

- lanceolata*, [*Aquaspirillum*] *delicatum* and [*Aquaspirillum*] *autotrophicum* as *Herbaspirillum huttiense* comb. nov. and *Herbaspirillum autotrophicum* comb. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2004. - Vol. 56. - P. 1341-1348.
5. Roberts M.S., Nakamura L. K., Cohan F.M. *Bacillus vallismortis* sp. nov., a close relative of *Bacillus subtilis*, isolated from soil in Death Valley, California. // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1996. - Vol. 46. - P. 470-475.
  6. Rothballer M., Schmid M., Klein I., Gattinger A., Grundmann S., Hartmann A. *Herbaspirillum hiltneri* sp. nov. isolated from surface-sterilized wheat roots. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 54. - P. 2223-2230.
  7. Zeigler D.R. Gene sequences useful for predicting relatedness of whole genomes in bacteria. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 54. - P. 2223-2230.
  8. Ciccarelli F.D., Doerks T., von Mering C., Creevey C.J., Snel B., Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. // Science. - 2006. - V.311. - P. 1283-1287.
  9. Olive D.M., Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. // J. Clin. Microbiol. - 1999. - Vol. 37. - P.1661-1669.
  10. Naser S.M., Hagen K.E., Vancanneyt M., Cleenwerck I., Swings J, Tompkins T.A. *Lactobacillus suntoryeus* Cachat and Priest 2005 is a later synonym of *Lactobacillus helveticus* (Orla-Jensen 1919) Bergey *et al.* 1925 (Approved Lists 1980). // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2006. - Vol. 56. - P.355-360.

## ЧАСТОТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОДОНОВ АРГИНИНА В ГЕНОМАХ ПРОКАРИОТ КАК СВИДЕТЕЛЬСТВО РАННЕ СУЩЕСТВОВАВШЕГО СИЛЬНОГО МУТАЦИОННОГО ДАВЛЕНИЯ

**Е.В. Барковский, В.В. Хрусталёв**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь*  
*vvkhrustalev@mail.ru*

Для большинства прокариотических организмов (бактерий и архей) характерно относительно равномерное распределение GC-насыщенности между всеми кодирующими участками генов. Тем не менее, практически у всех бактерий и архей существуют небольшие по размеру «геномные островки», гены в которых существенно отличаются по содержанию гуанина и цитозина от остальных генов данного генома. К тому же, среди всех полностью просеквенированных на данный момент геномов прокариот встречаются исключения из описанной выше закономерности: геномы, GC-насыщенность генов в которых существенно варьирует без видимой связи с локализацией.

В данной работе мы использовали 20 полностью просеквенированных геномов архей (*Halobacterium sp.*; *Natronomonas pharaonis*; *Haloarcula marismortui*; *Haloquadratum walsbyi*; *Methanopyrus kandleri*; *Thermofilum pendens*; *Aeropyrum pernix*; *Pyrobaculum arsenaticum*; *Thermococcus kodakarensis*; *Pyrobaculum aerophilum*; *Methanothermobacter thermautotrophicus*; *Archaeoglobus fulgidus*; *Metallosphaera sedula*; *Pyrococcus abyssi*; *Pyrococcus furiosus*; *Thermoplasma volcanium*; *Picrophilus torridus*; *Sulfolobus solfataricus*; *Sulfolobus tokodaii*; *Nanoarchaeum equitans*) и 20 геномов бактерий (*Rubrobacter xylanophilus*, *Thermus thermophilus*; *Mycobacterium tuberculosis*; *Pseudomonas syringae*; *Treponema pallidum*; *Neisseria meningitidis*; *Shigella flexneri*; *Yersinia pestis*; *Vibrio cholerae*; *Nostoc sp.*; *Streptococcus pyogenes*; *Lactococcus lactis*; *Bacillus cereus*; *Staphylococcus aureus*; *Thermotoga maritima*; *Aquifex aeolicus*; *Thermoanaerobacter tengcongensis*; *Clostridium perfringens*; *Borrelia burgdorferi*; *Mycoplasma mycoides*), характеризующихся относительно равномерным распределением GC-насыщенности между кодирующими участками.

В электронной базе данных Codon Usage Database [1] хранятся листы с частотами использования кодонов в каждом кодирующем участке генома организма данного вида. Специально для обработки данных, находящихся в таких листах, нами был разработан алгоритм «Coding Genome Scanner», оформленный в виде электронной таблицы MS Excel. «Coding Genome Scanner» доступен через наш сайт: [www.barkovsky.hotmail.ru](http://www.barkovsky.hotmail.ru).

В данной работе были использованы следующие показатели: **G+C** – средняя частота использования гуанина и цитозина в кодирующем геноме; **1GC**, **2GC** и **3GC** – частоты

использования гуанина и цитозина в первых, вторых и третьих положениях кодонов, соответственно; **Arg4** – частота использования кодонов из квартета аргинина (CGA, CGT, CGG и CGC); **Arg2** – частота использования кодонов из дуплета аргинина (AGA и AGG).

Аргинин кодируется шестью кодонами. Четыре из них (квартет, Arg4) являются относительно GC-богатыми (в первом и во втором положении этих кодонов – цитозин и гуанин, соответственно). Ещё два кодона (дуплет, Arg2) являются относительно GC-бедными (гуанин только во втором положении). Превращаться друг в друга кодоны дуплета и квартета могут путём трансверсий С на А и А на С в первых положениях. Логично предположить, что у организмов с высокой GC-насыщенностью для кодирования аргинина должны преимущественно использоваться GC-богатые кодоны из квартета. У организмов, обеднённых гуанином и цитозином, – GC-бедные кодоны из дуплета. Как показали наши исследования, эта логичная закономерность действительно выполняется и у архей, и у бактерий. Требующим серьёзного анализа является факт неравномерного использования Arg2 и Arg4 у бактерий и архей со средними значениями GC-насыщенности.

В чём может быть причина того, что у бактерий со средними значениями G+C для кодирования аргинина используется преимущественно квартет, а у архей – дуплет, если зависимости частот использования кодонов дуплета и квартета аргинина от числа копий соответствующих тРНК у проанализированных нами бактерий и архей не выявлено?

Ответ на этот вопрос можно найти при анализе «выпадающих» из этой закономерности организмов.

К группе GC-насыщенных архей (*Halobacterium sp.* – G+C = 0,679; *Natronomonas pharaonis* – G+C = 0,638; *Haloarcula marismortui* – G+C = 0,623) филогенетически близок *Haloquadratum walsbyi* [2], G+C которого равно 0,488. Снижение G+C, по-видимому, произошло в геноме *Haloquadratum walsbyi* в относительно недавнем эволюционном прошлом. По уровням 1GC и 2GC *Haloquadratum walsbyi* и три перечисленных выше родственных организма по-прежнему близки. GC-насыщенность *Haloquadratum walsbyi* снизилась в основном за счёт падения уровня 3GC (у трёх GC-богатых архей этот показатель варьирует от 0,757 до 0,873; у *Haloquadratum walsbyi* 3GC = 0,421). При этом частота использования Arg4 у *Haloquadratum walsbyi* по-прежнему намного выше, чем частота использования Arg2 (Arg4 = 53,54; Arg2 = 5,39).

Исходя из теории о мутационном давлении [3], получается, что преимущественное направление нуклеотидных замен у *Haloquadratum walsbyi* изменилось на противоположное: в геноме его предшественника, как и у родственных архей, преобладали замены АТ на GC, а относительно недавно стали преобладать замены GC на АТ. У подавляющего большинства организмов экстремально высокий уровень GC-насыщенности был достигнут за счёт высоких частот возникновения трансверсий АТ на GC. Именно благодаря трансверсиям в кодонах дуплета аргинина мог быть достигнут рост Arg4 и падение Arg2. После исчезновения причины высоких частот возникновения трансверсий АТ на GC в геноме *Haloquadratum walsbyi* (вероятнее всего, произошла мутация в гене-мутаторе), GC-насыщенность стала падать за счёт транзиций GC на АТ. В третьих положениях кодонов такие транзиции (в силу своей синонимичности) фиксировались гораздо чаще, чем во вторых и в первых. В результате, G+C снизилось за счёт падения 3GC, уровни 1GC и 2GC уменьшились незначительно, а разрыв между Arg4 и Arg2 остался таким же, как у GC-богатых архей (Arg4 >> Arg2).

Необходимо уточнить, что у подавляющего большинства архей с GC-насыщенностью от 0,578 и ниже частота использования Arg2 значительно выше, чем частота использования Arg4. Перекрёст частот использования Arg2 и Arg4 в нашей выборке архей расположен между G+C = 0,578 и G+C = 0,608.

Прямо противоположная ситуация была обнаружена нами в геноме бактерии *Thermotoga maritima*. Соотношение Arg4 и Arg2 в её геноме такое же, как у большинства архей со

средними значениями G+C (Arg4 << Arg2), что, как мы уже говорили, не характерно для бактерий. Значение 3GC у *Thermotoga maritima* равно 0,522 при относительно низких уровнях 1GC и 2GC. Перекрест между Arg4 и Arg2 в нашей выборке бактерий расположен между G+C = 0,330 и G+C = 0,291. GC-насыщенность *Thermotoga maritima* равна 0,461, а соотношение Arg4 и Arg2 в её геноме такое же, как у экстремально GC-бедных бактерий. По аналогии с историей эволюции *Haloquadratum walsbyi*, можно предположить, что в геноме у предка *Thermotoga maritima* существовало сильное мутационное АТ-давление, сменившее своё направление на прямо противоположное в недавнем прошлом.

Судя по геномам *Haloquadratum walsbyi* и *Thermotoga maritima*, большой разрыв между частотами использования Arg4 и Arg2 является своего рода «следом» пребывания в условиях сильного мутационного давления.

Признаком сильного мутационного GC-давления является экстремальная GC-насыщенность третьих положений кодонов в большинстве генов данного генома. Вследствие этого замены АТ на GC гораздо чаще происходят в первых и во вторых положениях кодонов, чем в третьих положениях, которые уже насытились гуанином и цитозином. Проявлением сильного мутационного давления является высокая частота несинонимичных нуклеотидных замен.

По нашим данным, геномы бактерий несут в себе след пребывания их общего предшественника под воздействием сильного мутационного GC-давления, которое могло вызвать в его геноме мутации, приведшие к тому, что его потомки образовали отдельное царство живых организмов.

Геномы архей несут в себе след пребывания их общего предшественника под воздействием сильного АТ-давления. Этот процесс, повышающий частоту несинонимичных и нонсенс мутаций, мог явиться причиной возникновения особенностей, характеризующих царство архей.

Отдельные прокариотические организмы (*Haloquadratum walsbyi* и *Thermotoga maritima*) «прошли» через сильное мутационное давление противоположного направления в недавнем эволюционном прошлом.

1. Y. Nakamura et al. Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases: status for the year 2000 // Nucl. Ac. Res. – 2000. – Vol.28. – N.1. – P.292.
2. S. Cuadros-Orellana et al. Genomic plasticity in prokaryotes: the case of the square haloarchaeon // *The ISME Journ.* – 2007. – Vol.1. – P.235–245.
3. N. Sueoka, Directional mutation pressure and neutral molecular evolution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1988. – Vol.85. – P.2653–2657.

## **РАЗНООБРАЗИЕ ПОЧВЕННОГО АЗОТФИКСИРУЮЩЕГО СООБЩЕСТВА МИКРОСИМБИОНТОВ ЛЮЦЕРНЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ**

**В.С. Белова**

*ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, С.-Петербург-Пушкин-8, Россия  
genet@yandex.ru*

Восстановление деградированных почв, в том числе и засоленных, особенно остро стоит для южных районов России. Перспективным экологически чистым подходом для решения проблемы засоленности почв может стать выращивание бобовых растений, некоторые из которых являются умеренными галотолерантами. Бобовые способны накапливать азот из атмосферы в результате их симбиоза с клубеньковыми бактериями (ризобии). Вместе с тем, ризобии способны существовать в почве в сапрофитном состоянии. Известно, что почвенное сообщество может составлять до 7000 различных видов микроорганизмов, однако, данные о популяциях ризобий, составляющих существенное меньшинство в почвенных