту проблему в более общем контексте, можно сформулировать важную задачу (Рис. 27) - теоретическое исследование и компьютерное моделирование эволюционных сценариев возникновения многокомпонентных самовоспроизводящихся биологических систем.

## ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Основными факторами эволюции генетических систем является известная триада "изменчивость-наследственность-отбор" (Рис. 28) Существует два типа наследственности: генетическая и эпигенетическая. Генетической называется наследственная информация, передаваемая от родителей потомкам в форме материального носителя (геномной ДНК у большинства организмов или РНК у ряда вирусов). Эпигенетической называют наследственную информацию, передаваемую в виде функционального состояния клеток зародышевой линии. Эпигенетическая информация в отличие от генетической не устойчива в ряду поколений, но может обеспечивать модуляцию проявления фенотипических признаков, определяемых генетической информацией.

Существует большое количество механизмов, обеспечивающих изменчивость генетической информации, передаваемой от родителей к потомкам. Не претендуя на полноту отметим: одиночные нуклеотидные замены (Рис. 29), чаще всего возникающие как ошибки репликации; множественные нуклеотидные замены, основанные на разнообразных механизмах конверсии;

делеции и дупликации (Рис. 30);

рекомбинации (гомологичные (Рис. 31) и по механизму неравного кроссинговера);

инверсии (Рис. 32, 33);

транслокации (Рис 34);

перемещения мобильных генетических элементов (Рис. 35). Важную роль в генерации генотипической изменчивости играют также горизонтальный перенос генетической информации (от генома реципиента к донору) и геномные мутации - полиплоидизация и анеуплоидизация). Хотя представленный перечень процессов является заведомо неполным, он дает представление о разнообразии механизмов возникновения генетической изменчивости в популяциях.

Рассмотрению молекулярных механизмов возникновения мутаций будет посвящена отдельная лекция. Здесь же я отмечу, что любые типы мутационных событий неравномерно распределены по геномам. Существуют, в частности, горячие точки возникновения мутаций и рекомбинаций, локализация которых обусловлена, в частности контекстно-структурными особенностями определенных участков ДНК, делающими возникновение различных типов мутаций в "горячих" точках более вероятным, чем в других районах.

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ** является важным направлением информационной биологии (Рис. 36).

Отбор (Рис. 28) обеспечивает дифференциальное различие особей - носителей молекулярных генотипов и фенотипов по вероятности их выживания и воспроизведения. Фактически, он оперирует с особями популяции, несущими разнообразные мутации, и, как следствие этого, характеризующимися разнообразными фенотипическими характеристиками. Он выбирает в ряду поколений те фенотипы (и как следствие этого - стоящие за ними варианты генетической организации), которые обеспечивают максимальную приспособленность организмов к текущему состоянию окружающей среды. В соответствии с состоянием окружающей среды рассматривается три типа отбора (Рис. 28): стабилизирующий, движущий и дестабилизирующий. Стабилизирующий отбор действует в постоянных условиях внешней среды. Движущий отбор имеет место при однонаправленном и достаточно медленном (в эволюционных масштабах времени) изменении критического параметра внешней среды. Наконец, дестабилизирующий отбор действует при однонаправленном, но резко выраженном и исключительно интенсивном изменении внешней среды, когда вектор отбора направлен на иерархически высокие уровни управления в генетических системах.

Элементарной единицей эволюционного процесса является не отдельный организм, а популяция. Мутация возникает в отдельной особи популяции. Далее она может фиксироваться в популяции (Рис. 37) или элиминироваться из нее (Рис. 38). Существует два принципиально различных механизма фиксации мутаций в популяциях (Рис. 37): нейтральный и адаптивный. При нейтральном механизме фиксации мутации, не повышающей приспособленность особей, происходит в результате стохастического дрейфа в силу конечной численности популяции мутаций. При адаптивном механизме фиксации мутации происходит в результате того, что несущие ее особи имеют повышенную приспособленность.

Также существует два принципиально различных механизма элиминации мутаций из популяции (Рис. 38): нейтральный и негативный. При нейтральном механизме потеря

мутации, не понижающей приспособленность особей, происходит в результате стохастического дрейфа; при негативном механизме элиминация происходит в результате того, что особи, несущие мутацию, имеют сниженную приспособленность.

Важной задачей ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ является ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МИКРОЭВОЛЮЦИИ - ИЗМЕНЕНИЯ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ В ПОПУЛЯЦИИ (Рис. 39). Рассмотрению возникающих при этом проблем и методов их решения будет посвящена отдельная лекция во вводном цикле.

### СТРАТЕГИИ НЕВЫРОЖДЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Существует несколько стратегий эволюционной адаптации генетических систем к резко меняющимся условиям окружающей среды.

Эволюция популяций осуществляется в изменяющихся условиях среды. В ответ на часто возникающие или периодические изменения среды возникают системы биохимических, физиологических и морфологических адаптаций. Однако нас будут интересовать относительно редкие (в эволюционных масштабах времени) и, в то же время, сильно выраженные флуктуации среды, ранее не переживавшиеся популяциями.

Наиболее простой является стратегия пассивного ожидания (Рис. 40), которая свойственна одноклеточным эукариотам и прокариотам. В этом случае выживание популяции в изменяющихся условиях обеспечивается за счет ее огромной численности (до  $10^{15}$  особей), что даже при относительно невысоких темпах мутирования обеспечивает наличие большого количества геномов, отличающихся от нормы. Чем ближе у конкретной особи величина фенотипической характеристики  $X_i$  к величине  $X_0$ , оптимальной для данных средовых условий, тем больше ее приспособленность  $W_i$ . Генотипическое разнообразие является необходимым условием невырождения популяций при изменяющихся условиях внешней среды. Действительно, при резких изменениях среды оптимальным становится другое значение критической фенотипической характеристики. Особи, адаптированные к старым условиям среды, теряют свою приспособленность и гибнут. В этой ситуации имеют шанс выжить только "изгои", то есть те особи, которые в исходных условиях имели существенно отличающиеся от нормы значения фенотипической характеристики и, как следствие этого, низкую приспособленность. Именно эти "изгои" и обеспечивают выживание популяции в новых средовых условиях с последующей эволюцией фенотипических характеристик к новым оптимальным условиям среды. В этом случае чем выше темпы мутирования, тем больше размах возникающей фенотипической изменчивости, и, как следствие этого, вероятность выживания в новых средовых условиях.

Замечательно, что помимо стратегии "пассивного ожидания" прокариоты имеют еще одну дополнительную стратегию, обеспечивающую их выживание в резко изменяющихся условиях внешней среды. Ее суть состоит в повышении темпов генерации генотипической изменчивости в ответ на неблагоприятные условия внешней среды, и потому она называется стратегией активного реагирования" (Рис. 41).

Согласно имеющимся данным для *E. Coli* важную роль в этом играет ген, кодирующий белок теплового шока HSP70, который называют геном эволюции (Рис 42). Ген HSP70 имеет два качественно различающихся уровня экспрессии. В нормальных условиях белок HSP70 нарабатывается в умеренных количествах и способствует рекомбинационным обменам и репарации ДНК. При критических изменениях состояния внешней среды под действием

теплового шока, алкоголя, тяжелых металлов, мышьяка, оксидантов, изменений pH, влияния электромагнитного поля, глюкозного голодания и других неблагоприятных условиях внешней среды наблюдается повышенная экспрессия гена HSP70. В свою очередь, это приводит к повышению частоты транспозиции мобильных элементов E.Coli. Таким образом, наблюдающееся при неблагоприятных средовых условиях повышение уровня белка HSP70 стимулирует процессы рекомбинации и транспозиций, обеспечивая повышение генетического разнообразия в популяции способствующее поиску новых генотипических вариантов, способных выживать в резко изменяющихся условиях внешней среды. Интересно заметить, что ген HSP70 присутствует у всех организмов, кроме нескольких, самых примитивных видов архебактерий, что указывает на его важную функцию.

В чем состоит биологическая мотивация возникновения стратегии "активного реагирования"? Следует, однако, заметить, что для любой популяции существует естественная верхняя граница темпов мутационной изменчивости, которая задается известным ограничением Эйгена, называемым "границей мутационной катастрофы ошибок" (Рис. 43). Наиболее наглядно она обосновывается для популяций гаплоидных организмов. Качественно говоря, граница мутационной катастрофы ошибок достигается при таких темпах мутационного процесса  $V$  (замен на позицию генома на цикл репликации), которые обеспечивают при репликации возникновение как минимум одной летальной мутации на геном. В самом общем виде это правило может быть сформулировано следующим образом: частота возникновения повреждающих мутаций в наследственной памяти любой самовоспроизводящейся генетической системы не может превосходить некоторого критического уровня, при достижении которого наступает ее гибель.

Особенно актуальна стратегия активного реагирования для негомеостатированных многоклеточных эукариот. Именно она является основной при эволюционной адаптации к резко изменяющимся условиям внешней среды для этих организмов. В этом случае эффективная численность популяции имеет небольшие размеры ( $10^4$  -  $10^5$  степени) и стратегия пассивного ожидания неэффективна в силу невысокого уровня генетического и фенотипического полиморфизма. Существенно также, что низкий уровень генотипической изменчивости в подобных популяциях не может быть скомпенсирован постоянно высоким уровнем мутационного процесса, так как это приведет к эволюционному вырождению популяции из-за достижения границы мутационной катастрофы ошибок.

Замечательно, однако, что механизм активного реагирования, запускающий повышенный уровень мутационного процесса в геномах негомеостатированных эукариот, также использует систему генов теплового шока, включающую как ген HSP70 так и другие белки теплового шока (рис. 44). При этом существенный вклад в генерацию высокого уровня генотипической изменчивости принадлежит мобильным генетическим элементам

Не останавливаясь на деталях механизма активации транспозиции МГЭ под действием теплового шока, заметим, что как и в случае прокариот, активация транскрипции генов теплового шока эукариот инициируется под действием широкого круга неблагоприятных факторов внешней среды (температура, тяжелые металлы, детергенты, алкоголь и т.д.) Таким образом, гены теплового шока следует рассматривать как универсальную систему рецепции сигналов о неблагоприятном состоянии внешней среды, оцениваемому по большому количеству параметров.

Типичная картина индукции транспозиции МГЭ 412 дрозофилы под действием тепло-холодового шока представлена на рисунке 45. В результате повышается частота транспозиции МГЭ и меняется картина их распределения по геному.

На рисунке 46 представлен фрагмент генной сети, контролирующей ответ теплового шока у эукариот. Она включает в себя многие десятки генов и характеризуется высокой степенью консервативности для изученных геномов эукариот. Стратегия активного реагирования позволяет поддерживать невысокий уровень генотипической изменчивости в норме, а с

другой стороны - обеспечивает генерацию повышенного уровня генетической изменчивости в критических условиях внешней среды и возвращение ее к норме после нормализации внешних условий (Рис. 41).

Третья эволюционная стратегия, обеспечивающая невырождение популяций в резко изменяющихся условиях внешней среды, связана с автономизацией организмов на этапах их воспроизведения и жизнедеятельности от повреждающего влияния внешней среды (Рис. 47). Именно на нее обратил внимание И.И.Шмальгаузен при рассмотрении проблем прогрессивной эволюции. Как отмечал Шмальгаузен, вектор прогрессивной эволюции направлен в сторону повышения надежности процессов передачи и реализации генетической информации. Наибольшего эволюционного прогресса в этом смысле достигли млекопитающие, имеющие: системы органов и тканей, обеспечивающих эффективную автономизацию внутренних процессов от внешней среды; теплокровность; длительный пренатальный онтогенез, обеспечивающий прохождение критических стадий индивидуального развития в гомеостатированных условиях. Это привело к автономизации воспроизведения и жизнедеятельности от внешней среды и созданию условий для освоения новых экологических ниш. Как наиболее эффективную систему автономизации можно рассматривать появление сознания у человека

В информационной биологии имеется большой круг задач, посвященных **ТЕОРЕТИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ И КОМПЬЮТЕРНОМУ МОДЕЛИРОВАНИЮ СТРАТЕГИЙ ЭВОЛЮЦИОННОГО НЕВЫРОЖДЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ** (Рис. 48). Об этом пойдет речь на следующей лекции.