

© С. В. Шестаков

Институт общей генетики  
им. Н. И. Вавилова РАН,  
Москва

✿ **Горизонтальный перенос генов является, наряду с мутационной изменчивостью, внутригеномными перестройками и утратами генов, одной из движущих сил видообразования и эволюции у бактерий. Изложены представления о видовом геноме, об участии различных мобильных элементов в реализации отдаленного горизонтального переноса генов, сведения о барьерах, лимитирующих такой перенос на уровне молекулярных, клеточных и популяционных процессов. Обсуждается значение различных систем рекомбинации; рассмотрена сущность гипотезы о ведущей роли горизонтального переноса генов в процессах генетической и экологической диверсификации бактерий.**

✿ **Ключевые слова:** эволюция, бактерии, геномика, горизонтальный перенос генов, мобильные элементы, рекомбинация

## КАК ПРОИСХОДИТ И ЧЕМ ЛИМИТИРУЕТСЯ ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ У БАКТЕРИЙ

### ВВЕДЕНИЕ

Исследования в области эволюционной геномики привели к пониманию того, что процессы горизонтального переноса генов (ГПГ) играют важную роль в изменчивости, видообразовании и эволюции прокариот [13, 23, 41, 61]. В результате ГПГ возникла мозаичная структура геномов современных видов и штаммов бактерий [56, 78]. Стало очевидным, что эволюция микробов имеет сетчатый характер и не может быть сведена к схемам бифуркации в вертикальном наследовании [28, 29, 32, 49, 77].

Формально в понятие ГПГ у прокариот можно включать любые события переноса генов как внутри популяций одного вида, так и между организмами разных видов, родов и более крупных таксонов. Это означает получение генов от более чем одного родителя (клона), который размножается простым делением. Внутривидовой генетический обмен осуществляется, в основном, путем гомологичной рекомбинации, эффективность которой зависит от степени геномной гомологии, от наличия, активности и соотношения систем рекомбинации и репарации ДНК, контролирующих уровни спонтанного и индуцированного мутагенеза [75]. Процессы гомологичной рекомбинации обеспечивают распространение «выгодных» аллелей в популяциях одного вида, но с разной скоростью у разных видов.

Однако, под термином ГПГ обычно принято понимать латеральный [23] перенос генов **от генетически отдаленных донорных организмов**, неспособных к взаимодействию с реципиентом путем гомологичной рекомбинации. Такой отдаленный горизонтальный перенос (обозначим его как ОГПГ) обеспечивает приобретение новых генов, их модулей или генных блоков, увеличивающих адаптивный потенциал клетки и возможности освоения новых (изменившихся) экологических ниш. Ускорение процесса видообразования может быть обусловлено различными типами ОГПГ [44]: 1) включением гена, не имеющего аналога в геноме реципиента и придающего клетке радикально новые свойства; 2) приобретением паралогичного гена (с отдаленным филогенетическим родством), ответственным за проявление нового признака; 3) замещением резидентного гена другим ортологом, контролирующим сходную клеточную функцию.

Реализация ОГПГ осуществляется преимущественно системами сайт-специфической и незаконной (illegitimate) рекомбинации при участии различных мобильных элементов, к числу которых относятся плазмиды, фаги, геномные островки, интегроны, инсерционные последовательности (IS), транспозоны. Как известно, генетический перенос осуществляется системами трансформации (поглощение экзогенной ДНК), конъюгации (физический контакт клеток донора и реципиента) и трансдукции (с помощью вирусов). Через эти каналы генетической коммуникации могут переноситься любые гены, но лишь небольшая часть из них будет включаться в геном реципиента и экспрессироваться в нем.

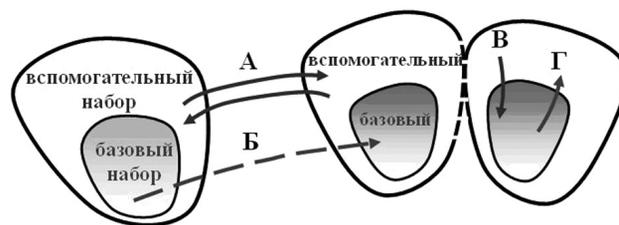
Чужеродные гены (под этим подразумеваются и кластеры генов, опероны, генные модули, другие геномные сегменты) являются нежеланными «гостями», и реципиентные клетки принимают их только с «подарками» (полезный селективный признак), а других визитеров не допускают или изгоняют.

Изучение с помощью методов геномики систем интеграции и экспрессии гетерологичных генов является областью интересов **горизонтальной геномики**. Функционирование этих систем зависит от многих факторов, условий и лимитирующих барьеров, рассмотрению которых и посвящен данный обзор, в котором приведены в справочной форме сведения о путях ОГПГ и их роли в эволюции бактерий.

### ПОНЯТИЕ О ВИДОВОМ ГЕНОМЕ

К 2007 г. определены полные нуклеотидные последовательности геномов более 250 видов и штаммов прокариот [25]. Следует подчеркнуть, что во всех случаях речь идет о геномах конкретных штаммов, а не о видовых геномах, поскольку внутривидовые различия в размерах геномов, в составе и количестве генов могут быть значительными [12]. Эти различия обусловлены прежде всего вариабельностью той части генома, которую составляют гены вспомогательного (*auxiliary* [12, 48]) или так называемого гибкого (*flexible* [35]) набора. Более консервативный базовый (*core*) набор, состоящий из генов «домашнего хозяйства», обслуживает жизненно-необходимые информационные процессы репликации, транскрипции, трансляции, ключевые пути метаболизма и формирования клеточных структур, определяющих видовую/родовую принадлежность организма. Базовые наборы близких видов имеют высокую степень сходства; их стабильность поддерживается процессами коэволюции компонентов сложных систем [40]. К категории вспомогательных относятся гены, ответственные за операционные системы вторичного метаболизма, секреции, рестрикции/модификации, устойчивости к антибиотикам, патогенности, симбиогенеза и другие признаки, обеспечивающие приспособленность к условиям конкретной экологической ниши или способность к адаптивному ответу в определенном диапазоне изменяющихся условий среды. По составу вспомогательных генов штаммы одного вида могут заметно различаться между собой, потому что наборы обновляются как за счет появления паралогичных генов, так и в результате ОГПГ.

Для прокариот нет однозначной формулировки понятия вида поскольку к трактовке термина применяются различные подходы и отсутствуют строгие критерии определения границ вида [3, 28, 49]. Поэтому и представления о видовом геноме (как совокупности всех базовых



**Рис. 1.** Обмен генами базового и вспомогательного геномного набора

- А) межвидовой обмен вспомогательными генами;
- Б) перенос генов базового набора;
- В) переход вспомогательных генов в базовый набор;
- Г) переход базовых генов в категорию вспомогательных.

и вспомогательных генов всех штаммов, причисленных к данному виду по морфо-физиологическим, молекулярно-генетическим и прочим признакам) являются обобщенными и условными. Из прагматических соображений предложено [48] считать, что гены базового набора должны быть сходными не менее чем у 95 % штаммов. Вспомогательные гены встречаются в пределах от одного до 95 % штаммов. Гены, свойственные менее 1 % штаммов, относятся к категории чужеродных, полученных путем горизонтального переноса. Соотношение трех групп генов не является неизменным видовым показателем, а имеет штаммо-специфичный характер. Вспомогательные гены могут переходить в категорию базовых, в зависимости от эколого-популяционных условий (рис. 1). Многие гены, приобретенные через ОГПГ на более ранних этапах эволюции таксона, перестают быть чужеродными благодаря процессу амелиорации (унификации ГЦ-состава генома в результате мутаций) и становятся частью вспомогательного или даже базового набора [50], другие остаются дискретными и, как правило, сохраняются в составе мобильных элементов. Перенос мобильных элементов обеспечивает штаммовую/видовую вариабельность признаков наряду с мутациями и геномными перестройками, связанными, в том числе, и с утратой геномных сегментов. Полногеномный анализ большого числа видов бактерий свидетельствует о том, что редуцированная эволюция характерна для большинства патогенных и эндосимбиотических бактерий [7, 45, 60, 79]. Потеря генов может иметь селективное значение или является результатом действия механизма поддержания определенных размеров генома, обеспечивая баланс скоростей «протока генов» в ходе эволюции таксона [55]. В формировании архитектуры геномов современных видов, занимающих относительно стабильные экологические ниши, соотношение вкладов геномной редукции и ОГПГ оценивается примерно как три к одному [45], но именно за счет горизонтальных инновационных приобретений в основном и происходит ускоренное освоение новых эконис [30, 41].

Таблица. 1

Количество перенесенных горизонтальным путем генов у некоторых видов бактерий, обладающих высокой долей мобильных элементов.

Штамм бактерии	Количество генов <sup>1)</sup>	ОГПГ - полученные гены	
		количество	% от 1)
<i>Escherichia coli</i> CFT073	5368	1149	21,4
<i>E. coli</i> 0157:H7 EDL933	5303	999	18,8
<i>E. coli</i> K12 MG1655	4278	721	16,9
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	2688	355	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. MW2	2617	381	14,6
<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS 8232	1845	329	17,8
<i>Streptococcus pyogenes</i> SF370(M1)	1695	194	12,5
<i>Pseudomonas putida</i> KT2440	5344	896	16,8
<i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	3160	411	13,0
<i>Deinococcus radiodurans</i> R1	2937	424	14,4

Примечание: 1) в анализ включены только аннотированные гены [61].

### ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ГЕНОВ

Перенос генов в процессе генетической трансформации происходит без участия «перевозчиков». Донорная ДНК может быть представлена хромосомными фрагментами или плазмидами. Роль спонтанной генетической трансформации в процессах ГПГ, происходящих в природных условиях, рассмотрена в обзорах [6, 16, 52].

Другие пути ГПГ связаны с участием «перевозчиков» — плазмид в процессах конъюгации и фагов при трансдукции. Через эти системы происходит перенос как самих мобильных элементов, так и сегментов хромосомной ДНК, встроенных в плазмидную или фаговую ДНК, и затем интегрируемых в хромосому реципиента посредством рекомбинации. Широкое распространение и циркулирование в микробном мире мобильных элементов различного типа [4, 21, 70] является основным источником переноса вспомогательных генов, ответственных за адаптивные признаки. С функциями и перемещением мобильных элементов связан высокий уровень пластичности геномов многих бактерий. В таблице 1 приведены сведения о количественной оценке ре-

зультатов ОГПГ для некоторых бактерий, геномы которых характеризуются наличием значительной доли мобильных элементов. Эти бактерии получили через ОГПГ 13–20 % генов от общего числа генов в геноме; из них гены, ассоциированные с мобильными элементами составляют 25–30 % [60]. У других бактерий (например, *Clostridium perfringens*, *Treponema pallidum*) число полученных через ГПГ генов не превышает 5–7 % и они, как правило, не связаны с мобильными элементами.

Рассмотрим кратко, обобщенные в различных обзорах сведения об основных видах мобильных элементов, участвующих в обеспечении ОГПГ.

#### Плазмиды и бактериофаги [4, 15, 26, 70].

Плазмиды разнообразны по размерам, по наборам генов, отвечающих за поддержание плазмид в клетке хозяина, за способность к переносу, за различные функции, определяющие, в том числе, экологически важные признаки: устойчивость к антибиоткам [5], способность к биодegradации ксенобиотиков [72], к азотфиксации и т.п. Как векторные системы плазмиды могут участвовать в ОГПГ различными способами:

1) конъюгативный перенос, контролируемый генами самой плазмиды; 2) мобилизация неконкюгативных плазмид и перенос в коинтегратах

с трансмиссибельными плазмидами; 3) мобилизация хромосомы и перенос ее сегментов в реципиент с образованием мерозиготных трансконъюгантов; 4) включение плазмиды в фаговые частицы (вариант трансдукции); 5) поглощение экзогенной плазмидной ДНК в процессе трансформации.

Различные этапы процесса конъюгации обслуживаются большим арсеналом белков, функции которых рассматриваются в обзорах [14, 22, 26, 71]. Наиболее успешно ОГПГ с участием плазмид происходит в условиях тесного контакта конъюгирующих партнеров, особенно в биопленках [70], ризосфере других локальных экосистемах. Вероятность межвидовых/междовых ОГПГ в таких экосистемах достаточно велика, если имеются возможности обеспечения всех этапов переноса и рекомбинационного взаимодействия плазмидной ДНК с другими репликонами. Наиболее активны в этом отношении плазмиды широкого круга хозяев (например, IncP-группы). Известны примеры конъюгативного переноса плазмид между таксономически далекими организмами — от энтеробактерий в стрептомицеты, от грам-отрицательных к грам-положительным бактериям [5].

Бактериофаги широко распространены в природе и выполняют важную роль в контроле численности микробных популяций, в автолизе стареющих клеток, в переносе бактериальных генов, выступая в качестве векторных «систем» [4, 15]. Например, цианофаги, инфицирующие морские цианобактерии, оказывают существенное влияние на динамику популяций фитопланктона [55] и участвуют в горизонтальном переносе различных генов, в том числе кодирующих белки аппарата фотосинтеза [51]. Факультативно-внутриклеточные бактерии содержат большое число генов вирулентности, локализованных в профагах [11]. Показано участие умеренных фагов псевдомонад, энтеробактерий, клостридий и др. в межвидовых ОГПГ между патогенными и сапрофитными бактериями [4]. Внешние воздействия или мутации, приводящие к индукции профагов, нарушению процессов лизогенизации, способности инфицировать организм хозяина, взаимодействовать с хромосомой, могут видоизменить свойства фагов-«перевозчиков», участвующих в процессах трансдукции и ОГПГ [15].

#### **Мобильные элементы, интегрируемые в репликоны.**

Помимо профагов и эписом в эту категорию входят инсерционные последовательности (**IS-элементы**) и **транспозоны**, способные к перемещению в хромосоме и между различными репликонами внутри клетки, а также между клетками в составе переносчиков. К интегрированным в хромосому мобильным структурам относятся также интегроны и «геномные островки».

В IS-элементах находятся только гены, ответственные за собственную транспозицию, которая осуществляется по сайтам инвертированных повторов, расположенных на концах элемента. Внедрение многих типов IS-элементов менее специфично, чем интеграция профагов, и часто приводит к инактивации генов или к изменению их экспрессии, к возникновению делеций или инверсий [73]. Сами по себе IS-элементы не являются «перевозчиками» генов, но, участвуя в геномных перестройках и взаимодействуя с другими мобильными элементами, они могут вносить существенный вклад в ОГПГ-обусловленную изменчивость бактерий.

Включенные между двумя идентичными IS-элементами хромосомные сегменты являются **транспозонами**, содержащими наборы генов, которые перемещаются как целостная структура. Интеграция и вырезание транспозонов по фланкирующим сайтам происходит при участии специфических рекомбиназ и ряда обслуживающих белков. Особую группу составляют **интегративные конъюгационные транспозоны**, которые не являются самостоятельными репликонами, но способны, подобно профагам, размещаться в хромосоме, вырезаться из нее, а главное переноситься в другие клетки через систему конъюгации [14, 33]. Транспозоны, как и плазмиды, нередко ассоциированы с **интегронами**, которые обеспечивают экспрессию включенных в них кассет, несущих кластеры генов, лишенных собственных промоторов. **Генные кассеты** представляют собой нереплицирующиеся кольцевые структуры, способные к интеграции с помощью сайт-специфической рекомбинации в участки, где кассета попадает под контроль сильного промотора [2, 61, 67]. Таким образом, интегроны играют роль своеобразных «ловушек», обеспечивающих функционирование захваченных кассет, содержащих сцепленные гены, контролирующие резистентность к лекарственным препаратам, патогенность, синтез ферментов катаболизма и т. п. Особенности структурной организации интегронов и более сложных суперинтегронов, рекомбинационные механизмы сборки и перемещения различных интегронов детально рассматриваются в обзорах [2, 67].

**В геномных островках (ГО)** совмещаются различные мобильные элементы и большое число генов, обеспечивающих многокомпонентные процессы, определяющие ключевые черты образа жизни организма хозяина [22, 34, 35]. Собранные в ГО гены, ответственные за патогенность [22, 34, 68], биodeградацию ксенобиотиков [72], симбиогенез [35, 63], транспорт металлов и т. д. (табл. 2), вовлечены в ОГПГ и во многом диктуют характер и направление отбора в процессах адаптивной эволюции бактерий. В ГО могут быть собраны вместе гены, ответственные за сложный процесс (например, деградация

Таблица 2

## Свойства некоторых геномных островков (ГО)

Бактерия	Тип ГО	Свойства
<i>Vibrio cholerae</i>	PAI	продукция токсина
<i>Salmonella enterica</i>	PAI	система секреции типа III
<i>Helicobacter pylori</i>	PAI	система секреции типа IV
<i>Shigella flexneri</i>	ECI	множественная устойчивость к антибиотикам
<i>Pseudomonas putida</i>	ECI	деградация фенола
<i>Vibrio fischeri</i>	ECI	люминесценция
<i>Klebsiella sp.</i>	SAI	поглощение ионов железа
<i>Mesorhizobium loti</i>	SYI	азотфиксация

Примечание: Типы геномных островков: PAI — патогенный; SAI — сапрофитный; SYI — симбиотический; ECI — эколого-приспособительный

синтетических ксенобиотиков), отдельные этапы которого кодируются генами катаболизма, полученными через ОГПГ от разных доноров [72]. Одноэтапный блочный перенос кластера генов, функционально связанных между собой, обеспечивает сопряженность этапов целого процесса, нового для реципиентной клетки, что повышает вероятность быстрой адаптации в новых условиях. В хромосоме ГО выявляются по отличию в ГЦ-составе и частоте встречаемости кодонов от остальной части генома, что указывает на попадание ГО в клетку через системы ОГПГ. Островки имеют на флангах специфические повторы, по которым осуществляется их встраивание/вырезание преимущественно в районах генов транспортных РНК [22, 35], что снижает опасность нарушения функционально значимых белковых генов базового набора. Особенности процесса интеграции делают ГО неустойчивыми структурами [35], которые могут элиминироваться из популяции в условиях, когда снижается селективное значение ГО.

Большой массив данных по секвенированию ДНК различных фагов, плазмид и других мобильных элементов (см. перечень баз данных в обзорах [25, 26]) еще недостаточно аннотирован и систематизирован, что затрудняет их классификацию, отражающую функциональные характеристики геномов. Прежде всего это относится к орфанам [76] — гипотетическим генам, которые не имеют прямых гомологов у других бактерий, но занимают много места в мобильных элементах. Актуальной задачей эволюционной и экологической геномики является увеличение объема сведений о мобильных элементах у как можно большего числа видов бактерий и расшифровка функций (почти) всех генов, содержащихся в объединенном мегафонде всех мобильных элементов. Такие исследования вносят фундаментальный вклад в понимание механизмов ОГПГ и закономерностей коэволюции мобильных элементов и бактерий-хозяев.

## УСЛОВИЯ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ГЕНОВ

Реализация ОГПГ зависит от многих факторов, начиная от процессов проникновения донорной ДНК в реципиентную клетку и до систем регуляции экспрессии приобретенных генов и судьбы клеток в популяции. На пути ОГПГ много барьеров, препятствующих или снижающих вероятность фиксации новых генов в геномном контексте. Чужеродные гены, не дающие быстрого жизненно-важного преимущества могут оказывать угнетающее действие, вызывая дисбаланс в координации генно-метаболических сетей и снижая конкурентоспособность клеток в популяции. Функционально нейтральные гены (мутации) без селективного давления редко фиксируются в популяции, за возможным исключением «эгоистичных» мобильных элементов [43]. Ограничения в ОГПГ могут быть обусловлены как видоспецифическими свойствами доноров и реципиентов, так и условиями их взаимодействия в конкретных эконивах.

## Начальные этапы переноса ДНК.

Известно немало видов бактерий, способных к естественной трансформации [6, 16, 52] за счет поглощения экзогенной ДНК, выделение которой может быть активным (при участии специфических белков, например, у *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* и др.) или пассивным в результате лизиса клеток, в том числе, под действием фагов или факторов иммунного ответа. Таким образом, на первом этапе процесса спонтанной трансформации важным условием является наличие в среде интактных молекул ДНК, которые лучше сохраняются в иммобилизованном виде, в комплексах, защищающих ДНК от внеклеточных нуклеаз.

На втором этапе процесса трансформации ключевую роль играет система активного поглощения ДНК компетентными реципиентными клетками

[6, 71]. Физиологический статус компетентности определяется функционированием специализированных белков, обеспечивающих связывание ДНК на поверхности реципиентной клетки и ее транслокацию через мембраны. От свойств систем адгезии и транслокации зависят возможности поглощения хромосомных фрагментов (и плазмид) от генетически отдаленных доноров; мутации, влияющие на промежуточное образование участвующей в рекомбинации однокитевой ДНК, снижают способность к ОГПГ.

В случае конъюгации необходим физический контакт клеток донора и реципиента; при трансдукции необходима адгезия фага на поверхности клетки. Очевидно, что от эффективности этих начальных этапов переноса генов зависит и вероятность осуществления ГПГ. В системах конъюгации важную роль играют морфологические структуры (пили), обеспечивающие спаривание партнеров и образование между ними мостика для перехода плазмидно-хромосомного коинтеграта в реципиентную клетку в виде однокитевой структуры, которая превращается затем в двукитевую. Если при трансформации и конъюгации промежуточные однокитевые ДНК не подвергаются действию рестриктаз, то двукитевые структуры атакуются ферментами рестрикции, создающими мощный барьер для гетерологичной ДНК. В случае конъюгации еще одним барьером у грам-отрицательных бактерий является система «поверхностного исключения» (на примере F-плазмид *E. coli* [71]), ограничивающая способность реципиента взаимодействовать с пилиями, участвующими в спаривании. Важные функции в аппарате конъюгации выполняет система секреции типа IV и белки клеточных пор, через которые происходит перенос ДНК. У грамм-положительных бактерий в контроле конъюгативного переноса участвуют гены, ответственные за синтез феромонов, небольших сигнальных пептидов, содействующих агрегации клеток [71]. В большинстве случаев это видоспецифичные и плазмидоспецифичные системы взаимодействия клеток партнеров. Однако у *Staphylococcus aureus* феромон инициирует даже межвидовые скрещивания [18]. Разнообразие и многокомпонентность систем конъюгативного переноса определяют различия в способностях к ОГПГ у разных видов/штаммов бактерий.

До вступления в процесс рекомбинации донорная ДНК должна преодолеть барьер, создаваемый рестриktionными эндонуклеазами, разрезающими гетерологичную ДНК в участках со специфической последовательностью. Эти сайты модифицированы и защищены в геноме реципиента в результате метилирования. Известно более 200 систем рестрикции/модификации (РМ), специфические наборы которых различны у разных видов/штаммов бактерий [42, 43]. Чем меньше набор рестриктаз в реципиентной клетке, тем

выше вероятность реализации гетерологичного ОГПГ; чем больше различных сайтов рестрикции в гене или плазмиде, тем выше вероятность их деградации. Мутационное появление в геноме нового сайта рестрикции может снизить возможность успешного исхода ОГПГ. Конъюгативные плазмиды, содержащие системы антирестрикции (в частности, ген *ardA*) более стабильны в клетках хозяев с активными рестриктазами I типа [17]. Вместе с тем, расщепление донорной ДНК рестриктазами на мелкие фрагменты оказывает рекомбиногенный эффект и может приводить к возникновению внутригенной мозаики. Таким образом, системы рестрикции/модификации и антирестрикции играют существенную роль в поддержании видоспецифичности геномов, в их защите от внедрения чужеродной генетической информации и, следовательно, в регулировании процессов ОГПГ и видообразования. Приобретение через ОГПГ новой РМ-системы может изменить способность к генетическому обособлению клона, потенциального предшественника нового штамма/вида. В неблагоприятных условиях роста активность РМ-систем может подавляться [74], что стимулирует ОГПГ и ускоряет темпы эволюционных преобразований.

#### Процессы генетической рекомбинации.

Интеграция генов/сегментов донорной ДНК в геном реципиента осуществляется тремя разными системами рекомбинации: гомологичной, сайт-специфической и незаконной, для которой не требуется взаимодействия гомологичных последовательностей. Различия в наборах и активностях генов, отвечающих за эти процессы, определяют вариации в способности к ГПГ у разных видов/штаммов бактерий.

Эффективность гомологичной рекомбинации определяется прежде всего степенью гомологии и протяженностью гомологичных участков ДНК, а также наличием белков, необходимых для инициации и обеспечения последующих этапов рекомбинации. Именно эти параметры определяют возможности межвидовой генетической трансформации, в результате которой может произойти замещение резидентного гена/сегмента последовательностью донорной ДНК. Способность к межвидовой гомологичной рекомбинации существенно повышается в клетках мутантов, дефектных по системе репарации неспаренных оснований (MMR) [53]. Например, рекомбинация идет достаточно эффективно в клетках мутантов *mutS*, *mutL*, *mutH* *E. coli* при скрещивании с *Salmonella thyphimurium*, хотя дивергенция между геномами этих бактерий достигает 20% [65]. Известны полученные экспериментально или выделенные из природных источников штаммы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitides*, *E. coli* и др.), обладающие повышенным уровнем мутабельности и способности к межвидовой рекомбинации [27, 73]. Именно такие клетки в гетерогенной популяции и характеризуются большой

геномной изменчивостью и повышенной восприимчивостью к ГПГ. Вместе с тем, эффективность процесса гомологичной рекомбинации зависит не только от MMR, но и от функционирования SOS-системы репарации, генерирующей включение «неверных» оснований при участии индуцируемых ДНК-полимераз, работающих на некоплементарной матрице с низкой точностью. Соотношение активностей этих двух противоположных по своему действию систем контролирует вероятность рекомбинации гетерологичных генов. При минимальной активности MMR в сочетании с индукцией SOS-системы снижается барьер, лимитирующий рекомбинацию между дивергентными последовательностями [75] и, соответственно, повышаются возможности реализации ОГПГ.

Кроме замещения участков в геноме и увеличения степени полиморфизма система гомологичной рекомбинации может обеспечивать и приобретение новых последовательностей ДНК. Включение негомологичных геномных сегментов возможно при взаимодействии линейной молекулы донорной ДНК с хромосомой, в которой имеется участок, инициирующий процесс гомологичной рекомбинации. Область рекомбинации расширяется и захватывает рядом расположенные последовательности в донорной ДНК [58]. Такая негомологичная интеграция при содействии системы гомологичной рекомбинации осуществляется с низкой частотой, но является одним из реальных механизмов реализации ОГПГ. Например, при генетической трансформации у *Streptococcus pneumoniae* в районе небольшого участка с высокой гомологией (около 200 н. п.) может происходить интегративный захват негомологичного сегмента, содержащего более 1000 н. п. [64]; при этом делетируется фрагмент реципиентного генома.

Филогенетический мультилокусный геномный анализ видов с высоким уровнем гомологичной рекомбинации (*Neisseria meningitidis*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus* и др.) показал, что основным источником аллельной изменчивости являются не мутации, а рекомбинационные события [24, 36]. Такие бактерии характеризуются малой степенью клоальности и способны к интенсивному ГПГ. Виды с низкой рекомбинационной активностью (*Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium sp.* и др.) обладают высокой клоальной стабильностью; возможности ГПГ у них ограничены.

В отличие от гомологичной рекомбинации сайт-специфическая рекомбинация происходит только в тех участках генома, где имеются специфические (иногда очень небольшие по размеру и числу копий) участки, с которыми могут взаимодействовать только определенные плазмиды, фаговая ДНК, другие мобильные элементы. Включение в хромосому транспозируемого элемента создает условия для рекомбинации с гомологичной последовательностью, попадающей в клетки

через системы ОГПГ. Некоторые виды/штаммы бактерий обладают небольшим количеством или даже отсутствием мобильных элементов и генов, кодирующих ферменты сайт-специфической рекомбинации/транспозиции (в частности, облигатные патогены), в то время как другие, например, многие факультативные внутриклеточные бактерии, характеризуются мощными системами транспозиции [11], способными участвовать в модуляции процессов мутагенеза, регуляции экспрессии генов, геномной реорганизации и, тем самым, оказывать заметное влияние на процессы ОГПГ и генетической диверсификации.

Если процесс сайт-специфической рекомбинации осуществляется в строго определенных участках, то в случае незаконной рекомбинации может происходить интеграция негомологичных последовательностей в самых различных, «случайных» участках генома. Один из механизмов такой рекомбинации, обслуживаемый специфическими белками, связан с образованием двунитевых разрывов [39] и последующей состыковкой образующихся концов с фрагментом ДНК, содержащим гетерологичный ген. Такие события происходят редко, потому что высокая частота образования двунитевых разрывов чревата гибелью клетки. Однако инновационное значение незаконной рекомбинации для реализации ОГПГ от генетически отдаленных доноров очевидна [58].

#### **Клеточные и популяционные факторы.**

Кроме рассмотренных выше лимитирующих ГПГ условий, связанных с молекулярными механизмами процессов, определяющих судьбу донорной ДНК в реципиентной клетке следует уделить внимание и факторам, действующим на клеточном и популяционном уровнях.

Если чужеродный ген не экспрессируется в клетке нового хозяина (из-за отсутствия необходимого активатора транскрипции, действия репрессора, несовместимости с системой регуляции или по иным причинам), то фенотипического проявления признака не будет и закрепления этого гена в популяции не произойдет. Но и в случае, когда ген экспрессируется, его судьба в популяции проблематична. Продукт чужеродного гена может оказывать негативное воздействие, например, вмешиваясь в работу регуляторных систем или проявляя токсичные свойства. Гены и их продукты функционируют в клетке кооперативно в сложной сетевой системе, где взаимосвязи оптимизируются в ходе длительной эволюции целого генома и коэволюции кластеров генов [40, 57]. В результате геномных перестроек образуются опероны, регулоны, кассеты, что создает условия для блочного ОГПГ и снижает результативность переноса единичных генов, поскольку им трудно вписаться в генетический контекст реципиентной клетки. Большинство полипептидов встроено в сложные комплексы, работа которых определяется высокой точностью взаимодействия компонентов.

Белкам, имеющим различную филогенетическую историю, трудно замещать друг друга даже в функционально аналогичных комплексах. Появление в клетке генаксенолога или гена, продукт которого отличается от резидентного белка, может испортить сборку и функционирование комплекса, нарушить координацию и сбалансированность клеточных процессов и, соответственно, снизить приспособленность и выживаемость организма. Функциональная несовместимость генов/белков с гено-метаболическими сетями реципиента является серьезным барьером на пути реализации ОГПГ. Однако приобретение через ОГПГ нового модуля, который успешно встроится в регуляторную систему, может обеспечить быструю реоптимизацию клеточных систем в изменившихся условиях.

Возможности фиксации в популяции генов, приобретаемых через ОГПГ, зависят от многих факторов, определяющих структуру и динамику популяций [28, 49]. От плотности популяции и физиологического состояния реципиентных клеток зависит их способность воспринимать донорную ДНК. Таких клеток в гетерогенных естественных популяциях немного и они смогут размножиться и выжить в конкуренции с другими клонами только при мощном и продолжительном во времени действии периодического отбора. В условиях контрелекции против чужеродных генов они быстро элиминируются из популяции. Вместе с тем, возникновение через ОГПГ нового варианта оказывает стрессовое воздействие на другие организмы, живущие в общей экологической нише, и «заставляет» их тоже изменяться, чтобы восстановить равновесие в сообществе. Поэтому для понимания механизмов реализации ОГПГ важны сведения о закономерностях динамики геномных изменений у различных штаммов/экотипов, обитающих в условиях сосуществования с другими организмами.

Полученные через ОГПГ чужие гены являются мишенью мутационных изменений, которые могут произойти раньше распространения нового гена в популяции и тогда фенотипической фиксации признака не произойдет [46]. Неоднородность микроусловий среды, где обитают и взаимодействуют клетки донора и реципиента, также влияет на результативность ОГПГ. Судьба чужеродного гена, находящегося в промежуточном (до интеграции в геном) или нестабильном состоянии, может оказаться успешной в одних условиях и не реализованной в других. Для различных экофизиологических групп бактерий (гетеротрофных, автотрофных, анаэробных, термофильных и др.), помимо специфических факторов отбора, важную роль в реализации ОГПГ играют фоновые условия среды, такие как температура, наличие и концентрация кислорода, солей, С-источников и т. д. [41]. В природных условиях реципиентные клетки являются объектами взаимодействия с разными донорами, то есть потенциально

они открыты для множественных событий ОГПГ. Создается конкуренция за использование механизмов «приживления» чужеродных генов, и возможности прогнозирования результатов ОГПГ минимизируются.

### **РОЛЬ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ГЕНОВ В ЭВОЛЮЦИИ И ВИДООБРАЗОВАНИИ**

Широкое распространение получили представления о том, что ОГПГ является одной из движущих сил видообразования. Однако установить природу первичного донора гена в ОГПГ трудно, так как бактерии могут приобрести ген через цепочку промежуточных хозяев, в которых он может подвергнуться амелиорации, эрозии, рекомбинационным перестройкам, мутациям. Только при наличии высокой степени гомологии гена у предполагаемого донора и анализируемого реципиента, обитающих в одной экологической нише, а также с учетом информации о природе вероятного вектора переноса можно высказывать суждения о направлении ОГПГ. Предполагается, что на ранних этапах эволюции биоты ГПГ был доминирующим процессом, на основе которого из общего генного фонда «коммунального хозяйства» формировались первичные линии, в которых шла автономизация и стабилизация базовых наборов генов, а затем и становление механизмов, ограничивающих ОГПГ [8]. Современные виды бактерий, прошедшие длительный путь эволюции через смену геологических эпох и биосферные кризисы, отличаются от своих предков более стабильными геномами, но различаются между собой по способности к ОГПГ, что и определяет возможности дальнейших эволюционных преобразований в мире микробов. По-видимому, частота ОГПГ была неодинаковой на разных этапах развития биосферы и шла волнами, достигавшими пиков в периоды крупных планетарных или региональных изменений.

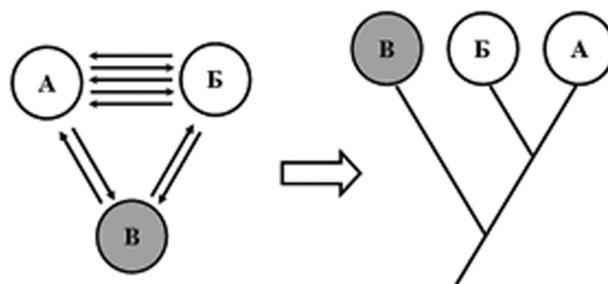
Следует подчеркнуть, что сами гены, контролируемые ОГПГ, тоже вовлечены в эволюционные процессы. Это касается как генов, кодирующих белки клеточных структур, участвующих в переносе, так и генов, ответственных за процессы рекомбинации, репарации и мутагенеза. Выявлена позитивная корреляция между уровнями генетической изменчивости некоторых видов свободноживущих бактерий с наличием систем транспозиции. В редуцированных геномах ряда патогенных и эндосимбиотических бактерий мало генов, ответственных за рекомбинацию/транспозицию, но присутствует много систем рестрикции/модификации, защищающих геномы от ОГПГ. Перенос генов, контролируемых ГПГ, может существенно влиять на уровень генетической изменчивости и темпы видообразования. Как отмечалось выше, дефектные

по MMR- системе репарации штаммы *E. coli* характеризуются не только гипермутабильностью, но и высокой рекомбиногенностью, то есть повышенной способностью к генетическому обмену. При переносе нормального аллеля MMR-системы уровень рекомбинации дивергентных последовательностей в реципиенте снижается, а возникшие изменения в геноме закрепляются в результате репродуктивной изоляции [56]. Таким образом, в цикле последовательных событий, влияющих на стабильность генома, могут повышаться или понижаться уровни изменчивости и ГПГ, определяющие скорости видообразования и эволюции.

В оценке вклада ОГПГ в процессы видообразования существуют две точки зрения. Курланд и др. [10, 46, 47] критически относятся к информативности методов учета событий ОГПГ и полагают, что полученные горизонтальным переносом гены редко фиксируются в популяциях современных видов прокариот. Главным источником возникновения новых видов авторы считают мутационную изменчивость, дивергенцию и вертикальную эволюцию при незначительном вкладе ОГПГ. Эти представления согласуются с тем, что филогенетические схемы, построенные на основе полногеномного анализа многих бактерий совпадают с данными, полученными при определении генетического родства по генам рибосомных РНК и кластерам консервативных ортологов [19, 20, 38].

Иных позиций придерживаются многие специалисты, работающие в области сравнительной геномики прокариот. Специфические особенности геномов различных видов и штаммов бактерий обсуждаются именно в плане последствий ОГПГ [9, 13, 30, 61]. Более того, предложена гипотеза [29, 62], согласно которой генеалогия прокариот определяется ведущей ролью ГПГ, реализуемой через различные системы рекомбинации. Эта гипотеза принципиально отличается от традиционной концепции молекулярной филогении, которая базируется на клональной модели мутационной изменчивости и дивергенции в процессе вертикального наследования.

Суть новой гипотезы состоит в том, что генетически близкие виды похожи друг на друга потому, что они чаще обмениваются генами между собой, чем с другими бактериями (рис. 2). Поэтому глубокое филогенетическое ветвление может быть вызвано ранней дивергенцией, а репродуктивной изоляцией, обусловленной снижением частоты генетического обмена внутри гетерогенной популяции одного вида или между близкими видами. С другой стороны, генетически отдаленные линии, которые начинают активно обмениваться генами, будут выглядеть как «сестринские» на филогенетических схемах. Таким образом, степень родства будет коррелировать не с близостью «ветвей» после дивергенции, а с гради-



**Рис. 2.** Дивергенция генетических линий (А, Б, В) по рекомбинационной модели (слева) и по модели геномной вертикальной эволюции (справа) [29].

ентом частоты генетического обмена — от высоких значений у близкородственных организмов до очень низких для отдаленных. Это позволяет понять, почему дендрограммы, построенные по схемам вертикального наследования, совпадают с картиной ГПГ-направленной эволюции [29]. Изменения в рекомбинирующих геномах могут быть следствием как мутаций и геномных перестроек, так и внедрением новых, чужеродных последовательностей.

В дискуссиях между сторонниками главенствующей роли вертикальной эволюции (мутационная модель) и теми, кто придает первостепенное значение ГПГ (рекомбинационная модель) наметились пути сближения, которые ведут к формированию синтетического взгляда на сущность процессов видообразования у прокариот. Подтверждением этого являются недавние публикации [9, 28, 31, 78], в которых обсуждаются возможности совмещения схем вертикального наследования и ГПГ в филогенетических реконструкциях. Из данных сравнительной геномики следует, что гены базовых наборов (и вообще большинство ортологов) вовлекаются в ОГПГ значительно реже, чем вспомогательные гены, мобильные элементы и «эгоистичная» ДНК с неясными клеточными функциями [9, 20, 78]. Таким образом, филогения консервативных ортологических генов в целом отражает генеральную линию долгосрочной вертикальной эволюции крупных таксонов, а многочисленные отклонения от «универсального дерева жизни», которые являются головной болью для тех, кто занимается вопросами молекулярной филогении, зависят в первую очередь от событий ОГПГ и геномных утрат, определяющих адаптивную изменчивость и экологическую диверсификацию видов.

Вместе с тем, соглашаясь с безусловной значимостью анализа геномных преобразований для понимания филогении прокариот по генотипическому родству, следует помнить, что биологическая эволюция является интегративным процессом, в котором результаты естественного отбора реализуются на организменном уровне в популяциях и сообществах [1]. Поэтому в парадоксальной ситуации, когда

«трудно определить понятие вида, но можно изучать закономерности видообразования» [49] важная роль должна принадлежать исследованиям в области популяционной и экологической генетики в сочетании с применением обширного арсенала методов геномики и протеомики. В изучении экологических аспектов ОГПГ перспективны подходы метагеномики [37, 66], в задачи которой входит анализ всей совокупности генов в геномах всех видов (в том числе и криптических), обитающих в определенном экологическом пространстве (с разнообразием микрорусловий) и вовлеченных как в функциональное «разделение» труда в сообществе, так и в сложные конкурентные взаимоотношения.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать следующие заключения.

1. Возможности межвидового ОГПГ зависят от рекомбинационного потенциала клеток. Виды/штаммы с высоким уровнем рекомбинации дивергентных последовательностей и/или с активными системами сайт-специфической/незаконной рекомбинации обладают способностью к эффективному ОГПГ. Происходящие в геномах таких видов изменения, обусловленные межвидовой рекомбинацией, ускоряют процессы генетической диверсификации и видообразования.
2. Ключевая роль в обеспечении ОГПГ принадлежит мобильным элементам, обеспечивающим перенос гетерологичных генов и их интеграцию в геномы реципиентов. Бактерии/штаммы с обширным арсеналом генных «перевозчиков» и «интеграторов» обладают более высокой способностью к осуществлению ОГПГ. Перенос кластеров генов в составе мобильных структур является более мощным инструментом адаптивных и быстрых геномных изменений, чем мутационная изменчивость.
3. Гены базового набора, определяющие генеральную линию вертикальной эволюции, участвуют в ОГПГ значительно реже, чем гены вспомогательного набора, существенная часть которого размещена в плазидах, профагах, геномных островках, транспозонах. Разные гены внутри одного генома могут иметь разную эволюционную историю у видов/штаммов с высоким рекомбинационным потенциалом. Вклад ОГПГ в геномную эволюцию бактерий различен для разных таксонов.

Работа поддержана грантами программы ФЦП «Ведущие научные школы» НШ-4202.2006.4 и Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы»

Выражаю благодарность Е. А. Карбышевой и Л. Е. Михеевой за помощь в оформлении статьи.

## Литература

1. Заварзин Г. А. Составляет ли эволюция смысл биологии / Заварзин Г. А. // Вестник РАН. — 2006. — Т. 76, №6. — С. 522–543.
2. Ильина Т. С. Суперинтегроны бактерий — источники новых генов с адаптивными функциями / Ильина Т. С. // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 11. — С. 1536–1546.
3. Калакуцкий Л. В. Обращение с микроорганизмами: правила писанные и неписанные / Калакуцкий Л. В. // Вестник РФФИ. — 2005. — № 2. — С. 35–60.
4. Крылов В. М. Роль горизонтального переноса генов бактериофагами в возникновении патогенных бактерий / Крылов В. М. // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 5. — С. 595–620.
5. Миндлин С. З. Происхождение, эволюция и миграция генов лекарственной устойчивости / Миндлин С. З., Петрова М. А., Басс И. А., Горленко Ж. М. // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 11. — С. 1495–1511.
6. Прозоров А. А. Горизонтальный перенос генов у бактерий: лабораторное моделирование, природные популяции, данные геномики / Прозоров А. А. // Микробиология. — 1999. — Т. 68, № 5. — С. 632–646.
7. Шестаков С. В. Геномика патогенных бактерий / Шестаков С. В. // Вестник РАМН. — 2001. — № 10. — С. 18–25.
8. Шестаков С. В. О ранних этапах биологической эволюции с позиций геномики / Шестаков С. В. // Палеонтол. журнал. — 2003. — № 6. — С. 50–57.
9. Baptiste E. Phylogenetic reconstruction and lateral gene transfer / Baptiste E., Boucher Y., Leigh J., Doolittle W. F. // Trends Microbiol. — 2004. — Vol. 12, № 9. — P. 406–411.
10. Berg O. Evolution of microbial genomes: sequence acquisition and loss / Berg O., Kurland C. G. // Mol. Biol. Evol. — 2002. — Vol. 19. — P. 2265–2276.
11. Bordenstein S. R. Mobile DNA in obligate intracellular bacteria / Bordenstein S. R., Reznikoff W. S. // Nature Rev. Microbiol. — 2005. — Vol. 3. — P. 688–699.
12. Boucher Y. Microbial genomes: dealing with diversity / Boucher Y., Nesbo C. L., Doolittle W. F. // Current Opin. Microbiol. — 2001. — Vol. 4 — P. 285–289.
13. Brown J. R. Ancient horizontal gene transfer / Brown J. R. // Nature Rev. Genet. — 2003. — Vol. 4. — P. 121–132.
14. Burris V. Conjugative transposons: the tip of the iceberg / Burris V., Pavlovich G., Decaris B., Guedon G. // Mol. Microbiol. — 2002. — Vol. 46, № 3. — P. 601–610.
15. Canchaya C. Phage as agents of lateral gene transfer / Canchaya C., Fomous G., Chibani-Chennoufi S. [et al.] // Current Opin. Microbiol. — 2003. — Vol. 6. — P. 417–424.

16. *Chen I.* DNA uptake during natural transformation / Chen I., Dubnau D. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2004. — Vol. 2. — P. 241–249.
17. *Chiley P. M.* Distribution of the *ArdA* family of antirestriction gene on conjugative plasmids / Chiley P. M., Wilkins B. M. // *Microbiology.* — 1995. — Vol. 141. — P. 2157–2164.
18. *Clewell D. B.* Enterococcal plasmid transfer: sex pheromones, transfer origins, relaxases, and the *Staphylococcus aureus* issue / Clewell D. B., Francia M. V., Flannagan S. E., An F. Y. // *Plasmid.* — 2002. — Vol. 48. — P. 2002.
19. *Daubin V.* Phylogenetics and cohesion of bacterial genomes / Daubin V., Moran N. A., Ochman H. // *Science.* — 2003. — Vol. 301. — P. 829–832.
20. *Daubin V., Legat E., Perriere G.* The source of laterally transferred genes in bacterial genomes // *Genome Biol.* — 2003. — Vol. 4. — P. R57.
21. *Dionisio F.* Plasmids spread very fast in heterogeneous bacterial communities / Dionisio F., Matic J., Radman M., Rodrigues O. R. // *Genetics.* — 2002. — Vol. 162. — P. 1525–1532.
22. *Dobrindt U.* Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. / Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2004. — Vol. 2. — P. 414–424.
23. *Doolittle W. F.* Lateral genomics / Doolittle W. F. // *Trends Cell Biol.* — 1999. — N 9. — P. M5–M9.
24. *Feil E. J.* Recombination within natural populations of pathogenic bacteria: short-term empirical estimates and long-term phylogenetic consequences / Feil E. J., Holmes E. C., Bessen d. E. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98, N 1. — P. 182–187.
25. *Field D.* Databases and software for the comparative genomic study of collection of genomes / Field D., Feil E., Wilson G. // *Microbiology.* — 2005. — Vol. 151. — P. 2125–2132.
26. *Frost L. S.* Mobile genetic elements: the agents of open source evolution / Frost L. S., Lepiae R., Summers A. O., Toussiant A. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2005. — Vol. 3. — P. 722–732.
27. *Funchain P.* Amplification of mutator cells in a population as a result of horizontal transfer / Funchain P., Yeung A., Stewart J. et al. // *J. Bacteriol.* — 2001. — Vol. 183. — P. 3737–3741.
28. *Gevers D.* Re-evaluating prokaryotic species / Gevers D., Cohan F. M., Lawrence J. G. et al. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2005. — Vol. 3. — P. 733–739.
29. *Gogarten J. P.* Prokaryotic evolution in light of gene transfer / Gogarten J. P., Doolittle W. F., Lawrence J. G. // *Molec. Biol. Evol.* — 2002. Vol. 19, N 12. — P. 2226–2338.
30. *Gogarten J. P.* Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution / Gogarten J. P., Townsend J. T. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2005. — Vol. 3. — P. 679–687.
31. *Gophna U.* Weighted genome trees: refinements and application / Gophna U., Doolittle W. F., Charlebois R. L. // *J. Bacteriol.* — 2005. — Vol. 187, N 4. — P. 1305–1316.
32. *Eisen J. A.* Horizontal gene transfer among microbial genomes: new insights from complete genome analysis / Eisen J. A. // *Current Opin. Genet. Dev.* — 2000. — Vol. 10. — P. 606–611.
33. *Grohmann E.* Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria / Grohmann E., Math G., Espinosa M. // *Microbiol. Biol. Rev.* — 2003. — Vol. 67. — P. 277–301.
34. *Hacker J.* Pathogenicity islands and the evolution of microbes / Hacker J., Kaper J. B. // *Annu Rev. Microbiol.* — 2000 — Vol. 54. — P. 641–679.
35. *Hacker J.* Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity / Hacker J., Corniel E. // *EMBO Reports.* — 2001. — Vol. 2, N 5. — P. 376–381.
36. *Hanage W. P.* Fuzzy species among recombinogenic bacteria / Hanage W. P., Fraser C., Spratt B. G. // *BMC Biology.* — 2005. — Vol. 3. — P. 1–7.
37. *Holmes J. A.* The gene cassette metagenome is a basic resource for bacterial genome evolution / Holmes J. A., Gilling M. R., Nield B. S. // *Environ. Microbiol.* — 2003. — Vol. 5, N 5. — P. 383–394
38. *Huson D. H.* Phylogenetic trees based on gene content. / Huson D. H., Steel M. // *Bioinformatics.* — 2004. — Vol. 20. — P. 2044–2049.
39. *Ikeda H.* Illegitimate recombination mediated by double-strand breaks and end-joining in *Escherichia coli* / Ikeda H., Shiraishi K., Ogata Y. // *Advan. Biophys.* — 2004. — Vol. 38. — P. 3–20.
40. *Jain R.* Horizontal gene transfer among genomes: the complexity hypothesis / Jain R., Rivera M. C., Lake J. A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. — Vol. 96. — P. 3801–3806.
41. *Jain R.* Horizontal gene transfer accelerates genome innovation and evolution / Jain R., Rivera M. C., Moore J. E., Lake J. A. // *Mol. Biol. Evol.* — 2003. — Vol. 20. — P. 1598–1602
42. *Jeltsch A.* Maintenance of species identity and controlling speciation of bacteria: a new function for restriction/modification systems / Jeltsch A. // *Gene.* — 2003. — Vol. 317. — P. 13–16.
43. *Kobayashi I.* Behaviour of restriction-modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution / Kobayashi I. // *Nucleic Acids Res.* — 2001. — Vol. 29. — P. 3742–3756.
44. *Koonin E. V.* Horizontal gene transfer in prokaryotes. Quantification and classification / Koonin E. V., Makarova K. S., Arvind L. // *Annu. Rev. Microbiol.* — 2001. — Vol. 55. — P. 709–742.
45. *Kunin V.* The balance of driving forces during genome evolution in prokaryotes / Kunin V., Ouzounis C. A. // *Genome Res.* — 2003. Vol. 13. — P. 1589–1594.

46. *Kurland C. G.* What tangled web: barriers to rampant horizontal gene transfer / Kurland C. G. // *BioEssays*. — 2005. — Vol. 27. — P. 741–747.
47. *Kurland C. G.* Horizontal gene transfer: a critical view / Kurland C. G., Canback B., Berg J. G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2003. — Vol. 100, N 17. — P. 9658–9662.
48. *Lan R.* Intraspecies variation in bacterial genomes: the need for a species genome concept / Lan R., Reeves P. R. // *Trends Microbiol.* — 2000. — Vol. 8. — P. 396–401.
49. *Lawrence J. G.* Genetransfer in bacteria: speciation without species / Lawrence J. G. // *Theor. Popul. Biol.* — 2002. — Vol. 61. — P. 449–460.
50. *Lawrence J. G.* Amelioration of bacterial genomes: rates of change and exchange / Lawrence J. G., Ochman H. // *J. Mol. Evol.* — 1997. — Vol. 44. — P. 383–397.
51. *Lindell D.* Transfer of photosynthesis genes to and from *Prochlorococcus* viruses / Lindell D., Sullivan M. B., Johnson Z. I. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2004. — Vol. 101. — P. 11013–11018.
52. *Lorenz M. G.* Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment / Lorenz M. G., Wackernagel W. // *Microbiol. Rev.* — 1994. — Vol. 58. — P. 563–602.
53. *Majewski J.* Barriers to genetic exchange between bacterial species: *Streptococcus pneumoniae* transformation / Majewski J., Zawadzki P., Plickerill P. [et al.] // *J. Bacteriol.* — 2000. — Vol. 182. — P. 1016–1023.
54. *Mann N. H.* Phages in marine cyanobacterial picophytoplankton / Mann N. H. // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2003. — Vol. 27, N 1. — P. 17–34.
55. *Martin W.* Mosaic bacterial chromosome: a challenge en route to a tree of genomes / Martin W. // *BioEssays*. — 1999. — Vol. 21. — P. 99–104.
56. *Matic I.* Horizontal transfer of mismatch repair genes and the variable speed of bacterial evolution / Matic I., Tenaillon O., Lecoindre G. [et al.] // In: *Horizontal Gene Transfer*. — 2002. — *Academ. Press*. P. 147–155.
57. *McAdams H. H.* The evolution of genetic regulatory systems in bacteria / McAdams H. H., Srinivasan B. S., Arkin A. P. // *Nature Rev. Genet.* — 2004. — Vol. 5. — P. 169–178.
58. *Meier P.* Mechanisms of homology-facilitated illegitimate recombination for foreign DNA acquisition in transformable *Pseudomonas stutzeri* / Meier P., Wackernagel W. // *Mol. Microbiol.* — 2003. — Vol. 48. — P. 1107–1118.
59. *Moran N. A.* Microbial minimalism: genome reduction in bacterial pathogens / Moran N. A. // *Cell*. — 2002. — Vol. 108. — P. 583–586.
60. *Nakamura Y.* Biased biological functions of horizontally transferred genes in prokaryotic genomes / Nakamura Y., Itoh T., Matsuda H., Gojobori T. // *Nature Genet.* — 2004. — Vol. 36, N 7. — P. 760–766.
61. *Ochman H.* Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation / Ochman H., Lawrence J. C., Groisman A. E. // *nature*. — 2000. — Vol. 405. — P. 299–304/
62. *Olendzenski L.* Horizontal gene transfer: a new taxonomic principle? / Olendzenski L., Zhaxybayeva O., Gogarten J. P. // *Horizontal Gene Transfer*. — 2002. — *Acad. Press*. — P. 427–435
63. *Piel J.* Evidence for a symbiosis island involved in horizontal acquisition of pederin biosynthetic capabilities by the bacterial symbiont of *Paederus* beetles / Piel J., Hofer Y., Hui D. // *J. Bacteriol.* — 2004. — Vol. 186. — P. 1280–1286.
64. *Prudhomme M.* Homologous recombination at the border: insertion-deletion and the trapping of foreign DNA in *Streptococcus pneumoniae* / Prudhomme M., Libante V., Claverys J. P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2002. — Vol. 99. P. 2100–2105.
65. *Rayssiguer C.* The barrier to recombination between *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* is disrupted in mismatch-repair mutants / Rayssiguer C., Thaler D. C., Radman M. // *Nature*. — 1989. — Vol. 342. — P. 396–401.
66. *Riesenfeld C. S.* Metagenomics: genomic analysis of microbial communities / Riesenfeld C. S., Schloss P. D., Handelsman J. // *Ann. Rev. Genet.* — 2004. — Vol. 38. — P. 525–552/
67. *Rowe-Magnus D. A.* Integrons: natural tools for bacterial genome evolution / Rowe-Magnus D. A., Mazel D. // *Current Opin. Microbiol.* — 2001. — Vol. 4. — P. 565–569.
68. *Schmidt H.* Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis / Schmidt H., Hensel M. // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2004. — Vol. 17. — P. 14–56.
69. *Schneider D.* Dynamics of insertion sequence elements during experimental evolution of bacteria / Schneider D., Lenski R. E. // *Research Microbiol.* — 2004. — Vol. 155. — P. 319–327.
70. *Sorensen S. J.* Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review / Sorensen S. J., Bailey M., Hansen L. [et al.] // *Nature Rev. Microbiol.* — 2005. — Vol. 5. — P. 700–710.
71. *Thomas C. M.* Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria / Thomas C. M., Nielsen K. M. // *Nature Rev. Microbiol.* — 2005. — Vol. 3. — P. 711–721.
72. *Top E. M.* The role of mobile genetic elements in bacterial adaptation to xenobiotic organic compounds / Top E. M., Springael D. // *Current Opin. Biotech.* — 2003. — Vol. 14. — P. 262–269.
73. *Townsend J. P.* Horizontal acquisition of divergent chromosomal DNA in bacteria: effects of mutator phenotypes / Townsend J. P., Nielsen K. M., Fisher D. S. [et al.] // *Genetics*. — 2003. — Vol. 164. — P. 13–21.

74. *Velkov V. V.* How environmental factors regulate mutagenesis and gene transfer in microorganisms / Velkov V. V. // *J. Biosci.* — 1999. — Vol. 24. — P. 529–559.
75. *Vulic M.* Molecular keys to speciation: DNA polymorphism and control of exchange to enterobacteria / Vulic M., Dionisio F., Tazddei F., Radman M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — Vol. 94. — P. 9763–9769.
76. *Wilson G. A.* Orphans as taxonomically restricted and ecologically important genes / Wilson G. A., Bertrand N., Patel Y. // *Microbiology.* — 2005. — Vol. 151. — P. 2499–2501.
77. *Woese C. R.* Interpreting the universal phylogenetic tree / Woese C. R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* — 2000. — Vol. 97. — P. 8392–8396.
78. *Zhaxybayeva O.* Genome mosaicism and organismal lineages / Zhaxybayeva O., Lapierre P., Gogarten J. P. // *Trends Genet.* — 2004. — Vol. 20, N 5. — P. 254–260.

#### HOW DOES THE HORIZONTAL GENE TRANSFER IN BACTERIA OCCUR AND THAN IS IT TIED UP

*S. V. Shestakov*

✿ **SUMMARY:** Horizontal gene transfer as well as mutations, genomic reorganization and gene loss is one of major driving forces of speciation and evolution of bacteria. A notion of definition of “species genome” is presented. The role of various types of mobile elements in distant gene transfer is considered. The nature of barriers for successful gene transfer on the level of molecular, cell and population processes is uncovered. A special attention is paid to the contribution of different systems of recombination. Hypothesis on the decisive role of horizontal gene transfer in genetic and ecological diversification of bacteria is discussed.

✿ **KEY WORDS:** evolution bacteria, genomics horizontal gene transfer, mobile elements, recombination