

для возникновения многоклеточных организмов, а впоследствии - многотканевых организмов. Направление же филогенетического процесса изменения генома обусловлено не только и не столько адаптивной изменчивостью и отбором форм, обладающих неспецифической РР, сколько тенденцией к увеличению информационной емкости генома и связанной с этим процессом необходимостью совершенствования генетических систем надежности для обеспечения устойчивой (точной) работы увеличивающегося в размерах генетического аппарата.

#### Литература

1. Корогодин В.И. Радиотаксоны и надежность генома // Радиобиология, 1982, Т. 22, в. 2, с. 147-154.
2. Окада Ш. Радиационная биохимия клетки. – М.: Мир, 1974. – 408 с.
3. Саранульцев Б.И., Гераськин С.И. Генетические основы радиорезистентности и эволюция - М.: Энергоатомиздат, 1993. - 209 с.
4. Шальнов М.И. Ферментативная репарация ДНК и эволюция генома // Радиобиология, 1977, Т. 17, в. 5, с. 652-651.
5. Sparrow A., Underbrink A., Sparrow R. Chromosomes and cellular radiosensitivity. The relationship of D0 to chromosome volume and complexity in 79 different organisms // Rad. Res., 1967, v. 32, № 2, p. 101-132.

#### Резюме

Показана связь информационной емкости генома эукариот с потенциалом эпигенетической изменчивости. Прогрессивная эволюция генома обусловлена необходимостью увеличения информационной емкости генома и совершенствования генетических систем надежности для обеспечения устойчивой работы увеличивающегося в размерах генетического аппарата прокариотических организмов.

Показаний зв'язок інформаційної ємності генома еукаріотичних організмів з потенціалом епігенетичної мінливості. Прогресивна еволюція геному обумовлена, насамперед, необхідністю збільшення інформаційної ємності генома та вдосконалення генетичних систем надійності для забезпечення стійкої роботи генетичного апарату прокариотичних організмів, що збільшується у розмірах.

The connection of informative capacity of genome of eucaryots with potential of epigenetic changeability was shown. The progressive evolution of genome is conditioned the necessity of increase of informative capacity of genome and perfection of the genetic systems of reliability for providing of proof work of genetic apparatus of procaryotic organisms, which is increased in sizes.

**РАУТИАН М.С., ТИМОФЕЕВА А.С., ВАККЕРОВ-КОУЗОВА Н.Д.**

Россия, 198504, С-Петербург, Ораниенбаумское ш., 2. e-mail: [mrautian@mail.ru](mailto:mrautian@mail.ru)

#### **ВНУТРИЯДЕРНЫЕ БАКТЕРИИ *Holospora*: ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА, МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И КОЭВОЛЮЦИЯ С ХОЗЯЕВАМИ.**

Инфузории являются хозяевами для многочисленных и разнообразных внутриклеточных бактерий. Эндобионты могут аккупировать различные компартменты клетки – поверхность, субкортикальный слой, цитоплазму, перинуклеарное пространство ядер и сами ядра. Наиболее изучены внутриядерные бактерии парамеций (gen. *Paramecium*,

Ciliophora) из рода *Holospira*. Впервые они были описаны почти 120 лет назад выходцем из Одессы, Владимиром Хавкиным (Hafkin, 1890).

Хавкин не только впервые обнаружил необыкновенные структуры к ядрам парамеций, но и правильно понял, что это бактерии, описал их жизненный цикл и дал название роду и бинарные названия трем видам. Не все его современники были столь дальновидны. Например, в 1903 г. Митрофанов опубликовал статью, где описал «хромосомы» в макронуклеусе парамеции. Сейчас доказано, что в макронуклеусе инфузорий хромосомы отсутствуют, весь геном представлен короткими фрагментами ДНК, не формирующими цитологически выявляемых хромосом (см. Gorovsky, 2004 и др.). Тем не менее, рисунки, представленные Митрофановым в публикации, не оставляют сомнений в том, что он наблюдал в ядрах *Holospira obtusa*. Современный этап в исследовании этих внутриядерных бактерий начался с переоткрытия в 1972г одного из видов: *Holospira undulata* (Осипов, Ивахнюк, 1972). Описание новых видов и детальные ультраструктурные исследования позволили дать современное описание и диагноз этого рода, сохранив за ним название *Holospira* и имя Хавкина, как первооткрывателя (Ossipov, Gromov, 1980).

В настоящее время описано девять видов *Holospira*, специфически заселяющие макро- (МА) или микронуклеусы (МИ) разных видов парамеций. Секвенирование полноразмерного гена 16S рРНК и его фрагмента для *H. obtusa* и *H. elegans* соответственно, показало, что они относятся к подотделу альфа-Протеобактерий (Ammann et al., 1990). Однако в литературе высказывались предположения о искусственном объединении в роде *Holospira* неродственных бактерий (Fokin et al., 1997). **формируя самостоятельную ветвь, рано дивергировавшую от основного ствола Rickettsia (Emelianov, 2003).**

Инфузории обладают уникальным типом организации ядерного аппарата, включающего морфологически и функционально различающиеся ядра: макро- и микронуклеусы. Внутриядерные бактерии являются не только видо-, но и ядерно специфичными: каждый вид *Holospira* обитает в определенном виде парамеций и только в одном из ядер – либо в МА, либо в МИ. Для *Holospira* характерен сложный жизненный цикл, в котором представлены две основные формы: репродуктивные (вегетативные, РФ) и инфекционные (ИФ). Популяция бактерий из зараженного ядра обычно содержит и те и другие, а также переходные формы.

Репродуктивные формы способны к делению, они попадают в дочерние ядра при делении клетки-хозяина, обеспечивая вертикальную передачу симбионта. Репродуктивные формы способны дифференцироваться в неделящиеся инфекционные формы, которые могут выводиться из клетки парамеции и заражать новых хозяев, обеспечивая, таким образом, горизонтальную передачу симбионтов (Осипов, 1981; Goertz, ///). Формирование инфекционных форм сопряжено со сложной цитодифференцировкой, включающей, в частности, значительную гипертрофию периплазматического пространства, которое у зрелой ИФ занимает до половины клетки (Осипов, 1981; Houssmann, Goertz...). После проникновения бактерий в ядро, периплазма вновь сокращается, что свидетельствует об участии II –го секреторного пути в инфекционном процессе.

В нашей лаборатории методом пульсэлектрофореза были исследованы 20 независимых изолятов, представляющие 5 разных видов *Holospira*. Геномы голоспор представлены единственной хромосомой и не содержат естественных плазмид. Размер генома варьирует у разных видов от 1,2 Мб до 2 Мб, что мало для грам-отрицательных бактерий. Показана высокая внутривидовая вариабельность геномов, что можно трактовать как результат внутригеномных рекомбинаций.

Анализ нуклеотидных последовательностей 16S рДНК для нескольких изолятов пяти ранее не исследованных видов *Holospira* показал, что они формируют компактную в эволюционном отношении группу. Полученные данные подтверждают их происхождение

внутри Альфа-Протеобактерий и показывают, что они формируют самостоятельную ветвь, рано дивергировавшую от основного ствола Rickettsia.

При сравнении последовательностей двух изолятов *Holospira undulata* было выявлено отличие по 1 нуклеотиду (из 1492). Различия между разными видами *Holospira* составляет от 3% (48 замен *H. curviuscula* vs *H. undulata*) до 1,6% (*H. undulata* vs *H. obtusa*). Среди исследованных нами видов *Holospira* был представлен один штамм *H. elegans*. Полученная нами последовательность 16S рДНК (1235 п.н.) отличалась на 1 и на 2 нуклеотида (< 0,01% и 0,015% соответственно) от последовательностей двух изолятов *H. undulata*. Сравнение полученной последовательности с небольшим фрагментом (346 п.н.) 16S рДНК *H. elegans* в BLAST показал, что этот фрагмент полностью идентичен соответствующему фрагменту нашей последовательности. Полученные данные показывают, что уровень различий между *Holospira undulata* и *H. elegans* по крайней мере на два порядка меньше уровня межвидовых различий. Это позволяет нам утверждать, что они представляют собой один вид. То, что *Holospira undulata* и *H. elegans* в действительности представляют один вид мы предполагали ранее, т.к. они выделены на основании только морфологических отличий инфекционных форм (ИФ) этих симбионтов: ИФ извитые, тогда как у *H. elegans* они прямые. В нашей коллекции линий симбионтов был представлен клон *Holospira undulata*, популяция симбионтов в котором была представлена смесью прямых и извитых ИФ бактерий. Используя метод предельных разведений, была экспериментально получена клетка *P. caudatum*, инфицированная единственной извитой формой. Процесс инфекции контролировался под микроскопом с интерференционным контрастом Номарского и хорошо документирован. Полученный от этой клетки клон первоначально содержал лишь извитые ИФ, но затем начали появляться и прямые, доля которых постепенно возрастала. Таким образом, прямые ИФ могут образовываться у обычных *H. undulata*, возможно, в результате геномных перестроек.

Построенная филогения показывает, что сестринскими парами являются *H. undulata* - *H. obtusa* и *H. acuminata* – *H. curviuscula*, микро- и макронуклеарный симбионт *P. caudatum* и микро- и макронуклеарный симбионт *P. bursaria* (рис.1). Этот результат показывает, что в исследуемом «кусте» симбиотических систем сначала сформировалась видовая специфичность партнеров, а затем, внутри вида и независимо в каждом виде хозяина дивергировали виды симбионтов, специфичные к разным ядрам – микронуклеусу и макронуклеусу.

**РОДИОНОВ А.В., МАЧС Э.М., ТЮПА Н.Б., КИМ Е.С., НОСОВ Н.Н., ПУНИНА Е.О., КОРЧАГИНА Ю.Ю., КРАСИЛЬНИКОВ Е.М., КРЮКОВ А.А., РАЙКО М.П.**

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, ул. Проф/ Попова 2.*

*e-mail: avrodionov@mail.ru*

## **ВНУТРИВИДОВАЯ И МЕЖВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ITS В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ**

Основными последовательностями ядерного генома, которые используются при сравнительном исследовании ДНК растений, являются внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 генов 45S рРНК (Шнеер, 2008). Достоинства ITS как одного из основных индикаторов степени межвидовой дивергенции геномов растений определяются тем, что ITS1 и ITS2 представляют собой две быстро изменяющиеся в эволюции последовательности ДНК длиной порядка 220 п.н. каждая, окаймленные медленно эволюционирующими генами 18S-, 26S- и 5.8S-рРНК. По числу видов