

## Лекция 10. Геномы. Прокариоты и археи.

### Рис.2-3. Древо жизни. Прокариоты

**Бактерии** (др.-греч. βακτήριον — палочка) — группа (царство) микроорганизмов, чаще всего одноклеточных. К настоящему времени описано около десяти тысяч видов бактерий и предполагается, что их существует свыше миллиона, однако само применение понятия вида к бактериям сопряжено с рядом трудностей.

**Археи** (Archaea, старое название — археобактерии, Archaeobacteria) — одноклеточные прокариоты, на молекулярном уровне заметно отличающиеся как от бактерий, так и от эукариотов. Отличия наблюдаются в компонентах синтеза белка, структуре клеточной стенки, биохимии (только среди архей есть метаногены) и устойчивости к факторам внешней среды (большая часть — экстремофилы).

Бактерии наряду с археями были одними из первых живых организмов на Земле, появившись около 3,9-3,5 млрд лет назад. Эволюционные взаимоотношения между этими группами ещё до конца не изучены, есть как минимум три основные гипотезы: Н. Пэйс предполагает наличие у них общего предка протобактерии, Заварзин считает архей тупиковой ветвью эволюции эубактерий, освоившей экстремальные местообитания; наконец, по третьей гипотезе археи — первые живые организмы, от которых произошли бактерии.

### Рис.4. Прокариоты – классификация

В классификации прокариот неприменим основной критерий вида – скрещиваемость. Поэтому наибольшую известность получила фенотипическая классификация бактерий, основанная на строении их клеточной стенки.

В последнее время всё большее развитие получает филогенетическая классификация бактерий, основанная на данных молекулярной биологии. Одним из первых методов оценки родства по сходству генома был предложенный ещё в 1960-х годах метод сравнения содержания гуанина и цитозина в ДНК. Хотя одинаковые значения их содержания и не могут дать никакой информации об эволюционной близости организмов, их различия на 10 % означают, что бактерии не принадлежат к одному роду.

Другой метод - анализ последовательности генов в 16s рРНК, который позволил выделить несколько филогенетических ветвей эубактерий и оценить связи между ними.

Для классификации на уровне вида применяется метод ДНК-ДНК гибридизации. Анализ выборки хорошо изученных видов позволяет считать что 70 % уровень гибридизации характеризует один вид, 10-60 % — один род, менее 10 % — разные рода.

Филогенетическая классификация отчасти повторяет фенотипическую. Именно благодаря анализу рРНК археобактерии были выделены в самостоятельный таксон высшего ранга.

### Рис.5. Прокариоты – экологические аспекты

Многие бактерии вызывают болезни человека, животных и растений, другие играют исключительно важную роль в функционировании биосферы, например, лишь бактерии способны ассимилировать азот атмосферы.

Бактерии вызывают большое количество заболеваний человека, таких как чума (*Yersinia pestis*), сибирская язва (*Bacillus anthracis*), лепра (проказа, возбудитель: *Mycobacterium leprae*), дифтерия (*Corynebacterium diphtheriae*), сифилис (*Treponema pallidum*), холера (*Vibrio cholerae*), туберкулёз (*Mycobacterium tuberculosis*), листериоз (*Listeria monocytogenes*) и др. Открытие патогенных свойств у бактерий продолжается: в 1976 обнаружена болезнь легионеров, вызываемая *Legionella pneumophila*, в 1980-е—1990-е было показано, что *Helicobacter pylori* вызывает язвенную болезнь и даже рак желудка, а также хронический гастрит. Бактериальным инфекциям подвержены также растения и животные. Многие бактерии, являющиеся в норме безопасными для человека или даже обычными обитателями его кожи или кишечника, в случае нарушения иммунитета или общего ослабления организма могут выступать в качестве патогенов.

Опасность бактериальных заболеваний была сильно снижена в конце XIX века с изобретением метода вакцинации, а в середине XX века с открытием антибиотиков.

### **Рис.6. Археи**

Археи широко распространены в окружающем мире, занимая, в том числе, и такие экологические ниши, которые недоступны другим живым организмам. В горячих источниках живут археи-термофилы, устойчивые к температурам +45...+113 °С; психрофилы способны к размножению при сравнительно низких температурах (-10... +15 °С); ацидофилы живут в кислотных средах (рН 1—5); алкалофилы, наоборот, предпочитают щелочи (рН 9—11). Барофилы выдерживают давление до 700 атмосфер, галофилы живут в соляных растворах с содержанием NaCl 25—30%. Ксерофилы выживают при минимальном уровне влаги.

### **Рис.7-9. Прокариоты – геномные проекты**

Согласно данным NCBI на 20 апреля 2008 полностью установлена первичная нуклеотидная последовательность 679 прокариотических геномов, из них – 52 генома архей и 627 геномов бактерий.

По данным NCBI на 20 апреля 2008 – 989 геномов прокариот находится в процессе установления полной нуклеотидной последовательности, из них – 34 принадлежат археям, 955 – бактериям.

Однако данные NCBI хоть и содержат информацию о большинстве геномных проектах, над которыми идет работа, в процессе секвенирования в мире находится множество геномов прокариот, не индексируемых NCBI. Вероятно, цифры NCBI несколько занижены.

Размер генома, экологические характеристики (бактерии-патогены и археи-экстримофилы), практическое значение делают прокариотические геномы привлекательным объектом для исследований. Затраты на установление полной последовательности генома бактерий несравнимо меньше, чем затраты на прочтение практически любого эукариотического генома. Кроме того, есть возможность установить последовательность нескольких линий одного и того же вида в относительно короткие сроки.

Количество геномных проектов прокариот растет с огромной скоростью. Еще несколько лет назад их было значительно меньше (примерно в три раза по данным 2003 года).

### **Рис.10-11. Бактерии – геномы**

Размер генома бактерий может сильно варьировать.

Размеры генома бактерий напрямую зависят от экологической ниши, занимаемой той или иной бактерией.

Геномы свободноживущих непатогенных бактерий значительно больше геномов облигатных бактерий-патогенов и внутриклеточных симбионтов.

До 97% генома эндосимбионта *Carsonella ruddii* представляют собой кодирующие последовательности. Кроме того, содержит множество перекрывающихся генов (overlapping genes), а общее количество генов в геноме *Carsonella ruddii* всего 182, наименьшее из известных для бактерий. Многие необходимые гены были потеряны.

Свободноживущая бактерия-патоген *Mycoplasma genitalium*, обладает наименьшим геномом среди бактерий этой экологической группы – всего 582.970 п.н., который содержит 482 гена.

#### **Рис.12. Прокариоты. Создание синтетического генома.**

В октябре 2006 года лаборатория Крейга Вентера (Craig Venter) сообщила о планах создания синтетического минимального бактериального генома на основе известного генома *Mycoplasma genitalium*. Синтетическая бактерия получит название - *Mycoplasma laboratorium*.

Синтетический геном будет содержать 381 ген. Этого количества, как предполагают, достаточно для самовоспроизведения и функционирования.

Геном будет перенесен в нуклеоид *M. genitalium*. Ранее, ученые той же лаборатории перенесли геном одной бактерии *M. genitalium* в другую, тем самым показав, что перенос целого генома возможен.

Новая синтетическая бактерия, обладающая минимальным геномом, будет использована для создания продуцентов биотоплива.

#### **Рис.13-15. Бактерии – состав генома**

Значительную часть генома бактерий занимают кодирующие последовательности.

Гораздо меньше – регуляторные участки, и совсем незначительную часть – повторенные последовательности и некодирующие участки. Причем в большинстве своем эти категории последовательностей не перекрываются.

Бактерии-патогены и бактерии-эндосимбионты теряют значительную часть кодирующих последовательностей, в которых нет необходимости. Однако соотношение кодирующей/некодирующей частей генома сохраняется – вместе с кодирующими последовательностями уменьшается фракция регуляторных и повторенных последовательностей. В среднем, 88% генома бактерий занято кодирующими участками. Количество генов в геноме бактерий незначительно превышает количество генов так называемого «корового» генома (core genome) – гипотетического генома, которого достаточно для выживания и сохранения свойств той или иной бактерии.

#### **Рис.16-17. Бактерии – динамика генома**

Геномы бактерий подвержены значительной динамике. Отдельная клетка может содержать лишь 80 % от суммы генов, имеющих во всех штаммах её вида (так называемый «коллективный геном»). Кроме того, может происходить частичное объединение геномов. При конъюгации клетка-донор в ходе непосредственного контакта передаёт клетке-реципиенту часть своего генома (в некоторых случаях весь). Участки ДНК донора могут обмениваться на гомологичные участки ДНК реципиента. Вероятность такого обмена значима только для бактерий одного вида.

Аналогично бактериальная клетка может поглощать и свободно находящуюся в среде ДНК, включая её в свой геном в случае высокой степени гомологии с собственной ДНК. В природных условиях протекает обмен генетической информацией при помощи умеренных

фагов (трансдукция). Кроме этого, возможен перенос нехромосомных генов при помощи плазмид определённого типа, кодирующих этот процесс, процесс обмена другими плазмидами и передачи транспозонов.

В отличие от эукариот, горизонтальный перенос является естественным явлением для бактерий и играет существенную роль в эволюции бактериальных геномов, в частности, приобретение новых генов у бактерий происходит в основном не за счет дубликации генов (как у эукариот), а за счет обмена генетической информацией между бактериями и других видов горизонтального переноса.

#### **Рис.18-21. Археи – геномы**

Геном большинства архей состоит из двухцепочечной кольцевой ДНК длиной 0.5–4 млн.п.н. и кольцевых плазмид размером от 2813 до 41229 н.п. В отличие от эубактерий, плазмиды архей являются обязательным компонентом генома (исключение составляет симбионт *Nanoarchaeum equitans*, который не имеет плазмид).

Распространено мнение, что археи по форме подобны бактериям, а по содержанию – эукариотическим клеткам животных и растений. Структуры репликативного комплекса и области начала репликации генома архей гомологичны преимущественно эукариотическим аналогам лишь за некоторыми исключениями. Это касается также транскрипции и трансляции.

Как и у бактерий размеры генома архей зависят от того, являются ли они свободноживущими или симбионтами. В геноме симбионта *Nanoarchaeum equitans* всего 537 генов, причем до 15% этих генов уникальны для архей, и их функция до сих пор неизвестна.

Значительная часть генома архей занята кодирующими последовательностями, в среднем 87%. Некодирующие участки занимают незначительную фракцию в геноме.