

Биополимеры и клетки в измерении архитектуры микроценозов.

3. Микроценоз, клетка, биополимеры – это что? Это как?

В. А. Кордюм

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, Украина, 03680

moshynets@gmail.com

Проведен анализ общепризнанных экспериментальных данных, описанных в литературе, о функциональном отличии мира эукариотов от мира прокариотов по особенностям организации и функционирования их генетического материала. Большое количество и разнообразие каналов горизонтального переноса генетического материала у прокариотов с широкой межвидовой реализацией в сочетании с особенностями фертильности, а также появление в процессе как обычного роста, так и под действием различных внешних факторов образований, меньших 0,2 мкм, позволило сформулировать положение об особом статусе у прокариотов их генома и размытости понятия самой клетки. В этой связи ставится вопрос о том, что же являют из себя не растущие в лаборатории формы, составляющие в природных субстратах подавляющее большинство.

Ключевые слова: геном прокариотов, микроценоз, горизонтальный перенос, клетка прокариотов.

Необходимые вступительные пояснения. Удивительное это «нечто» – абстрактное мышление. Оно допускает все: иллюзии, погружения в виртуальные миры, любые фантазии, математические расчеты десятимерных пространств и того, «как там», и т. д. И все это каким-то совершенно неправдоподобным в своей противоречивости, нереальности, непоследовательности образом составляет Разум, обеспечивающий создание его носителями все более и более невероятной реальной действительности – современной, быстро куда-то и абсолютно непонятно, для чего, зачем (и даже для кого), прогрессирующей (хотя правильнее было бы назвать вещи своими именами – не «прогрессирующей», а «эво-

люционирующей») человеческой цивилизации. Все это свойственно и науке, с некоторыми особенностями, конечно. И одним из элементов такого проявления абстрактного мышления в науке является принцип аналогий. Это когда на что-то неизвестное и непонятное переносят представления известного и понятного: «По аналогии с ...». При всей своей виртуальности, а если быть последовательными, то при всей абсолютной несерьезности (как, впрочем, и всего, что относится к категории абстрактного мышления) такой принцип оказывается в науке чрезвычайно полезным. Он позволяет «закрывать амбразуры» неизвестного и непонятного для продвижения вперед. Потом, по мере изучения скрытого такой аналогией, т. е. того, что и как представляют (по сути – вначале некой «виртуаль-

ной, вроде бы, реальностью»), «аналогия» плавно (или не очень) переходит в реально соответствующее действительности понятие, явление, процесс, состояние и т. д. Или по такому плавному пути не переходит. И тогда заменяется совершенно, радикально, принципиально, концептуально и т. п. иной, но уже не виртуальной, а «реальной реальностью». Иногда это происходит достаточно быстро. Иногда длится долго (очень долго).

Так в свое время произошло и с микромиром живого. Вследствие своих размеров и обитания в природных субстратах (микроразнообразных, непрозрачных, сложно структурированных, состоящих из сочетаний микрокомпонентов разной степени прочности, твердости и т. д.), в которых методы изучения живого работают очень плохо, неадекватно или вообще не работают, представления о микроценозах строили «по аналогии». Аналогии с ценозами макрообъектов, которые хорошо видны, доступны для любого изучения и вполне понятны. Аналогии с поведением, ростом, состоянием, биохимией, физиологией, молекулярной биологией и т. д. чистых и дозировано смешанных культур микроорганизмов, которые умели выращивать в лабораториях. Аналогии с лабораторными суррогатами экологических ниш – культурами накопления. Аналогии с различными «модельными системами», которые создавались экспериментально сообразно представлениям тех, кто их создавал. Аналогии с очень редкими, фрагментарными и крайне неполными информативно натурными экспериментами в природных субстратах. А концептуально в основу всего, что представляли о жизни микромира в природных субстратах, закладывали удивительно философски субъективные, экспериментально противоречивые представления о том, «что есть жизнь» в ее пространственно (т. е. по измерениям 3D) минимальном воплощении. И в некоем общем виде, в явной или неявной форме – ответ на неизбежный при этом (и в связи с этим) вопрос: что есть «жизнь» вообще? Относительно же «частного производного» (хотя и принципиального для всего построения представлений «что есть жизнь?»), допускающего и прямые наблюдения, и любые эксперименты, «адаптированного» к единственному реально известному – земной форме жизни, возникал вопрос,

как минимальные размеры микромира живого совмещаются с краеугольным камнем всей биологии – клеточной основой жизни? По аналогиям на все это как-то отвечали. Так «как-то» и была закрыта «амбразура неизвестного» о жизни микромира в его естественном состоянии – микроценозах природных субстратов. Подобное представление «по аналогии» длилось очень долго. И задачу свою выполнило успешно – позволило, не «заикливаясь» на неразрешимом (в то время), развиваться знаниям о микромире в его разнообразии, вездесущности, месте в Биосфере и даже в какой-то мере реальном понимании живого как такового.

Наконец наступило время (последняя четверть прошлого столетия), когда в биологии начала проявляться всеобщая неудовлетворенность. Недовлетворенность во всем – и в основополагающих концепциях, и в объяснении хорошо устоявшихся представлений, и в оценке регистрируемой феноменологии, и даже самой феноменологии (в плане ее фрагментности, искажающей видение явления в его реальном формате). А методическая основа добывания новых знаний о живом (во всех его проявлениях) в это же время, пройдя несколько радикальных технологических смен, вышла на уровень возможностей полного разрешения. Все это происходит сегодня «на глазах» и ведет к формированию, фактически, новой биологии – несоизмеримо более сложной, чем считалось ранее, и почти принципиально иной. Иной не потому, что старое, ранее установленное, оказалось «неправильным». Иной потому, что ранее установленное стало только феноменологией, да и то не общей, а лишь фрагментами общей, которую начали наполнять очень необычными и странными, фактическими, экспериментальными данными и пытаться понять во взаимосвязи, взаимодействии, взаимозависимости как нечто целое. Понять пространственно-временную организацию этой феноменологии, ее материальную, программную и т. д. основу, механизмы феноменально точного, взаимосогласованного взаимодействия фантастически сложной системы.

И так во всем – от макромолекул (сложность структурной динамики которых в живом оказалась высочайшей) до Биосферы (степень сложности которой пока не удастся представить даже в общем

виде). В том числе применительно конкретно к микроценозам. Начала возникать крайне необычная картина, пока еще неполная, но уже по-новому отображающая реальность. Поэтому перед тем как приступить к анализу статуса микроценозов, еще раз вспомним особенности появления и восприятия любого нового. Когда обнаруживается новая необычная феноменология, формируется какая бы то ни было новая идея, концепция, представление и т. д., для их обоснования из всего необозримого экспериментального материала (всегда неоднородного, далеко не всегда однозначного и в какой-то мере противоречивого) выбирается то, что «подходит» под новое, ему «соответствует».

Справедливости ради, следует отметить, что точно так же поступают и применительно к общепринятому – выбирают «соответствующее» и отбрасывают все остальное как «недостоверное», «сырое», «методически сомнительное» и т. д. Но если для общепринятого такое воспринимается, оправдывается (и даже считается правильным), то новому тут же, «не глядя», навешиваются ярлыки дискредитирующе-уничижительные – «подтасовка», «предвзятость», «методическая некорректность», «произвольная выборка», «манипулирование данными» и т. д. Навешиваются не потому, что новое детально проверили, нашли и указали несоответствия, выслушали возражения и опровергли их. А только потому, что новое не соответствует общепринятому. И чем больше новое отличается от общепринятого, тем жестче, громче, категоричнее звучат отрицания, неприятие, раздражение. Так что грань между «аргументацией» и «предвзятостью» обычно весьма условна. И «что есть что» в реальной жизни становится понятным только через какое-то время, когда возражения, дискуссии, проверки и т. д. расставят все по своим местам. Да и то не всегда и всегда только на какой-то интервал времени, соответствующий определенному состоянию науки. Ибо очень часто со временем устоявшиеся представления меняются радикально, а концептуальные – с точностью до наоборот. И так – всегда и во всем, постоянно и неизбежно как естественный и единственно возможный процесс познания. Новое всегда заставляет посмотреть на старое «по-новому». Наука – она дама непостоянная и с юмором.

Не будем отступать от традиции. Начнем с начала. Выберем из океана литературы, посвященной микроценозам (и не только микроценозам, но разным «макро-» тоже), ту феноменологию, которая, будучи общепризнанной, тем не менее, в общепризнанные представления категорически не вписывается и с ними – общепризнанными представлениями – спокойно сосуществует только потому, что надо закрывать амбразуру непонятого. Выберем такие данные и проанализируем на соответствие и несоответствие общепринятым представлениям. И уже затем совместим это все с собственными экспериментальными данными и попробуем сформулировать иное по отношению к «общепринятому» новое и крайне необычное представление. Конечно, согласятся с таковым не все, не сразу и не полностью. Так и должно быть. Критиковать всегда легче, а для отрицания, несогласия, неприятия не нужны даже аргументы. Достаточно даже категоричности типа «нет – и все!». Или даже еще радикальнее, по Станиславскому – «не верю!» Поэтому мы приглашаем к дискуссии – «истина рождается в споре». А «нет – и все!», «не верю!» и тому подобное, по сути, уже есть признак сомнений, уход от аргументации. Почему «нет – и все!»? Почему «не верю!»? Почему? Почему «нет», «не» и т. д. вместо обоснования такой негативной позиции? Приведите свои несогласия и тогда станет понятным, что есть «нет», а что есть «да». Итак...

Формулировка проблемы и области анализа.

Основой современной биологии является клеточная теория живого. Здесь нет смысла ссылаться на литературу – достаточно раскрыть любой учебник по общей биологии. Ее сутью (в виде сверхсжатой формулировки) является положение о том, что минимальной, последней неделимой единицей живого является клетка. И все живое состоит из клеток. Не только, конечно. Имеются еще и внеклеточные и неклеточные компоненты. Но хотя они и составляют живое как целое, сами живыми не являются. А клетки, составляя живое как целое, в своей индивидуальности живые. Со времени формулировки в 1838–1839 годах Шлейденом и Шванном клеточной теории жизни и (через 20 лет) формулировки Вирховым ее интегральной парадигмы – «клетка от клетки» все это получило бесчисленные подтверж-

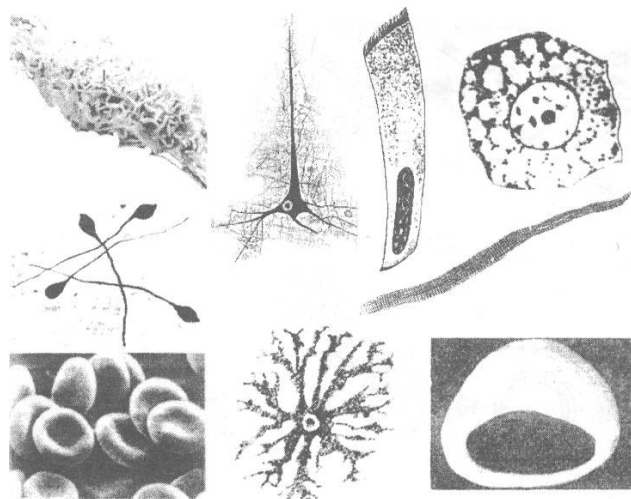


Рис. 1. Виды клеток человека (без соблюдения масштаба) [1]

дения, собрало воедино разрозненные исследования о живом мире и превратило их в концептуально стройную, внутренне не противоречивую целостную науку – биологию. Никто не мог дать определения (принимаемого всеми и выдержавшего проверку временем), что такое «жизнь» (как предмет биологии) в общем виде. Но то, что все живое (и только живое) имеет клеточное строение, концептуально объединяло все «такое» в «живое» и отделяло его от «неживого». Постепенно клетки (в процессе их изучения) по своему строению, размерам, составу, функциям и т. п. превратились в нечто «Вавилонское». Чтобы это стало очевидным, достаточно сравнить клетку нервную (например человека), мышечную (любого млекопитающего), столбчатой паренхимы (какого-нибудь цветкового растения), мицелия гриба, ацетобулярию, хламидомонас, кишечную палочку, любую микоплазму (рис. 1). Размеры будут различаться в тысячи раз, объемы – в миллионы, а в крайних пределах – даже в миллиарды, форма – больше чем космическая станция по отношению к наперстку и т. д. Но при всем этом все понимают, что такое клетка, так как вкладывают в представление о ней, кроме ее структуры, и функциональные понятия (размножение, метаболизм, взаимодействия и т. д.). А сама клетка (любая), что, пожалуй, наиболее существенно, имеет некий консенсус и структуры, и базовых функций, которые универсальны для каждой независимо от ее принадлежности, происхождения, размеров, формы, функции, поведения и т. д. [2, 3].

Концепция же клеточного строения настолько важна, что любые высказываемые сомнения и отмечаемые противоречия отменяются без обсуждения. Хотя реальные несоответствия обнаружили очень скоро. И были они яркими, очевидными, непровергаемыми. И высказывали их не изредка, не вскользь. И возражали видные, как сказали бы сегодня, ученые «с мировым именем», во главе которых в этой дискуссии стоял в 50-е годы позапрошлого века Гексли [4]. И тем не менее, эта фронтальная атака на клеточную теорию захлебнулась и, фактически, предана полному забвению. Ее отметили так же, как и возникавшие в дальнейшем (фактически, все время) несогласия и сомнения. Отмели потому, что даже в общей форме они недопустимы и препятствуют общему продвижению вперед. Этому способствовала особенность возражений и несогласий. Они носили отрицающий характер, ничего равнозначного (даже отдаленно) не предлагая взамен. Это было желание «разрушить до основания» без какого бы то ни было предложения «а затем». И потому уж если что-то выходящее за рамки концепции и существует, то даже при отсутствии на него запрета изучаться оно может только «как таковое», в виде исключения, особого случая, некоего частного состояния и т. п. А вот рассматриваться и приниматься во внимание как противоречащее клеточной теории живого не должно и не может. Строго говоря, это было правильно – амбразуры неизвестного надо закрывать любой ценой, иначе продвижение вперед станет принципиально невозможным. Но время шло, развитие биологии успешно продолжалось, материал (самый разный) накапливался и начались «идейные шатания». Попробуем систематизировать все это (без строгого сохранения временной последовательности открытий) и ограничить дальнейший анализ проблемы только определенной ее областью. А в области этой почти исключительно ограничимся лишь определенной частью живого мира.

При всей общности и взаимоконвертируемости живого в нем, живом, имеется очень четкая граница, которая делит его, живое, на два особых мира – эукариоты и прокариоты. Современное состояние представлений об эволюции и систематике (закладываемых в концепции филогении) при всей их

«эпохальности», «всеобщности», «глобальности» и т. д. является не более чем этапом формирования картины мира живого в пространстве и времени. Все мнения о таксонах – от вида до царств – вызывают дискуссии, меняются со временем и в каждый данный момент основываются, скорее, на условностях (согласии большинства, высказываниях авторитетов, признанных «законодателей мод», удобстве пользования и т. д.), чем на необходимом и достаточном объеме экспериментального материала, способном изменить ситуацию и воссоздать единую реальную теорию мира живого. Но два мира живого – реальность, которая уже подтверждена как объективность и достаточным экспериментальным материалом, и всеобщим согласием. Реальность, выдержавшая проверку временем. И можно было бы не обсуждать особенности этих «миров», так как разобраны и проанализированы они досконально. Тем не менее, для последующего анализа микроценозов сформулируем некие «особые особенности» – то, что в дальнейшем будет необходимо для обоснования новых представлений о микромире живого.

Такой «особенной особенностью» является фундаментальное различие в пространственном взаиморасположении и организационном построении носителя информации – ДНК – и молекулярного инструментария, материализующегося с этой информацией (в виде синтезируемых макромолекул белка), который определяет, выполняет, реализует, проявляет и т. д. все свойства живого. У эукариотов носитель информации – геном – расположен обособленно, пространственно вынесен, надежно и в высочайшей степени совершенно отделен от системы биосинтеза белка на рибосомах и функционирования ими синтезируемого. От всех метаболических циклов и их регуляции. И даже непосредственные молекулярные инструменты обслуживания носителя информации (полимеразы, ферменты репарации, гистоны и т. д.) поступают к месту своего функционирования только по «специальному разрешению» – через специализированные, имеющиеся только в ядерной мембране поры, согласно особому коду сигнальных (лидерных) пептидов. Конструктивно это осуществляется за счет размещения носителя информации в специальном компарт-

менте – ядре, организованном не менее сложно, чем вся остальная клетка. Со своим особым содержанием – информацией на «все», записанной на своем особом носителе – ДНК, чего нет во всей остальной клетке. Со своей мембраной, отделяющей содержимое ядра от всего остального содержимого клетки; своими каналами и пропускными механизмами, строго селективно обеспечивающими экспорт из остальной части клетки в ядро и импорт из ядра в остальную часть клетки; своей внутренней организацией, аналога которой вообще нет в цитоплазме, – остальной, внеядерной части клетки (thusagricola.typepad.com/.shared/image.html?/photos/uncategorized/2008/10/10/eukaryote.jpg) [5].

И только при удвоении ядра, которое происходит внутри клетки как особый, в высочайшей степени независимый (хотя и обеспечиваемый функциями цитоплазмы) процесс, ядерная оболочка на очень короткое время исчезает. А затем опять формируется, отделяя пространственно, позиционно, структурно и организационно информацию, записанную на носителе – ДНК – и систему непосредственного ее обслуживания от всей остальной клетки. Имеются еще и удивительные по своей рудиментарной, подобной ядру структуре, тоже пространственно обособленные ДНК-содержащие образования – митохондрии и, там где они присутствуют, хлоропласты.

Совершенно иначе все организовано у прокариотов. Барьер, отделяющий, ограничивающий, защищающий, совмещающий и т. д. молекулярные построения и процессы (жизнь клетки) от окружающего мира, имеется только один – клеточная мембрана. За ней (уже с внешней по отношению к мембране стороне) могут быть дополнительные редуты защиты – клеточная стенка, капсула. Но они расположены вокруг и вне того единого, что находится внутри пространства, ограниченного мембраной. А в этом пространстве между носителем информации, системами его обслуживания, реализацией (материализацией) информации в макромолекулы и их функционированием никаких пространственных, структурно организованных препятствий нет (рис. 2). Конечно же, все содержимое клетки прокариотов не является хаотической смесью. Конечно же, все функционирует так, чтобы пространствен-

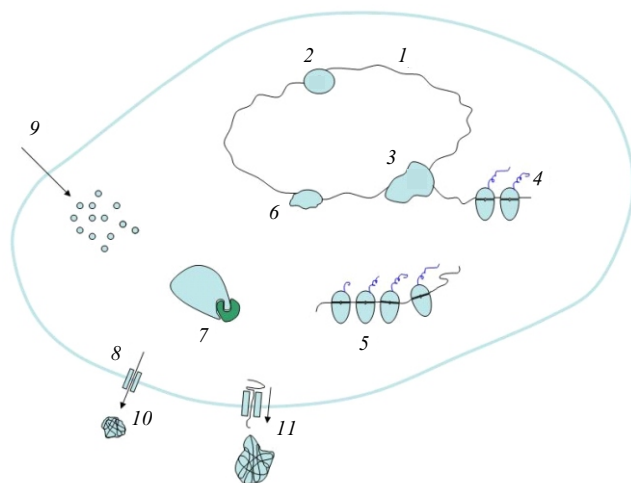


Рис. 2. Клетка прокариотов: 1 – нуклеоид; 2 – ДНК-полимераза; 3 – РНК-полимераза; 4 – трансляция, следующая непосредственно за транскрипцией; 5 – трансляция в цитоплазме, не совмещенная с транскрипцией; 6 – белки репарации; 7 – ферменты; 8 – структурные белки; 9 – поступление веществ в клетку извне; 10 – общий вывод продуктов из клетки; 11 – специализированный вывод из клетки с участием лидерных пептидов

но не возникали взаимопомехи (как – это уже другой вопрос). И благодаря исключительно высокой взаимопомехоустойчивости такая пространственная организация клеток прокариотов обеспечивает высокую степень совместимости всех процессов. Совместимость не только функциональную, но, что принципиально важно, и пространственную взаимосвязь. Именно пространственно-функциональная взаимосвязь обеспечивает у прокариотов высочайшую скорость регуляции метаболических реакций, переключений программ, их реализации и т. д. В результате достигаются и теоретически, и практически предельно возможная взаимная динамичность и все формы «взаимо-» (недостижимые у эукариотов). Взаимо- – без пространственного барьеро-обеспечиваемого ядерной мембраной разграничения на информацию и ее обслуживание (ядро) и все остальное (внеядерная часть клетки). Без- и благодаря этому. Это и есть «особая особенность». Такая разница в пространственно-архитектурно-функциональной организации у эу- и прокариотных клеток имеет (косвенно) очень наглядные яркие и четкие «материальные» проявления. Их анализ – предмет самостоятельного обзора и ниже приведен только пример такового. Одна из трех основных составляющих клетки – ее белок-синтезирующий аппарат

на уровне рибосом унифицирован «по мирам» – одна унификация в мире эукариотов, другая унификация – в мире прокариотов. Конечно же, рибосомный синтез в своей основе един у всего живого. И переносчики информации (иРНК) одного «мира» считаются на рибосомах другого. Но сами рибосомы несколько разнятся у про- и эукариотов. Различия же эти удивительно необычные. Отличаясь по составу белков, размерам и т. д., они унифицированы по способности обрабатывать любую иРНК – «конвертируемую информационную валюту» этих двух миров. И такая универсальность информационной конвертации обеспечивается отличающимися между «царствами» и составом белков, и их количеством, и размерами самих рибосом, которые внутри своих «царств» (т. е. у эу- и прокариотов) в высокой степени идентичны. Такое возможно только при двойной взаимной конвертации, поддерживающей как общность всей биосферы, так и общность более частную, отдельно внутри каждого из «миров». Но у эу- степень внутренней («внутрицарственной») консервативности рибосом (аминокислотной последовательности их белков и нуклеотидной – их РНК) несравнимо выше, чем у про-. Мир прокариотов оказывается несоизмеримо более лабилен. За счет иной (чем у эу-) внутренней пространственной организации клетки, ее архитектуры, ее динамики, ее взаимопомехоустойчивости. И при такой несоизмеримо большей лабильности он все равно в высочайшей мере взаимоконвертируем. Удивительные сочетания – несравнимо бóльшая лабильность при фактически полной принципиально возможной и реально реализуемой информационной взаимоконвертируемости. Которая при этом не размывает «миры» (про- и эу-) и не препятствует существованию дискретности индивидуальных форм живого – видов.

Но за все в жизни надо платить. И платой прокариотов стал размер генома – количество информации на клетку. Оно при «свободной» внутренней организации, начиная с какого-то размера, станет нереализуемым. Начиная с каких-то размеров, его считывание, обработка, обслуживание при любой реальной взаимопомехоустойчивости в какой-то момент начнет давать недопустимые информационные и функциональные сбои. Более того. Даже в

пределах, еще принципиально допустимых, приближение к их верхней границе начинает замедлять все процессы «взаимо-», снижать их динамичность, нарушать помехоустойчивость. И верхнее значение таких ограничений определяется абсолютно точно – оно соответствует максимально известному (и уже достаточно по размерам «законсервированному») геному хорошо известных (и высокостабильных, т. е. теперь уже эволюционно «неповоротливых») бактерий. А ограничение информации – это ограничение на диапазон, скорость, эффективность, разнообразие и т. д. реакции клетки на непредсказуемые изменения внешних условий. Любая реакция на них – реализация информации, переключение программ, записана на носителе, которым у всего живого (в том числе и у прокариотов) является ДНК. У прокариотов реакция на изменение внешних условий очень быстрая во времени. У них все – и геном, и его обслуживание, и реализация информации в свойства – совмещены пространственно и расположены в очень небольшом объеме такого пространства. Но информация на возможности реакции при любых изменениях ограничена. Ограничение объема этой информации обусловлено размером генома. Это – фундаментальная основа мира прокариотов. А диапазон изменений в окружении прокариотов широчайший и совершается быстро. Какие же возможности для того, чтобы на такие изменения успеть отреагировать (с учетом жесткого ограничения размеров генома), имеются у прокариотов??

Что есть клетка прокариотов «на самом деле». С позиции консенсуса клетки, любой «типичный» прокариотный объект в нее укладывается. В принципе. Ибо детальный анализ мира прокариотов ведет к размыванию общепринятых представлений. Наиболее ярко это проявляется на уровне генетического материала. Ограниченность размера геномов (вследствие отсутствия особого для них компартмента – ядра) требует жесткой экономии. И она реализуется в «сплошные» гены, т. е. не имеющие экзонно-интронной структуры. На этом фоне выделяются необъяснимые с точки зрения экономии места «пустые» последовательности между генами, лежащие в диапазоне от первых десятых единицы до десятка процентов общей протяженности

нуклеоида (прокариотной хромосомы). То есть абсолютной экономии нет, а экзонно-интронная структура, тем не менее, отсутствует. И «эволюционно», т. е. в том плане, что прокариоты – это ранние, первые формы возникшей жизни на Земле, вследствие чего экзонно-интронная структура у них возникнуть не могла (она – достояние совершенных многоклеточных), объяснить такое невозможно. Общее время эволюции прокариотов составляет приблизительно 4 млрд лет, т. е. «полный срок» существования жизни на нашей планете. При скорости изменчивости прокариотов у них, если бы это было важно для их существования, не то что экзоны и интроны, а «рога и копыта» появились бы, на уровне клетки, конечно (что морфология «редких форм» и подтверждает). Да плюс еще возможности горизонтального переноса генетической информации, существование которого уже ни у кого не вызывает сомнений. И если такой структуры в геноме прокариотов нет, то только потому, что она им не нужна, не соответствует их потребностям. На этом фоне очень показательны наличие у прокариотов особых мобильных элементов, относящихся к интронам II группы, т. е. распространяющихся через ретротранспозицию [6]. Наличие мобильных интронов, которые (наряду с другими типами интронов) являются составляющей общего механизма мозаичности генов у эукариотов, очень наглядно показывает, что такая структура генома прокариотам противопоказана. Интроны II типа у эукариотов функционируют только как мобильные элементы. А вот сплайсинга нет. И, мигрируя по геномам, эти элементы выключают функции генов по инсерционному механизму. Сам же размер генома прокариотов – это нечто особое. Особое настолько, что его понятие носит весьма размытый характер. И дело даже не в соотношении самих размеров (или, что более корректно, не только в них).

Разнообразие мира прокариотов невообразимо. По размерам клеток различие может превышать восемь порядков (минимальный размер сведен к 0,2 мкм в диаметре, так как он не может быть ниже этой величины, максимальный же зарегистрирован у гигантской серобактерии, длина которой достигает 0,5 мм, а диаметр – примерно всего лишь в десять раз меньше, т. е. приблизительно 50 мкм). По ха-

рактору питания – от полных автотрофов (фотоили хемо-) до облигатных паразитов. По условиям температурного диапазона, в котором идет полноценное существование (метаболизм, мультипликация), – от -20°C в микрizonaх насыщенного солевого рассола линз во льдах Антарктиды до $+350^{\circ}\text{C}$ (что вообще выходит за пределы наших представлений о стабильности ДНК, РНК и белков) на дне океанов в зоне «черных курильщиков». По отношению к радиации – от нескольких рентген, при которых начинает возникать нестабильность генома, до миллиона рентген у обитателей первичного контура водяного охлаждения ядерных реакторов. По чувствительности к химическим соединениям – от роста в дистиллированной воде до существования во всех видах загрязнений (продуктами органической химии, тяжелыми металлами, угольных отвалов и т. д.). При этом размер геномов у крайних форм – от самых больших до абсолютно минимальных различается всего-то несколько более, чем на один порядок (в пересчете на «гаплоидный набор» – один нуклеоид). Он составляет немного больше 3 млн п. н. у самых «совершенных» бактерий. А для простейшей клетки теоретически рассчитано минимальное количество, необходимое для жизни, в виде величины чуть выше 300 тыс. у самых примитивных паразитических микоплазм. Хотя у двойного (!) симбионта (симбиотической бактерии насекомых, в которой, в свою очередь, живет «симбионт второй производной» – симбионт симбионта) обнаружен геном размером всего 159662 п. н., кодирующий 182 белка [7].

Но здесь, фактически, уже теряется грань между тем, что можно еще назвать клеткой, и тем, что уже превратилось (или превращается) в органеллу. И это при том, что в мире эукариотов размеры геномов могут различаться в пересчете на гаплоидный на пять порядков, перекрываясь в крайних значениях между «мирами» [8]. В свою очередь, внутри крупных фил эукариотов диапазон (теперь уже не в абсолютных, а соотносительных значениях) содержания ДНК тоже несоизмеримо шире, чем у прокариотов. Так, у покрытосеменных растений (2с) оно колеблется от 0,5 до 170 пг на ядро [9]. А у позвоночных животных – от 0,4–0,5 [10] до нескольких

сотен пикограммов. В общем виде это представлено на диаграмме в работе Грегори [8].

Но самым удивительным является то, к чему уже давно привыкли и на что не обращают особого внимания. По своей сути оно представляет собой понятие, которое категорически будет отвергнуто в том определении, которое фактически ему надо дать, а именно – «транзиторно-совмещенные геномы». Совмещенные потому, что они существуют в одной и той же клетке как самостоятельные генетические структуры. А транзиторно потому, что могут присутствовать, а могут и отсутствовать. При этом клетка остается клеткой, ее жизнеспособность не нарушается, а комплекс свойств при анализе фенотипа меняется. И меняется даже не по отдельным проявлениям, т. е. количественно, а радикально, переводя клетку из одной формы существования в другую. Но при этом строго предсказуемую, экологически определенную. Пожалуй, наиболее ярким примером здесь могут служить некоторые клубеньковые бактерии. Так, у *Sinorhizobium meliloti* при очень крупном (фактически предельном) для прокариотов нуклеоиде – 3650 тыс. п. н. – присутствуют две мегаплазмиды: одна размером 1350, вторая – 1700 тыс. п. н. Без этих плазмид клубеньковые бактерии люцерны вполне успешно растут в почве как обычные, типичные сапрофиты. Но ни фиксировать азот, ни образовывать клубеньки за счет информации только нуклеоида они не могут [11]. Размеры каждой из этих плазмид существенно превышают размеры геномов многих бактерий (не говоря уже о микоплазмах). В сумме две такие плазмиды почти достигают величины клеточного нуклеоида хозяйской клетки. И можно было бы считать их просто хромосомами (нуклеоидами), которых у данной клетки три. Но в отличие от хромосом эти генетические детерминанты могут и отсутствовать без потери клеткой жизнеспособности. Только вот по форме существования при наличии этих двух плазмид такие клетки настолько меняют свои свойства, что их к данному виду (исходному, без плазмид) уже и не соотнести. У них и жизненный статус становится иной – они образуют клубеньки, приобретают способность превращаться в эндофиты, фиксируют азот атмосферы.

А вот не менее яркий другой пример. В роде *Agrobacterium* имеются три вида: *A. radiobacter*, *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes* (иногда указывают еще и *A. rubi*, но, скорее всего, это тот же *A. tumefaciens*). Первый вид – типичный сапрофит, нормально обитающий в почве. Второй (как и *A. rubi*) – необычный растительный патоген, вызывающий у двудольных особый вид опухолей надземной части стволов, веток, черешков листьев – корончатые галлы. Третий – тоже патоген, но приводит к очень необычному «поражению» корней и не в виде опухолей на них, а в виде их (корней) чрезмерного разрастания, появления массы новых, дополнительных – «косматых корней». Таким образом, каждый вид данного рода имеет очень четкие различия. Но в своей основе все три вида имеют один и тот же геном. Отвечает он за обычное сапрофитное существование бактерии. Патогенные же свойства обуславливают плазмиды: корончатые галлы – *Ti*, а косматый корень – *Tr*. И в результате радикально меняется статус бактерий. Определяют же этот статус (т. е. то, чем является клетка «на самом деле») не хромосомы, а плазмиды, т. е. транзиторные генетические детерминанты. Только по размерам эти транзиторные генетические элементы соотносятся с геномами «типичных» прокариотов, а для многих (скорее, даже при сравнении с подавляющим большинством прокариотов) – существенно большие. И все они совмещены в одной и той же исходной клетке, выполняя в ней все (соответственно содержащейся в них информации) необходимые функции. Справедливости ради следует отметить, что и у эукариотов имеются плазмиды. Но там они по своим размерам несоизмеримы с геномом. А ДНК-содержащие органеллы (митохондрии, хлоропласты), кроме того, еще и как рудимент симбиогенеза находятся внутри собственных компартментов, отделенных от остального клеточного содержимого мембраной, т. е. пространственно разделены, разнесены, отгорожены.

В мире же прокариотов – все такие генетические детерминанты пространственно, как и нуклеоид, во всех отношениях наравне с ним совмещены с системами обслуживания и реализации информации. Само же совмещение может носить характер как автономных, т. е. самостоятельно существую-

щих, «выделенных» структур (плазмиды), так и интегрированных в нуклеоид за счет рекомбинационных событий (эписомы, умеренные фаги, транспозоны и т. д.).

Таким образом, для мира прокариотов транзиторное совмещение с «постоянным» геномом – нуклеоидом – горизонтально переносимых генетических детерминант любого размера является нормой существования. И это удивительным образом закреплено, регламентировано особым статусом геномов про- и эу-. Не только структурно, не только функционально, а неким более общим принципом. Все прокариоты независимо от таксономической принадлежности, уровня организации, размеров и т. д. на гаплоидный геном имеют только один репликон. Один на весь нуклеоид независимо от его размера. А геномы всех эукариотов в каждой хромосоме содержат много репликонов. И все они функционируют. И все они между собой совместимы, в том смысле, что не мешают один другому. А репликоны разных плазмид прокариотов между собой совместимы далеко не всегда. Но и плазмиды имеют тоже только по одному репликону. В тех же случаях, когда плазмиды полностью интегрируют в нуклеоид (эписомы, умеренные фаги), их репликон функционально выключается. Сам же нуклеоид у прокариотов кольцевой, а хромосомы эукариотов – линейные. И это функциональное свойство тоже не «эволюционное», так как в ряде случаев у про- имеются линейные плазмиды размеров нуклеоида микоплазм [13]. А вот линейных нуклеоидов (бактериальных хромосом) у прокариотов нет.

Очень интересна особенность репликонов прокариотов. Репликон нуклеоида и репликоны плазмид разные. По критерию репликона можно оценивать статус в клетке мигрирующей информации. «Свой» репликон как таковой всегда остается в клетке и без него клетка нежизнеспособна. Другое дело, что весь (или часть) нуклеоид вместе с репликоном может передаваться при конъюгации. Но в клетке «своей» (доноре при конъюгации) он тоже остается. Плазмиды же переносятся со своими репликонами, если сохраняют свойства автономных детерминант (а не интегрируют фрагментарно в другие). Следующей особенностью мира прокариотов является то, что условно можно назвать «раз-

мытостью клеточного консенсуса». Классически, «типичными» клетками прокариотов, строго говоря, являются только те, которые растут в культурах или хорошо прослеживаются после внесения в природные субстраты. Они не только обладают полным клеточным консенсусом, но часто несут и дополнительные типично клеточные «аксессуары» – клеточную стенку, капсулу, жгутики, пили и т. д. И никаких вопросов или сомнений в их истинно клеточном статусе не возникает. Это именно то, что можно утверждать категорически – «прокариоты – тоже клетки». Нерастущие в лаборатории объекты при прямых наблюдениях идентифицируют в природных субстратах как клетки уже только «по аналогии», на основании их формы и размеров. Или вообще, не видя их, а только «по гомологии» – степени гибридизуемости с зондами (или по ПЦР с праймерами суммарно выделенной из субстрата ДНК – некоего обобщенного пула того, что выделяется «общеизвестными методами»).

Сегодня это стало общепринятым, распространенным и получило (тоже общепринятое) название – метагеном [14]. Но даже у абсолютно «добропорядочных» клеток при изменении условий культивирования начинают возникать очень подозрительные флуктуации состояний. По-видимому, первой такой обнаруженной флуктуацией стали *L*-формы. Клетки с четкой (и достаточно жесткой) конфигурацией и дополнительными клеточными аксессуарами при определенных условиях переходили во что-то морфологически неопределенное, лабильное. Оболочка, жгутики, капсула исчезали, содержимое отделялось от внешней среды только мембраной, строгие формы исчезали, все меняло свои очертания, размеры. Минимум консенсуса у клетки еще оставался, но с прежним организмом – исходной клеткой – сходства уже никакого не было. Можно было подумать, что при переходе в *L*-форму теряется часть генома. Но опять же в определенных условиях *L*-формы способны были восстанавливать прежние очертания. И что, возможно, особо интересно, восстановление проходило не прямо, непосредственно, а через высокополиморфную стадию. Еще более необычными были так называемые фильтрующиеся формы. Следует отметить, что этот термин претерпел (с момента первых

работ по фильтрующимся формам до наших дней) смену понятий. В ранних работах (в основном они выполнены в 50-е годы прошлого столетия) под фильтрующимися формами понимали биологические объекты, которые возникали (сами или под действием жестких внешних воздействий) в чистых культурах бактерий и не могли иметь клеточного консенсуса. Хотя тогда такого термина и не было. Но их размеры – меньше оцениваемых сегодня как абсолютно минимальные (0,2 мкм в диаметре) – о том свидетельствовали. Фильтрующиеся формы проходили через все фильтры, надежно задерживающие самые мелкие клетки. Кроме того, такие образования сами в питательных средах не могли поддерживаться в культуре (в отличие от *L*-форм) в виде фильтрующихся форм. Они или вообще не росли, или при достаточно сложных методических ухищрениях начинали медленно восстанавливаться и проходя стадию, внешне похожую на *L*-формы, а затем образуя крайне сложную смесь полиморфных клеток, большая часть которых вообще не была похожей на исходную культуру и никогда уже к ней не возвращалась, давали стабильные (теперь уже «классические») клетки [15, 16]. Таким образом, если исходить из фенотипа, то геномы регенерантов заметно отличались. В последние же годы под фильтрующимися формами понимают все то, что «классически» относят к живому (фигурирующему под различными терминами, но с приставкой «нано-»), получаемому при фильтровании через бактериальные фильтры (чаще всего с порами 0,2 мкм) различных природных субстратов – воды, почвенных болтушек, биологических жидкостей и т. д. Через такие поры могут проходить клетки без жесткой оболочки, такие как *L*-формы, микоплазмы. Но в ряде работ по структуре бактерий (как современных, так и, особенно, ранних) на ультрамикроскопическом уровне видно, как от клеток отпочковываются везикулы или внутри клетки формируются четкие структурные образования, которые могут содержать (исходя из их размеров) только часть бактериального нуклеоида (рис. 3) [17]. Такие образования, как можно думать, и являются фильтрующимися формами в их первичном понимании (в ранних работах). При соответствующем контрастировании в них идентифицировали

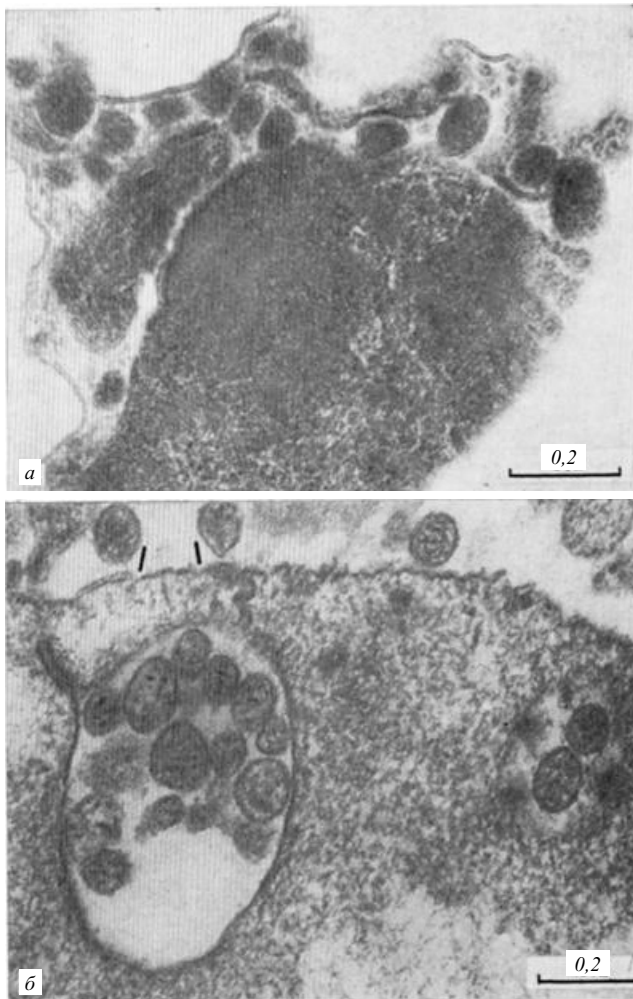


Рис. 3. «Элементарные тела на поверхности и внутри клетки: *a* – культура нестабильных *L*-форм *Br. abortus* L-870 (элементарные тела образуют ореол вокруг клетки, ограниченный остатком наружной мембраны); *б* – культура стабильных *L*-форм *L. monocytogenes* L-1472 (элементарные тела формируются непосредственно в цитоплазме (справа) или внутри вакуоли (слева). Их выход из клетки происходит через мелкие дефекты в мембране (показано стрелками). Многие элементарные тела имеют четко очерченную мембрану, но нуклеоид часто не выявляется. 100 000» [17]

содержание материала, определяемого как ДНК (рис. 4) [17]. Но по своим размерам (и внутренней структуре) такие образования способны вместить только часть генома бактерии, какой-то его фрагмент. Только объединяясь, они могут формировать минимально достаточные геномы с потерей их частей или с добавлением дополнительных фрагментов, что и обусловит при регенерации наблюдающуюся в ранних работах высокую полиморфность. А регистрируемые по фотографиям электронной



Рис. 4. «Структура элементарных тел. Культура стабильных *L*-форм *Str. Pyogenes* L-406. Даже мелкие элементарные тела имеют хорошо выраженный нуклеоид. 180 000» [17]

микроскопии картины действительно очень похожи на слияние мелких телец в общую крупную сферу, которая и по форме, и по размерам, и по составу (раз она образовалась из мелких производных клеток) становится неотличимой от «классической» клетки (рис. 5) [17]. Принципиальная особенность подобных допущений заключается в том, что приходится постулировать фрагментацию генома с сохранением на какое-то время частей клетки с ним (т. е. частями генома), а затем возможность слияний, объединений, рекомбинаций и восстановления уже в иных сочетаниях и порядке расположения. Насколько такое реально? И есть ли какие-нибудь аналоги таковому в уже известном и общепринятом сегодня?

Здесь мы выходим на следующую особенность мира прокариотов – переход от подвижности генома к его динамичности и, в крайних проявлениях, неоднозначности (фактически – неопределеннос-

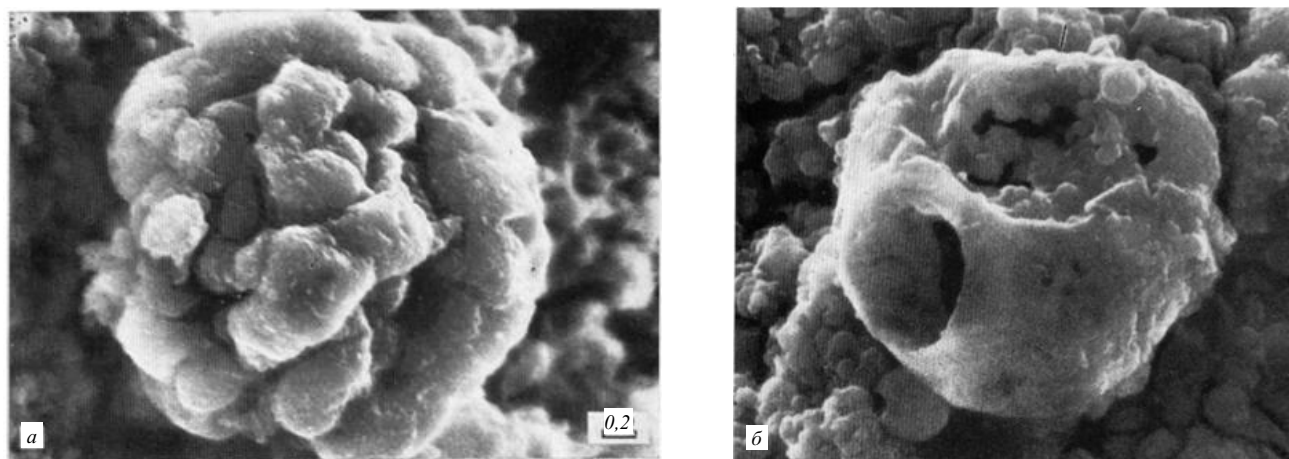


Рис. 5. Образование шаровидного и большого тела в результате слипания или слияния более мелких клеток: *a* – стабильные *L*-формы *Pr. vulgaris* L-4636; *б* – стабильные формы *Str. pyogenes* L-406. x10 000 [17]

ти). Термин «непостоянство генома» впервые ввел Хесин еще в 1984 году [18]. И даже не для прокариотов, а для эукариотов (да еще их высших представителей). И хотя в то время речь шла только о подвижных элементах генома, термин «непостоянство» предопределял явление как некое общее, допускающее любые масштабы событий. Именно такое, «любой масштаб событий», имеет место в мире прокариотов. Даже канонические сегодня пути и масштабы генетических обменов здесь исключительно велики: контролируемая трансформация свободной ДНК (в лаборатории), умеренные фаги, плазмиды всех размеров (включая и соизмеримые с нуклеоидом), конъюгативные переносы в любых гетеротаксонных сочетаниях (вплоть до прокариоты эукариоты), выделение–поглощение свободной ДНК (трансформация в природных субстратах), объединяющие все геномы всех прокариотов транспозоны, IS-элементы, интроны II типа и т. д. К категории «и т. д.» можно отнести направленное вырезание участков нуклеоида или даже полное фрагментирование геномов и их переносимые специализированные транспортные формы. Во всем «комплексе» этот вид генетических обменов лежит в широком масштабе – от включения отдельных генов в умеренные фаги до полной фрагментации генома с включением фрагментов (любых, вплоть до содержащегося во фрагментах полного генома во всех возможных сочетаниях) в псевдовирioны. Вначале такое было обнаружено у фага P1. А в предельном варианте этот тип обменов представлен в

виде наличия в геноме «упаковочных материалов» (вообще без фагового генома, обеспечивающего существование фагов как отдельных самостоятельных дискретных детерминант), осуществляющих упаковку программно-фрагментированного нуклеоида клетки в фагоподобные (но без фагового генома) корпускулы, переносимые на любые расстояния. А на примере хорошо изученной *Escherichia coli* показано, что при всей стабильности абсолютно порядочной в этом отношении бактерии существует в общем постоянный обширный консенсус генов, некая «сердцевина» генома, (обнаруженная у исследованных штаммов), и значительная часть генетической информации, различающаяся у разных штаммов, поскольку она приобретена вследствие горизонтального переноса [19]. И уже в силу ее варьирования у разных штаммов она является высокодинамичной частью наследственного аппарата, составляющей «генома *E. coli*», т. е. нуклеоида. Если же говорить о дополнительном и автономном объеме такого транзиторного генетического материала, то, как показано выше на примере клубеньковых бактерий люцерны, он может быть почти равен объему нуклеоида этой бактерии (вместе со всей прокачиваемой через нее, но уже интегрированной, горизонтально перенесенной ДНК). И тогда его полная генетическая емкость (нуклеоид плюс плазмиды) достигает объема геномов различных низших эукариотов, в частности дрожжей [11], т. е. хоть и «низших» (по представлениям таксономии), но весьма сложно организованных и выделяе-

мых в особое «царство» эукариотов – грибы. И это все – лишь небольшая часть изученного в лаборатории на известных, культивируемых бактериях. Не на всех культивируемых, а только на их ничтожной части – «модельных объектах».

А в природе все куда обширнее и при существующих методах исследования плохо или даже совсем не выявляемо [12]. Ну, например, в геномах ряда бактерий имеются весьма большого размера собранные вместе функциональные блоки («островки патогенности», кластер генов азотфиксации и т. д.). Они мигрируют между клетками, радикально меняя их свойства. Скорее всего, «по потребности», когда таковая у клеток, их не имеющих, возникает. И подобного по мере изучения мира прокариотов обнаруживается все больше и больше. Как вывод: *de facto* начинает формироваться обширный массив строгих экспериментальных данных, показывающих, что и клетка как структурная минимальная единица живого, и геном как информация на единый, прогнозируемый в разных условиях фенотип, в мире прокариотов и адаптивно, и конститутивно непостоянны, высокодинамичны и, за исключением крайних случаев, статистические, таксономически неопределенные. А теперь уже с этих позиций проанализируем особенности существования прокариотов в естественных микроценозах.

Особенности существования микробиоты в микроценозах. Проведенная нами визуализация архитектуры микроценозов в естественных субстратах показала высокую степень неравномерности распределения в них микробиоты по всем возможным показателям: по плотности, компактности, рассеянности, различию форм клеток и их составу, сочетанию разных форм, их взаимному расположению, степени гетерогенности распределения и т. д. И это все – в «однотипном» субстрате (на примере почвы). Пожалуй, наиболее ярко такое проявляется в реальном микромасштабе – пространстве, каждая ось которого соответствует 10–20 мкм, т. е. соизмерима с размерами разной степени компактности зон распределения микробиоты. Микроценозы по всем своим параметрам в высокой мере микрогетерогенны (рис. 6). Такая гетерогенность наиболее логично и убедительно может быть объяснена только как следствие столь же высокой локальной

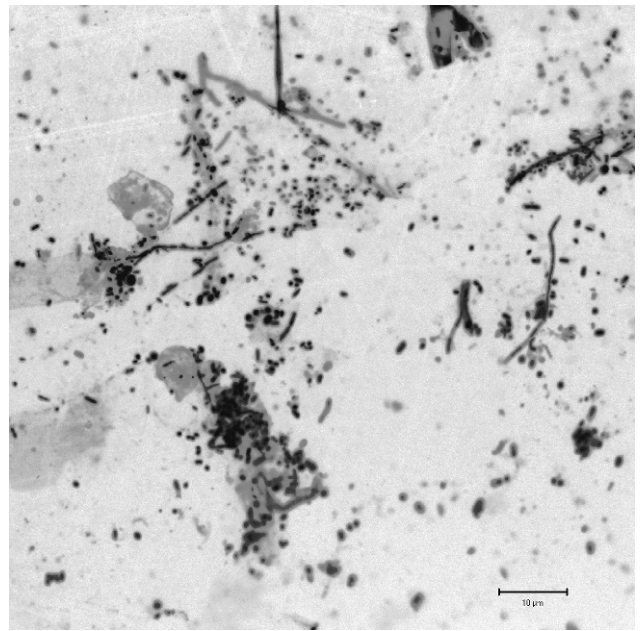


Рис. 6. Почвенный микроценоз, окраска акридиновым оранжевым, конфокальная микроскопия

микрогетерогенности внешних по отношению к клеткам условий. Размеры микрогетерогенности условий соизмеримы с таковыми микрогетерогенности микроценозов и определяют размер микрозон микробиоты. А интенсивность метаболизма микроорганизмов (дополнительно «изнутри» быстро меняющая условия окружения) в сочетании с физической гетерогенностью, внешней по отношению к таким микроценозам, в свою очередь будет обеспечивать весь теоретически возможный диапазон динамичности как общий, так и локальный. Но для этого динамичность условий в микропространстве должна быть соизмерима с величиной однотипных по размерам микрозон микробиоты.

На первый взгляд, предположение о высочайшей микрогетерогенности условий и ее динамичности не применимы к природным субстратам и могут вызвать удивление. Почва (как пример) – весьма стабильный субстрат (если ее не пахать, не копать, не перемещать бульдозерами и т. д.). Ее естественная «самоперемещаемость» кажется практически невозможной. Структура почвы максимально препятствует всем динамическим процессам и т. д. Так где же гетерогенность, динамичность и прочие нестабильности? В макромасштабе это, конечно же, так и есть. Другая картина будет иметь место в микромасштабе. Проанализируем это. Нач-

нем с естественных колебаний. Сезонные, суточные, погодные – это и колебания температуры, и потоки воды на всю глубину и гетерогенность потоков с растворенными в них веществам по гетерогенной поверхности агрегатов почвы. Они, вроде бы, медленные – сезонные, суточные. Но, как минимум, все динамические процессы, связанные с дождями, мокрым снегом, суховеем и т. д., будут очень быстро (от минут в случае потоков дождя до нескольких суток в случае жаркого солнца и сухого ветра) приводить к изменению вследствие этого объемов микролокальных участков и состава, концентрации в них различных веществ. Их ссыханию, сжатию, набуханию и т. д., механической подвижности, которые для разных микрзон (в силу их субстратной микронеоднородности, различной механической прочности, плотности или рыхлости, составу и т. д.) окажутся в высокой степени гетерогенными. Это – проекция на развиваемые представления классики. Далее идет то, на что пока внимания не обращают. Его в общем виде можно было бы назвать «локальными флуктуациями». А принципиальной особенностью всех этих локальных флуктуаций является то, что даже, казалось бы, ничтожное возмущение надо соотносить с масштабами клеток микроорганизмов. И тогда незначительное для макро- становится значительным для микро-. Сюда можно отнести не статистически общее, а локальное перераспределение жидкости в субстрате при его высыхании или набухании микрзон, приводящее к изменению их объема, микродвижения плотной (но неоднородной по микроструктуре) части субстрата при таком перераспределении, механических «мгновенных» нагрузках, попадании извне различных материалов (остатков животных, растений, их отходов, выделений и т. д.); за счет роста (и его прекращения) разных микроорганизмов (самих по себе или в ответ на вариации внешних условий); изменения скорости метаболизма микробиоты; колебания численности (т. е. появление или исчезновения в конкретных микрizonaх) мелких беспозвоночных, которых всегда в субстратах очень много (личинки насекомых, черви всех рангов – от нематод до земляных червей, ракообразные, каловратки, инфузории и т. д.). Даже их обычное механическое перемещение в субстра-

тах будет «вдруг» и очень сильно изменять и условия, и архитектуру микроценозов.

По мере анализа микрогетерогенности природных субстратов и их динамики начинают появляться не просто новые, а достаточно неожиданные материалы. Так был проведен анализ почвы с позиций составляющих ее наноструктур неживой природы. Он привел к формулировке представлений о существовании особого типа микропотоков, индуцируемых и реализуемых наноструктурами почвы. И не как уникальное явление, а как массовый процесс. А ведь кроме чисто механического перемещения, смещения, сдвигов, потоков, будут куда более специализированные возмущения типа выедания, вытравливания, стимуляции (и не всего подряд, а как-то избирательно в каждом конкретном случае) и все такое прочее. И все эти возмущения в разное время будут происходить в разных сочетаниях все (или частично) вместе, с разной интенсивностью, продолжительностью, направленностью или хаотически. И на все это немедленно микробиоте надо будет реагировать, чтобы сохраниться, выжить, активно просуществовать. Как? Вообще-то подобные анализы, как правило, не проводят, поскольку ответа на вытекающие из них вопросы в рамках существующих представлений нет. Какие же это «общепринятые представления», что они «представляют» и почему не могут дать хоть сколько-нибудь удовлетворительного ответа?

Согласно общепринятым представлениям, существуют два варианта реагирования живого на изменяющиеся внешние условия. Первый вариант – это включение, переключение, выключение, изменение уровней активности, привлечение альтернативности экспрессии (альтернативная транскрипция, проскальзывание оснований, шпилек и т. д.) генов и их комплексов. Это изменение уровней, направленности, активности, сочетаний и т. д. всех посттранскрипционных процессов (альтернативность полиаденилирования, сплайсинга, редактирования, трансляции, рамок считывания и т. д.). Это изменения уровней, направленности, сочетаний, последовательности событий и т. д. всех процессов на уровне белков и пептидов (альтернативность белкового сплайсинга, фолдинга, конформации, фосфорилирования, ацетилирования, деграда-

ции и т. д.). Это весь арсенал сигнальных путей: от изменения состава и количества сигнальных молекул на всех путях сигналинга до доброй старой репрессии–дерепрессии (на их конечных этапах). Суммируя первый вариант, следует отметить, что при всем его исключительном многообразии он результирует лишь то и только то, что заложено, существует, может быть извлечено из предсуществующего арсенала возможностей – информации генома. Первый уровень ответа живого – это весь комплекс возможностей регуляции и адаптации. Но еще раз нужно подчеркнуть – только в рамках предсуществующего генома. Такой ответ по времени может быть реализован во всем его диапазоне – от практически мгновенного до любой длительности (вплоть до пожизненного) как по скорости возникновения, так и по продолжительности существования. Это – «в общем виде». А реально, как следствие того, что все варианты такого ответа вероятны только в объеме информации, записанной в геноме, возможности, диапазон, широта и прочее зависят от объема генома и при любой эффективности не могут быть большими чем то, что объем генома позволяет вместить. Более того. Даже эффективность реализации информации генома тоже зависит от его объема. Для эффективности в том же самом геноме должна быть «квота» его емкости для кодирования молекул всех сигнальных путей – от их синтеза до участков регуляторных зон возле (внутри) генов. Поскольку же объем геномов прокариотов невелик, то и возможностей ответа в его рамках относительно не так уже и много.

Второй вариант реагирования связан с изменением самого генома. Абстрактно-теоретически так может возникнуть любая информация. И за 4 млрд лет эволюции она, «таки да», возникла на всех уровнях организации и почти бесконечного разнообразия – от невероятной, по всем имеющимся представлениям, стабильности белков и нуклеиновых кислот экстремальных термофилов черных курильщиков, для которых оптимум – это 250–350 С (ко всему еще в условиях давления сотен атмосфер), до Разума, которым его носитель так и не научился разумно пользоваться. Только для такого «всего» надо время, абсолютно несоизмеримое с тем, которое необходимо микробиоте для адапта-

ции, реакции, ответа на всенаправленные флуктуации его микроокружения. Это настолько очевидно, что требовало обязательного ответа. Его дают в рамках с очень большим трудом пробившего себе дорогу представления о горизонтальном переносе генетического материала. В принципе, как явление горизонтальный перенос признают и для эукариотов. Даже высших его представителей. Но только в принципе, когда-то и «вообще». Зато для прокариотов это считается и реальным, и ничему не противоречащим и даже «частым» процессом.

Посмотрим же, что это за процессы, какая их частота и скорость, т. е. что реально они могут объяснить из происходящего в микроценозах. Происходящего (согласно генотипу) по фенотипу ответа на макро- и микро- флуктуации условий, по скоростям ответа, которые должны соответствовать скоростям макро- и микрофлуктуаций. И все это с учетом того высочайшего разнообразия структур, форм, функций микробиоты в природных субстратах, которое реально имеет место. Чтобы микроценозы существовали, в них необходимо высокое разнообразие микробиоты, а не какой-то отдельной «чистой культуры». Поэтому реакция на изменение должна не просто «охватывать» всех участников микроценоза, а обеспечивать постоянство максимального микробиоразнообразия. Начнем с анализа тех каналов горизонтального переноса генетического материала, которые известны (и не вызывают ни неприятия, ни опровержений, ни даже сомнений) для мира прокариотов. Вкратце (в виде перечисления) каналы горизонтального переноса наследственной информации у прокариотов уже упоминались выше (при рассмотрении особенностей генома прокариотов). Теперь же необходимо оценить их реальные возможности как механизма, инструмента поддержания микробиоразнообразия микроценозов при флуктуациях внешних условий.

Первым из таких переносов идет трансформация. С нее, строго говоря, берет отсчет молекулярная генетика. Началось все в 1928 г., когда Гриффитс обнаружил нечто настолько необычное и невероятное, что потребовались десятилетия для осознания «Этого». В то время генетика уже сформировалась как наука, но ее представления еще не вышли за рамки феноменологии признаков и их на-

следования. Поэтому обнаружение Гриффитсом возможности передачи свойств (строго конкретных) от одной бактерии другой без прямого контакта через питательную среду казалось каким-то курьезом. И только в конце 40-х годов прошлого столетия Мак Карти и Эвери после целенаправленных многолетних исследований идентифицировали то вещество, которое можно выделить из бактерий, почистить, заложить на хранение, а затем (или сразу) добавить к культуре и вызвать у отдельных составляющих ее клеток появление строго конкретного признака. Так было показано, что материальный носитель наследственности в чистом виде может быть из клеток изолирован, отделен, а затем уже вне всякой связи с клетками, в которых он находился (при выделении), проникать в другие клетки и переносить признаки. Оказалось, что наследственность любого организма (от человека до микоплазмы) может существовать вне этого организма (!), обеспечивая свое проявление как наследственность, попав в организм – другой близкий, а потенциально – любой.

Последующие исследования горизонтального переноса у микроорганизмов шли почти одновременно и широким фронтом. Поэтому хронологию здесь соблюдать уже трудно и дальнейший перечень будет приведен «по логике» тех процессов, которые наполняют явление горизонтального переноса генетического материала как феноменологией, так и механизмами.

Очередным таким процессом переноса информации является конъюгация. Вообще-то конъюгацию вначале рассматривали как половой процесс у бактерий. И в чистом виде так оно и есть. Но много лет спустя после ее обнаружения и детального исследования (вначале только на модели *E. coli*) оказалось, что конъюгация осуществляется между разными, даже очень разнесенными таксономическими объектами. Ну, как пример, – между *E. coli* и представителями порядка *Actinomycetales* [20]. Вплоть до прокариотов и эукариотов [21, 22]. Такая фактически универсальная передача наследственной информации категорически не укладывалась в рамки представлений о половом обмене генетическим материалом. Половой процесс как механизм переноса и одновременно унификации геномов хо-

рошо изучен и надежно экспериментально установлен для эукариотов. Но имеет место он только в совершенно конкретных, определенных пределах – внутри видов. Для поддержания, сохранения видов такой тип переноса и возник. И представить себе половой процесс, например, между жирафом и баобабом невозможно даже на уровне юмора. Исключения были и у эукариотов. Но они носили настолько редкий, специфический и таксономически близкородственный характер, что только подчеркивали правило – скрещиваемость является одним из наиболее надежных критериев вида. Поэтому бактерий с их сексуальными безобразиями сразу же вывели из такого правила, выделив прокариоты в нечто такое, для чего существуют свои особые законы обмена генетическим материалом. При этом возникает неизбежный вопрос о том, что же такое тогда есть вид у прокариотов и как он (даже теоретически) может существовать. Но от такого вопроса отмахивались, как от чего-то очень неприличного, «объясняя» скороговоркой, что перенос не затрагивает основы генома, а существует как некое явление, контролируемое, переносимое отдельные частные признаки (вроде устойчивости к антибиотикам) и так далее. В очередной раз надо было закрывать амбразуру и ее закрыть традиционно. Затем (хотя по времени проведения исследований все развивалось параллельно) обнаружили, что половой процесс у прокариотов вообще определяется не хромосомой, а некими относительно крупными автономными генетическими детерминантами, которые способны к двойному существованию – автономному и интегрированному в хромосому (нуклеоид бактерии). Вначале их обнаружили у *E. coli* и в отличие от других плазмид назвали эписомами. Таким образом, у прокариотов и сам половой процесс тоже относится к категории горизонтально переносимого признака. Звучит это крайне необычно – горизонтальный перенос фертильности за счет полового процесса. Но эписомы несут гены, обуславливающие, организующие, индуцирующие, реализующие конъюгацию, и могут обеспечивать как перенос хромосомы, так и только самих себя, в широком диапазоне не признавая видовых ограничений.

Следующий шаг в познании был уже почти очевиден – возможность конъюгативного переноса

других плазмид (не относящихся к эписомам). В начале их ограничивали только такими, у которых имеются гены, обеспечивающие механизм ко-переноса. Затем выяснилось, что при конъюгации могут переноситься фактически любые иные плазмиды (хотя и с меньшей, иногда очень незначительной частотой). И представления о трансмиссивных и нетрансмиссивных плаزمидмах плавно перешло в вероятностную категорию. Так сформировалось представление, реальное определение которого в литературе отсутствует. А по сути явления сводится оно к тому, что если в мире эукариотов половой процесс как средство обмена генетическим материалом обеспечивает, направлен, предназначен для поддержания, сохранения вида, то в мире прокариотов половой процесс как средство обмена генетическим материалом обеспечивает, направлен, предназначен для его перераспределения между видами. А внутри вида половой процесс как средство (способ, механизм) переноса, перераспределения наследственного материала является не более чем частным случаем такого общего процесса, универсального и унифицированного принципиально, без таксономических ограничений. У эукариотов половой процесс существует для групповой индивидуализации геномов (виды), а у прокариотов – для их информационного обобщения, объединения. И почему при этом сохраняются индивидуальные группы геномов (виды бактерий) – особый вопрос, «амбразурный», который будет обсужден ниже.

Еще более необычной является ситуация, связанная с обширной и крайне гетерогенной группой объектов, объединенных общим термином – бактериофаги. В момент их открытия все казалось простым и абсолютно понятным. Бактериофаги (в дословном переводе – пожиратели бактерий) представлялись своеобразной группой то ли паразитов, то ли хищников, разрушающих клетки тех микроорганизмов, в которые они попадали. Потом, когда начало развиваться представление о вирусах, бактериофаги стали относить к вирусам бактерий. Необычное обнаружилось много десятилетий спустя. Оказалось, что имеется особая группа бактериофагов (их назвали «умеренными»), способных встраиваться в геном бактерии и вести себя как неотъемлемая часть хромосомы, одна из ее составляющих.

И даже защищать такие бактерии от разрушения некоторыми иными бактериофагами. А затем спонтанно (или под действием внешних факторов) выщепляться из хромосомы и разрушать клетку-хозяйина. Но самое необычное было в том, что такие умеренные бактериофаги иногда захватывали близлежащие гены и при последующем встраивании в геном новых клеток переносили в них чужой генетический материал. Явление получило название «трансдукция». Постепенно стало ясно, что трансдукция представляет собой весьма распространенное явление, а трансдуцирующие фаги способны переносить, по-видимому, любые признаки.

Наконец, было обнаружено нечто, которое продолжают называть бактериофагией только по инерции традиций. Выше это отмечалось, но для целостности изложения повторимся. Оказалось, что имеются детерминанты (первым из них был фаг P1), которые, как и умеренные бактериофаги, содержат гены, обуславливающие нуклеоидную интеграцию – выщепление. И поэтому функционируют как умеренные фаги. Но, кроме того, они обеспечивают фрагментирование генома хозяина – нарезание его нуклеоида. А белки капсида производят упаковку в корпускулы этих фрагментов неспецифически, т. е. одинаково успешно как собственно фаговый геном (одни корпускулы), так и фрагменты клеточного нуклеоида (в другие корпускулы). В результате возникает крайне необычная для традиционных представлений ситуация. При индукции таких детерминант образуются белки упаковки ДНК, далее следуют нарезание генома хозяина на отдельные фрагменты и упаковка этих фрагментов в вирусоподобные корпускулы (т. е. внешне – это бактериофаг, но в его капсиде нет вирусной ДНК, вместо нее – близкий по размерам фрагмент генома клетки-хозяйина). Такие корпускулы способны вводить их содержимое в новые клетки, передавая им генетический материал старого хозяина. Упаковывается в корпускулы и ДНК, все это обеспечивающая (т. е. собственно фаговая), в результате чего способность к такой тотальной трансформации (ее по традиции называют «генерализованной трансдукцией») не только поддерживается в локальной популяции, но может и широко распространяться горизонтально.

Наконец, обнаружили детерминанты, которые уже и бактериофагами назвать было нельзя, так как, кроме переноса частей геномов бактерий, они уже ничего не делают. Их назвали «агентами генетического переноса» (gene transfer agent), а само явление – «конститутивной трансдукцией» у прокариотов [23]. Однако в отличие от конъюгативных переносов горизонтальный перенос информации фагами считается ограниченным, поскольку бактериофаги узкоспецифичны. Как правило (по крайней мере, среди известных), они циркулируют даже не внутри вида, а внутри узких популяций, так как для прикрепления к клетке и включения механизмов проникновения содержащегося в них генетического материала (своего или хозяйского) им необходимы конкретные белки на поверхности клетки (выполняющие для фагов функции рецепторов). Только это все – при наших лабораторных методах изучения фагов. Даже выделяя их из природы, мы делаем это стандартно-лабораторно. Но если рецепторы появляются у других клеток, то фаги начинают переносить генетический материал и в них. И что реально происходит в реальных природных субстратах, остается за пределами даже предположений. Возникает естественный вопрос – почему же столь могучий механизм горизонтального переноса с такими неограниченными возможностями заключен в сверхузкие рамки внутривидовой (да еще и только внутривариантной по рецепторам) реализации? Очень это неправдоподобное соотношение возможностей и их исполнения. Что-то здесь не так. Может быть, такое имеет место только в лабораториях и причина в том, что, по жестким критериям, установленным в лабораторных условиях, мы экстраполируем его на природу? А все остальное вообще никак не воспринимается, так как оно, «все остальное», нашими методами идентификации фагов, фаголизиса, фагодетекции не определяется и остается невидимым?

Далее идут широко распространенные в мире прокариотов «системы обеспечения» перераспределения генетического материала как между геномами, так и между системами переноса. Их емкость и содержание широко варьируют. Сюда относятся все типы подвижных элементов прокариотов: IS-элементы, транспозоны, крупные блоки хромо-

сом, пока еще не получившие универсального обозначения (как примеры – «островки патогенности», функциональные блоки генов по типу кластера генов азотфиксации и т. д.). Какая же емкость, скорость и степень универсальности передачи генетического материала обеспечиваются совокупностью всех этих детерминант? Здесь следует сразу же ввести жесткое ограничение оценок. Почти вся информация по переносам получена на основе изучения явления в лабораториях, в чистых или контролируемых смешанных культурах и на очень небольшом числе объектов. То, что происходит в природе, оценивается почти исключительно «модельно-феноменологически» – по распределению модельных генов в почве при внесении в нее модельных объектов; по распространению антибиотикоустойчивости прокариотов у больных людей (животных); по циркуляции генов устойчивости среди особой группы прокариотов в особых условиях и особом пространстве, так называемые «больничные инфекции»; по появлению бактерий, несущих плазмиды биодegradации в загрязненных техногенных зонах и т. д. [24–30]. Но даже в чистых культурах в лаборатории почти всегда используют технологические (т. е. чисто искусственные) приемы для большей эффективности переносов. При конъюгации – это, в частности, центрифугирование на агаризованные среды суспензии, содержащей смесь донора и реципиента. Во всех случаях – специальный подбор питательных сред. Как правило, подбор «хороших» пар донор–реципиент. При лизогенезе – выращивание при пониженных температурах на средах с индуктором синтеза белка, являющегося рецептором для данного фага и т. д. Даже при таких процедурах, да еще с учетом оптимально подобранных модельных объектов, события все равно чаще всего лежат где-то в границах вероятности 10^{-3} – 10^{-6} на клетку реципиента. А скорости переносов (на оптимальных питательных средах, в термостате) от момента смешивания изучаемых пар бактерий до появления у реципиента маркера лежат в диапазоне между десятками минут и десятками часов. Моделирование переносов применительно к естественным условиям показало, что эффективность в высокой мере зависит также от наличия питательных веществ для партнеров и темпе-

ратуры, она падала на порядки при отклонении от оптимума [31]. А ведь для каждой пары микроценоза в природе будет свой оптимум.

В природе в плотных субстратах, например почве, такие переносы при их корректном изучении оцениваются скоростями в недели и месяцы, эффективность появления измененных форм с учетом численности всей микробиоты субстрата (а не только между изучаемыми «хорошими» парами: донор–реципиент) вообще ничтожна. Что же касается объема переносимой информации, то он реально наблюдаем в теоретически ожидаемом масштабе – от единичных генов до крупных «островков генома». При наличии мощного селективного давления, особенно в защищенных от основной массы микроорганизмов нишах (организм животного, человека, растения), срабатывает селективность в «чистом виде» и идет относительно быстрое накопление (может, даже в течение нескольких суток) форм, горизонтально получивших необходимый генетический материал. Ну, например, развитие патогенной микрофлоры, ставшей нечувствительной к лекарственному препарату (антибиотику, ультрафиолету и т. д.). Или появление и распространение прокариотов некоторых видов, ставших устойчивыми к тяжелым металлам техногенных зон. Именно такие и подобные им примеры приводят при демонстрации возможностей горизонтального переноса у прокариотов. И оно, конечно же, так. Для приведенных (и подобных) примеров. В микрizonaх же природных субстратов (с учетом времени среднесрочных и быстротекущих флуктуаций) и по скорости, и по масштабам, и по необходимой емкости информации, и по массовости для всей популяции, которой надо реагировать на происходящие изменения, скорости перемещения, перераспределения генетического материала должны на порядки превышать то, что известно (и было приведено выше) для описанных в литературе вариантов горизонтальных переносов. В природных популяциях, в локальных зонах, где возникают быстрые флуктуации внешних условий, реакция должна реализоваться в течение первых десятков минут и не для отдельной клетки, а для основной (в пределе – всей) популяции. Того самого микробиоразнообразия. И не по отдельным признакам, а мас-

штабно. Только в таких случаях будет массовость, разнообразие, активность микробиоты как микроценоза. Для этого должен существовать и адекватный по времени при общепринятых механизмах (описанных выше) массовости и масштабах перенос информации. В этом плане при любых попытках количественных оценок в реальном масштабе времени возникает полное несоответствие между емкостью, скоростью и масштабностью переносимого генетического материала и необходимым ответом микробиоты микроценозов на изменения условий их существования при микрофлуктуациях. Да еще и с сохранением микробиоразнообразия.

Конечно же, все известные типы, варианты горизонтальных переносов в природе работают. Но они выполняют только ту функцию, которая может быть объяснена их реальной скоростью, адресностью и эффективностью. Значит, должен существовать еще какой-то (какие-то) вариант (варианты) обмена генетического материала у прокариотов.

Какой? Какие? Для подготовки ответа на этот вопрос сформулируем в виде сверхсжатого резюме известное. Принципиальным для последующего представления, изложения и трактовки собственных экспериментальных данных и обоснования концепции является уже хорошо установленная, общепризнанная, не вызывающая сомнений феноменология:

- горизонтальный перенос в мире прокариотов является массовым, каналы переноса разнообразны, переносимый материал лежит в широком диапазоне объема генетической информации;

- скорости такого переноса между близлежащими, фактически контактирующими клетками могут реализоваться в диапазоне от десятков минут до десятков часов;

- реципиентами непосредственно переносимого генетического материала являются только единичные клетки из состава всей популяции (а далее распространение новой информации происходит за счет селективных процессов уже на клеточном и популяционном уровнях);

- при всем таком разнообразии весь известный арсенал переносов по своим механизмам, сути явления реализуется только в виде некой асимметрии: образование, формирование и последующее

распространение переносимой ДНК может происходить как без разрушения клетки-донора (сегодня именно такая форма считается основной), так и с ее разрушением. Но заключительный этап – собственно перенос (по сути этого понятия) – осуществляется только в «классические» клетки как последние неделимые единицы живого;

– и при всем этом (т. е. при всех таких формах, масштабах и времени перераспределения генетического материала в природе), согласно разным независимым методам оценки, в природных субстратах от 90 до 99,99 % (в зависимости от методов подсчета) всех таких последних неделимых единиц живого – клеток микроорганизмов – не растет на питательных средах в лабораториях всего мира, несмотря на более чем столетние усилия и самые совершенные технологии. Последний пункт требует дополнительного пояснения. Ибо нет никаких конкретных экспериментальных данных (кроме общих соображений), показывающих, что такие нерастущие в лаборатории клетки в природе мультиплицируют. То, что они присутствуют, – видно из прямых наблюдений и определяется косвенным анализом. А вот что и как с ними происходит во всем диапазоне событий, т. е. как они образуются, как далее себя ведут и делятся ли после того, как как-то образовались, вообще представляют только по экстраполяции, по аналогии, исходя из того, что раз они есть, а, согласно существующим представлениям, возникнуть могли только из ранее таких же существующих (великий постулат Вирхова – «клетка от клетки»), то, стало быть, мультиплицируют, мультиплицировали до того и будут мультиплицировать далее «при наличии соответствующих условий». И хотя экспериментально (для не растущих в лабораториях форм) такого, т. е. их деления или любой иной мультипликации в природных субстратах, не наблюдают, но даже не вдаваясь в обсуждения, абсолютно уверены, что «иначе быть не может». Раз они есть, значит, были до того и сохраняются далее. А как же иначе? Разве может быть что-либо другое?? Даже ставить так вопрос кажется более чем странным, что вообще это – «другое»???

В последующей публикации мы представим как экспериментальный материал, так и теоретическое обоснование того, что «другое» действительно

имеет место, в чем его суть концептуально, в чем его биологический смысл, внешние проявления, как это «другое» соотносится с общепринятым, как можно охарактеризовать в полном измерении жизнь микробиоты микроценозов в природных субстратах.

V. A. Kordium

Biopolymers and cells in dimension of microbial community architecture. 3. Microcencosis, cell, biopolymers – what they are?

Summary

The published experimental data on functional differences in organization and functioning of genetic materials between eukaryotes and prokaryotes have been analyzed. A new conception of both specific status of prokaryotic genome and uncertainty of the cell definition has been proposed. It is based on the information about multitude and diversity of the channels for horizontal gene transfers, taking into account the fertility characteristics, and the facts of formation of some bodies less than 0,2 μm in size under different conditions. The question is: what are the forms which cannot be cultivated in laboratory and at the same time prevail in natural substrates?

Keywords: prokaryotic genome, microcencosis, horizontal gene transfer, prokaryotic cell.

V. A. Кордюм

Біополімери і клітини у вимірі архітектури мікроценозів.

3. Мікроценоз, клітина, біополімери – це що? Це як?

Резюме

Проаналізовано загальноприйняті експериментальні дані, описані в літературі, щодо функціональних відмінностей між світом еукаріотів і прокаріотів за особливостями організації та функціонування їхнього генетичного матеріалу. Велика кількість і різноманіття каналів горизонтального перенесення генетичного матеріалу у прокаріотів з ширкою міжвидовою реалізацією у поєднанні з особливостями фертильності, а також поява в процесі як звичайного росту, так і під дією різноманітних зовнішніх факторів утворень розміром, меншим за 0,2 мкм, дозволили сформулювати положення відносно особливого статусу у прокаріотів їхнього геному та розмитості самого поняття клітини. У цьому зв'язку постає питання, що ж із себе являють форми, які не ростуть за лабораторних умов і при цьому становлять переважну більшість у природних субстратах?

Ключові слова: геном прокаріотів, мікроценоз, горизонтальне перенесення, клітина прокаріотів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kordium V. A. Our shagreen leather is our problem. And we have to solve it.–К.: Logos, 2006.–264 p.
2. Kordium V. A., Shylova S. P., Moshynets E. V., Adamchuk-Chala N. I., Irodov D. I., Andrienko V. I. Biopolymers and cells in dimension of microbial community architecture. 1. Fenomenology // Biopolym. cell.–2009.–25, N 2.–P. 150–166.

3. *Kordium V. A., Moshynets E. V.* Biopolymers and cells on the level of microbial architecture. 2. Parallel life, parallel but not life, nonparallel and not life, but what? What is life? // *Biopolym. cell.*—2009.—**25**, N 5.—P. 403–423.
4. *Baluska F., Volkmann D., Barlow P. W.* Eukaryotic cells and their cell Bodies: cell theory revised // *Ann. Bot.*—2004.—**94**, N 1.—P. 9–32.
5. *Spector D. L.* Nuclear domains // *J. Cell Sci.*—2001.—**114**, pt 16.—P. 2891–2893.
6. *Conlan L. H., Stanger M. J., Ichiyangi K., Belfort M.* Localization, mobility and fidelity of retrotransposed Group II introns in rRNA genes // *Nucl. Acids Res.*—2005.—**33**, N 16.—P. 5262–5270.
7. *Nakabachi A., Yamashita A., Toh H., Ishikawa H., Dunbar H. E., Moran N. A., Hattori M.* The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella* // *Science.*—2006.—**314**, N 5797.—P. 267.
8. *Gregory T. R.* Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma // *Biol. Rev.*—2001.—**76**, N 1.—P. 65–101.
9. *Nagl W.* DNA redundancy and polyteny in higher plants. XV Int. Congr. Genet. (New Delhi, Dec. 12–21, 1983): Plenary Symp. Ses.—New Delhi etc.: Oxford and IBH Publ. Co., 1983.—P. 85–86.
10. *Pizon V., Cuny G., Bernardi G.* Nucleotide sequence organization in the very small genome of a tetraodontid fish, *Arothron diadematus* // *Eur. J. Biochem.*—1984.—**140**, N 1.—P. 25–30.
11. *Downie J. A., Young J. P. W.* Genome sequencing. The ABC of symbiosis // *Nature.*—2001.—**412**, N 6847.—P. 597–598.
12. *Smalla K.* Monitoring of microbial communities // 5th Int. Symp. the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms (Braunschweig, 6–10 Sep., 1998).—Berlin-Dahlem, 2000.—P. 257–258.
13. *Kalkus J., Reh M., Schlegel H. G.* Hydrogen autotrophy of *Nocardia opaca* strains is encoded by linear megaplasmids // *J. Gen. Microbiol.*—1990.—**136**, N 6.—P. 1145–1151.
14. *Ovcharenko L. P., Kozyrovska N. O.* Methagenomic analysis of environmental microorganisms.—K.: Logos, 2008.—252 p.
15. *Kalinina G. P.* Development of microbial cells from the pre-cellular matter.—K., 1954.—473 p.
16. *Timakov V. D., Kagan T. J.* Biology of L-forms.—M.: Medgiz, 1961.—235 p.
17. *Prozorovsky S. V., Kats L. N., Kagan G. J.* Bacterial L-forms (mechanism of formation, structure, pathology role).—M.: Meditsina, 1981.—240 p.
18. *Khesin R.* Genome instability.—M.: Nauka, 1984.—472 p.
19. *Riley M., Serres M. H.* Interim report on genomics of *Escherichia coli* // *Annu. Rev. Microbiol.*—2000.—**54**.—P. 341–411.
20. *Vojekova T. A.* Conjugation plasmid transfer from *Escherichia coli* to different strains of *Actinomycetales* // *Genetica.*—1999.—**35**, N 12.—P. 1626–1633.
21. *Heinemann J. A., Sprague G. (Jr.)* Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast // *Nature.*—1989.—**340**, N 6230.—P. 205–209.
22. *Gouka R. J., Gerk C., Hooykaas P. J. J., Bundock P., Musters W., Verrips C. T., de Groot M. J. A.* Transformation of *Aspergillus awamori* by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated homologous recombination // *Nat. Biotechnol.*—1999.—**17**, N 6.—P. 598–601.
23. *Lang A. S., Beatty J. T.* The gene transfer agent of *Rhodobacter capsulatus* and «constitutive transduction» in prokaryotes // *Arch. Microbiol.*—2001.—**175**, N 4.—P. 241–249.
24. *Bale N. J., Day M. J., Fry J. C.* Novel method for studying plasmid transfer in undisturbed river epilithon // *Appl. Environ. Microbiol.*—1988.—**54**, N 11.—P. 2756–2758.
25. *Linton A. H.* Plasmids in the environment // *Schriftenr. Ver. Wasser-, Boden und Lufthyg.*—1988.—**78**.—P. 197–224.
26. *Bale N. J., Crawford D. L.* *Streptomyces*. The effects of varying moisture and nutrient levels on the transfer of a conjugative plasmid between *Streptomyces* species in soil // *Can. J. Microbiol.*—1989.—**35**, N 5.—P. 544–549.
27. *Shestakov S. V.* Role of horizontal gene transfer in evolution. A report. (www.bionet.nsc.ru/live/liveprint.php?f=doclad&p=shestakov).
28. *Paget E., Simonet P.* On the track of natural transformation in soil: Pap. 4th Symp. Bact. Genet. and Ecol. (Wageningen, 21–24 Nov., 1993) // *FEMS Microbiol. Ecol.*—1994.—**15**, N 1–2.—P. 109–117.
29. *Makarov A. V., Zaharov I. A.* Big and small rebuildings in evolution of prokaryotic systems // *Genetica.*—2006.—N 11.—P. 1547–1557.
30. *Kolchanov N. A., Suslov V. V., Shumny V. K.* Molecular evolution of genetic systems // *Paleontologicheskyy Zhur.*—2003.—N 6.—P. 58–71.
31. *Day M. J., Bale M. J., Fry J. C.* Plasmid transfer in a freshwater environment. Safety Assur. Environ. Introd. Genet. End. Orga: Proc. NATO Adv. Res. Workshop (Rome, June 6–10, 1987).—Berlin, 1988.—P. 181–197.

UDC 579.245.

Received 23.12.09