

В. Е. РЕПИН, В. В. ВЛАСОВ

ПУТЕШЕСТВИЕ В НЕВИДИМЫЙ МИР

Человеку свойственно во всем искать начало начал. Чтобы заглянуть в истоки жизни, нужно найти тех простых прародителей, от которых все и пошло на Земле. Можно, правда, упростить себе задачу, перенести ее решение на гипотетических представителей других цивилизаций или же на Промысел Божий. Для этого есть все основания, а исследования и находки последних лет документально подтверждают наличие структур, схожих с биологическими, в метеоритах. Однако, когда даже за отпущенный нам короткий жизненный срок замечаешь признаки изменения, черты эволюционирования в природе, очень хочется попытаться восстановить последовательность событий, которые происходили почти 4 млрд лет назад. Существуют ли сейчас на Земле организмы, несущие признаки прародителей? Да, и это — микроорганизмы

А у нас на площади памятник *Escherichia coli* поставили в натуральную величину...

*Из фольклора наукограда
Кольцово (Новосибирск)*

Скрытое от глаз невообразимое множество крошечных созданий буквально окружает нас со всех сторон. Куда бы мы ни обратили свой взор, везде в том или ином виде мы встречаемся со следами их жизнедеятельности. Число прокариотов (простых одноклеточных микроорганизмов без клеточного ядра) достигает примерно 5×10^{30} клеток (Whitman et al., 1998). А это означает, что лопата дачной земли содержит больше микроорганизмов, чем на планете живет людей.

Микроорганизмы обитают во всех средах и во всех местах; трудно представить себе уголок на Земле, где не было бы этих буквально вездесущих созданий. И с определенной долей скептицизма с последним

утверждением можно согласиться. Обязательно добавив при этом, что микроорганизмы живут везде, где есть вода в жидком состоянии, и не всегда «живут», но иногда «выживают». Эта вера во «всемогущество» микроорганизмов перевернула человеческое мировоззрение: теперь любой намек на существование воды на различных планетах расценивается как неколебимое доказательство существования жизни. Здесь будет уместно привести известный афоризм знаменитого живого классика: «Где есть жизнь, там есть микробы» (Woese, 1994). Так что же уникального в этих «братьях наших меньших» в эволюционном смысле, кроме их действительно малых размеров?

Земные инопланетяне

Одно из необычных отличий микроорганизмов от всех остальных живых созданий на Земле — это их потенциальное бессмертие. Типичный для микроорганизмов процесс размножения — бинарное деление, т. е.



РЕПИН Владимир Евгеньевич — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск). Автор более 300 научных публикаций, 78 изобретений. Дважды награжден медалью «Изобретатель СССР»



ВЛАСОВ Валентин Викторович — академик, доктор химических наук, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, заведующий кафедрой молекулярной биологии Новосибирского государственного университета, лауреат Государственной премии РФ

простое деление надвое. А это означает, что у микроорганизма нет предшественника, умерших предков.

Бактерии, живущие сейчас, несут в себе, в своем геноме, все изменения, происходившие именно с ними, а не с их почившими в бозе родителями: такая своеобразная «летопись» жизни. Микроорганизмы, по существу, «клонированы», они равнозначны, как в следующем поэтическом опусе: «Раз бактерия моя поделилась втихаря. Высыпать бы ей впору, но как понять, которой?»

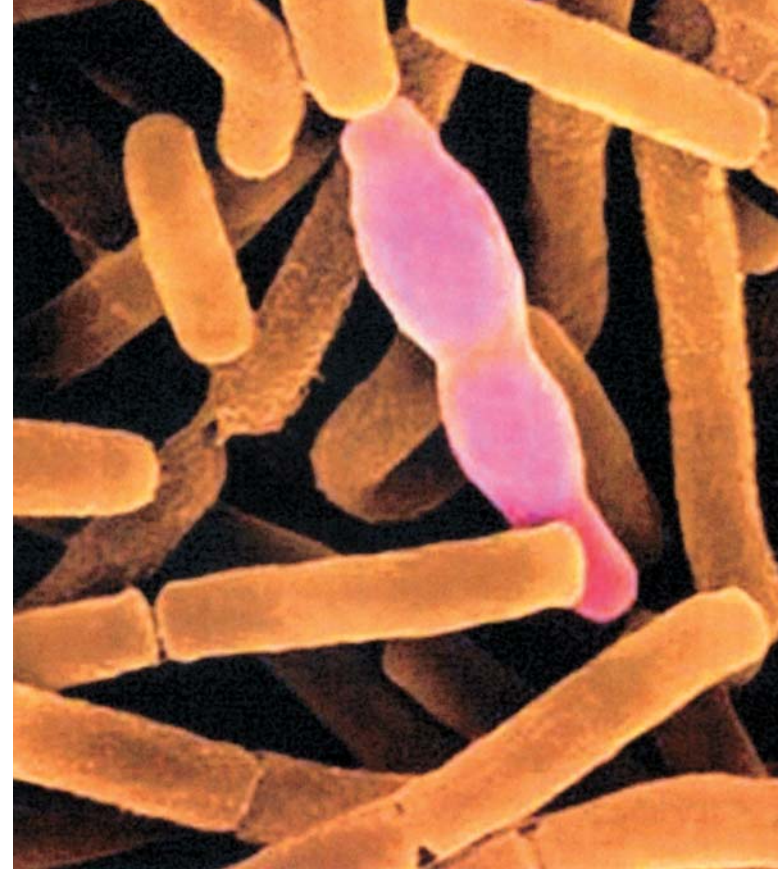
Именно благодаря этому свойству столь интересно изучать микроорганизмы, обитающие в условиях, максимально схожих с теми, что существовали на древней Земле, в местах, как можно меньше подверженных влиянию человека. Вследствие такого способа размножения у микроорганизмов также отсутствует онтогенез (индивидуальное развитие) в привычном понимании этого слова.

Следующее уникальное свойство — высокие скорости деления в благоприятных условиях. Рекордсмены удваивают свою численность за 10 минут, а кишечная

палочка *Escherichia coli*, традиционный объект исследования генных инженеров, — за полчаса. Простой арифметический подсчет показывает, что только за сутки одна бактерия может породить сонм себе подобных, число которых может в сотни и тысячи раз превышать численность всех других обитателей Земли.

Столь быстрые темпы деления компенсируются другим качеством микроорганизмов: способностью длительное время находиться в неактивном, анабиотическом состоянии. Эти периоды стагнации могут достигать десятков и сотен миллионов лет (Сапо et al., 1995). И если в состоянии подобного анабиоза в клетках не происходит каких-либо существенных перестроек генома, то это означает, что в природе существуют особи, биологические часы которых остановились на этот период. (Для контраста: возраст самого человечества оценивается приблизительно в 4,4 млн лет.)

Обращает на себя внимание и следующее свойство микроорганизмов: их полная зависимость от условий



На вкус и цвет товарищей нет

Подробное рассмотрение проблемы возникновения жизни в древних экстремальных условиях Земли выходит за рамки этой статьи. Мы же опираемся на следующее предположение: если наша планета была постепенно охлаждающимся огненным шаром, то наилучшими кандидатами на роль прародителей из ныне существующих на Земле организмов являются экстремофильные микроорганизмы, т. е. обитатели мест с экстремальными условиями.

Одним из перспективных мест для возникновения жизни считаются глубоководные термальные

Микроорганизмы можно найти даже в таких малопривлекательных на первый взгляд местообитаниях, как эта горячая грязевая ванна. Долина гейзеров, Камчатка



Змеи любят тепло. Аллинские источники, Бурятия

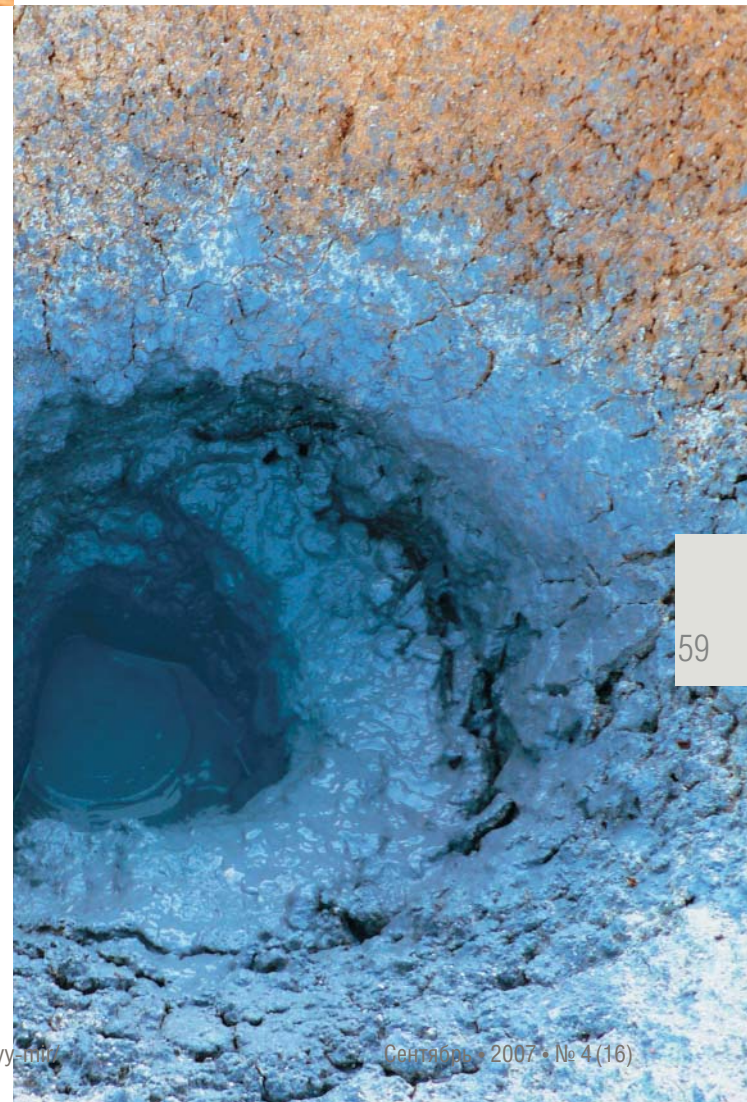
Делящиеся и спорулирующие клетки *Bacillus anthracis*, возбудителя сибирской язвы

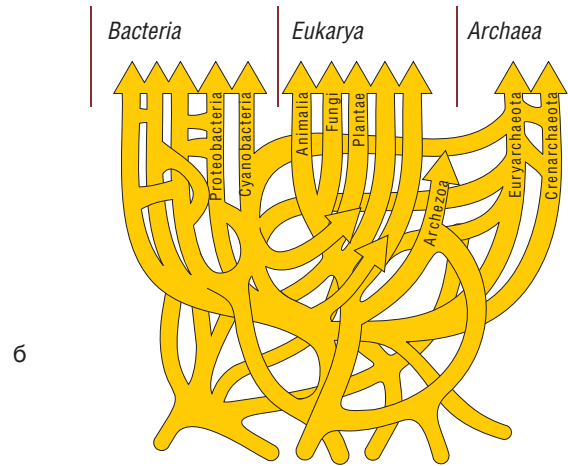
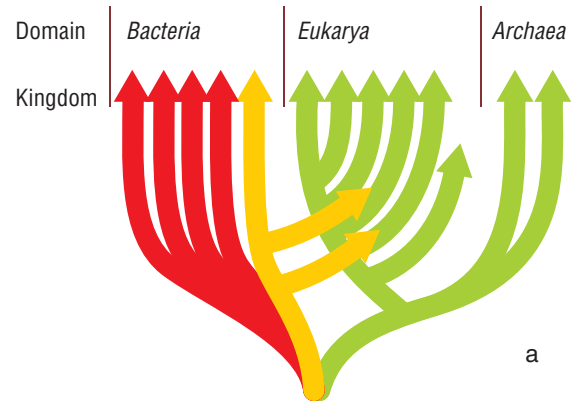
существования. Именно изменение среды обитания во времени приводит к появлению новых форм этих организмов; с другой стороны, результатом обитания в относительно стабильной среде является крайняя консервативность генома, как, например, у тех же обитателей кишечника энтеробактерий *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* по сравнению с представителями рода свободноживущих почвенных бацилл.

Что касается генома микроорганизмов, то для него также характерны достаточно жесткие ограничения по объему при необычайно высокой информационной плотности: у бактерий 90—95 % генома кодируют белки или стабильные РНК.

Кроме того, микроорганизмы обладают несопоставимо большими возможностями по обмену генетического материала (так называемый латеральный перенос), который практически не ограничен внутривидовыми и даже межцарственными генетическими барьерами.

И конечно, одним из важных и наиболее бросающихся в глаза свойств этих организмов является их огромное разнообразие. Создается впечатление, что у них существует своего рода «мегагеном», благодаря чему при определенных условиях могут быть реализованы практически любые, не противоречащие друг другу, комбинации генов.





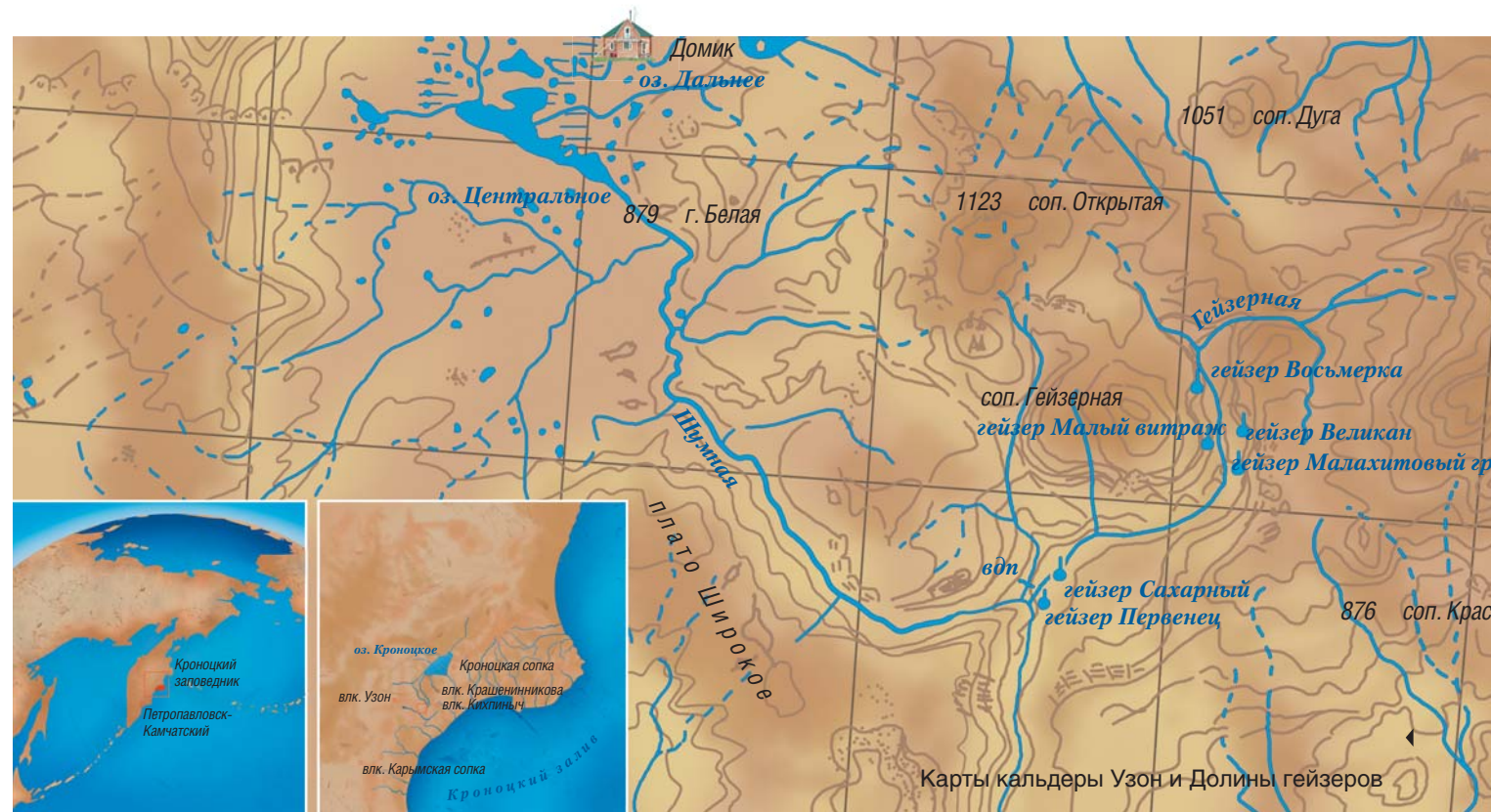
«Дерево жизни», отражающее эволюционные взаимоотношения между организмами:
 а — по Woese (1970);
 б — представление 1990—2000 гг.;
 в — современное (образное) представление



венты, представляющие собой выбросы горячих вод над земными разломами (Fliermans, Balkwill, 1989; Добрецов, 2005). В них жизнь не только защищена от стерилизующего действия метеоритов и космической радиации, но также имеет постоянный источник энергии и углерода. Косвенным подтверждением этого может служить тот факт, что если в каких-либо микробиологических таксонах присутствуют термофильные виды, то они, как правило, являются в них самыми древними представителями.

Таблица факторов среды и соответствующих параметров устойчивости экстремофильных микроорганизмов. Экстремальными факторами могут выступать также давление, гравитация, влажность и т. п.

Фактор среды	Категории микроорганизмов	Допустимые параметры среды	Примеры микроорганизмов
Температура	гипертермофилы	Рост при > 80 C°	<i>Pyrolobus fumarii</i>
	термофилы	60—80 C°	<i>Thermus aquaticus</i>
	мезофилы	15—60 C°	<i>Bacillus subtilis</i>
	психрофилы	< 15 C°	<i>Psychrobacter</i>
Кислотность (pH)	алкалофилы	pH > 8,5	<i>Bacillus firmus</i>
	ацидофилы	pH < 5	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Соленость	галофилы	2—5 M соль	<i>Halobacterium</i>
Радиация	радиостойчивые		<i>Deinococcus radiodurans</i>



Радуга Малахитового грота. Долина гейзеров, Камчатка

Нужно сказать, что само понятие экстремофильности дискуссионно и нуждается в пояснении, поскольку оно несет на себе печать антропоцентризма. Например, обычная для нас температура в 30 °С для гипертермофильных организмов будет экстремальным значением фактора, а уже при температуре 21 °С многие из них погибнут.

Где же сохранились, и сохранились ли вообще на нашей планете условия, приближенные к тем, что существовали на ранней стадии развития Земли? Учитывая описанные ранее удивительные свойства микроорганизмов, мы могли бы исследовать именно этих обитателей «реликтовых» мест, которые должны были сохранить в своем геноме архаичные черты. Далее, используя редуционистский подход, можно было бы путем сравнения геномов (или их частей) построить «универсальное дерево жизни», отражающее филогенетическое родство микроорганизмов.

Однако на основе уже имеющихся данных видно, что для бактерий невозможно построить «генеалогическое

древо», как это удалось сделать для высших организмов. «Древо» микроорганизмов сначала напоминало заросший кустарник, а к настоящему времени превратилось в подобие цветка семейства сложноцветных или рваной рыболовной сети со множеством ячеек.

Охотники за микробами

Наша страна представляет собой территорию с огромным разнообразием необычных местообитаний — от зоны вечной мерзлоты до гейзеров и вулканов.

Гейзеры — явление настолько же красивое, насколько и редкое. Крупные гейзеры есть только в Исландии, в Йеллоустонском парке США и в Новой Зеландии, небольшие — в Калифорнии, Японии и на Тибете. В нашей стране наибольшая концентрация дымящихся гейзеров и горячих источников отмечена на востоке: на Камчатке. Одним из перспективных мест для изучения реликтовых сообществ является Кроноцкий заповедник, где

Селевой поток, перегородив реку Гейзерную, способствовал образованию живописного озера, предварительно названного «Нежданном»

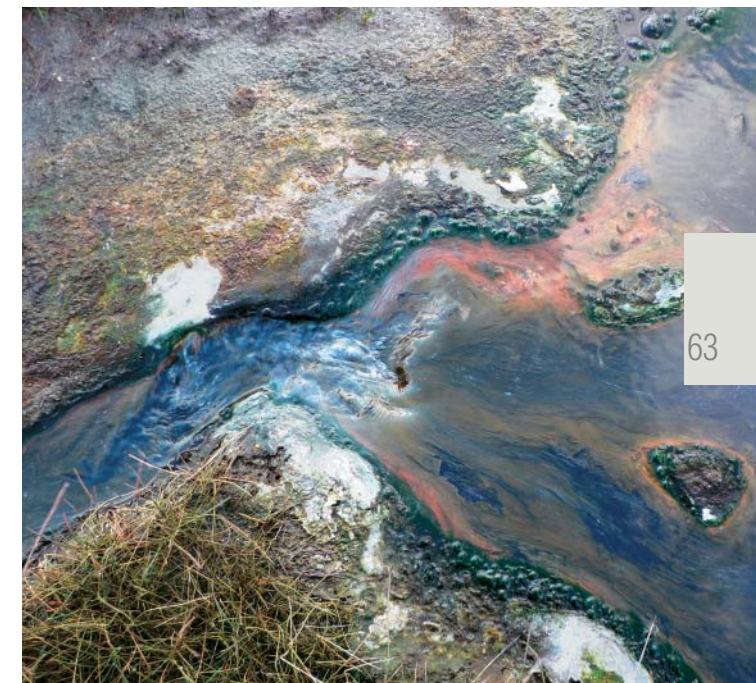


Селевый поток приблизился к стационару Кроноцкого заповедника вплотную, полностью уничтожив две вертолетные площадки.
Долина гейзеров, Камчатка

Краски кальдеры Узон

расположено 12 активно действующих вулканов (в том числе Кроноцкая сопка высотой 3 528 м), термальные озера, водопады, а также почти сотня гейзеров. Наиболее интересными для исследователей являются расположенные недалеко друг от друга Долина гейзеров и пахнущая сероводородом кальдера вулкана Узон*.

В долине реки Гейзерной отмечено и гидрохимически опробовано более 200 горячих источников. Все они являются пульсирующими, т.е. не обладают постоянным расходом воды. Около 90 источников относится к гейзерному типу, т.е. имеет циклический характер деятельности, когда в течение одного цикла период активности сменяется фазой покоя, во время которой



* Подробнее см.: НАУКА из первых рук. — 2007. — № 1 (13).



а

на поверхность источника не поступает ни пар, ни вода. Около 30 таких крупных источников имеет свои собственные названия.

Важным достоинством Долины гейзеров для исследователей является ее удаленность от обитаемых мест и труднодоступность. Кроме того, в настоящее время Долина гейзеров относится к особо охраняемым природным объектам.

В августе 2006 г. в рамках междисциплинарного интеграционного проекта «Происхождение и эволюция жизни на Земле: физико-химические, геологические, палеонтологические и биологические проблемы» состоялась научная экспедиция в Кроноцкий заповедник

(Репин и др., 2007). Во время экспедиции в Долину гейзеров было отобрано и транспортировано в Новосибирск более 200 образцов воды, глины, грязи, почвы из гейзеров, горячих источников, а также из грязевых вулканов и грязевых ванн. Кроме того, «охотники за микробами» на вертолетах дважды посетили кальдеру Узон, которая является местообитанием уникальных микроорганизмов.

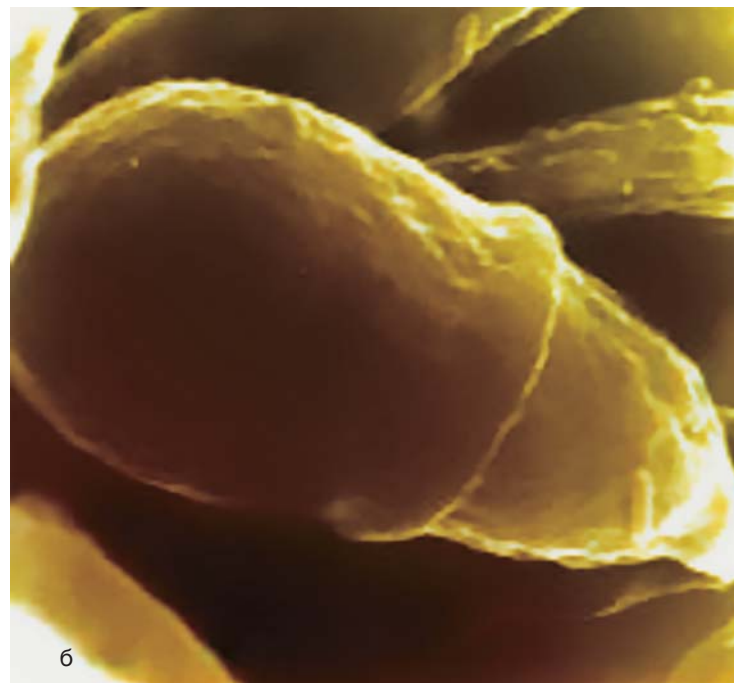
Экспедиция состоялась как нельзя кстати: уже на следующий год мощный селевой поток, прошедший по руслу реки Водопадной, неузнаваемо изменил облик Долины гейзеров. Под завалами были погребены гейзеры «Сахарный», «Сосед», «Удачный»; исчезли «30-метровый водопад» и «Джакузи»; до сих пор не работает гейзер «Малый», а «Большой» к настоящему времени начинает проявлять лишь первые, слабые признаки возрождения.

Селевой поток, перегородив реку Гейзерную, принес не только разрушения: благодаря ему в Долине гейзеров образовалось живописное озеро, предварительно окрещенное нами «Нежданным».

Что мы узнали?

Через год после нашей экспедиции настало самое время подвести некоторые итоги, пусть и предварительные.

Нужно сказать, что необычные условия жизни закономерно порождают необычные микроорганизмы и необычные трофические (пищевые) связи в сообществах.



б

Ловчая петля (а) и конидия (орган размножения) (б) хищного гриба вида *Arthrobotrys oligospora*. Автор штамма Т. Теплякова. Электронный микроскоп

№	Традиционные методы	FAME анализ	Индекс подобия	16S RNA	Гомология
1	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	0,612	<i>Pseudomonas halodenitrificans</i>	98 %
2	<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	0,594	<i>Alcaligenes</i> sp.	97 %
3	<i>Bacillus</i> sp.	—	—	<i>Bacillus anthracis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i>	100 %
4	<i>Cellulomonas</i> sp.	<i>Cellulomonas turbata</i>	0,389	Не обнаружено какого-либо подобия с <i>Cellulomonas</i>	—
5	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	0,612	<i>Pseudomonas halodenitrificans</i>	98 %
6	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Cellulomonas turbata</i>	0,318	<i>Pseudomonas halodenitrificans</i>	95 %
7	<i>Flavobacterium</i> sp.	<i>Flavobacterium jonsoniae</i>	0,022	<i>Flavobacteriaceae</i> str. EP105, <i>Flavobacterium</i> sp. AMS2	95 % 95 %

Сравнительный анализ штаммов микроорганизмов, полученных при изучении мозга Юкагирского мамонта разными методами. Поразительно, но ранее хорошо зарекомендовавшие себя методы идентификации микроорганизмов в ряде случаев показали различающиеся результаты (Репин et al., 2007)

Причем это касается не только экстремальных температур. Например, микробиологические исследования кернов глубокого бурения на озере Байкал показали, что более 40 % бактерий и около 70 % грибов, которые удалось культивировать, обладали сочетанием биохимических признаков, отличавших их от всех ранее описанных на Земле микроорганизмов (Репин et al., 2001). То есть речь идет о новых видах в традиционном понимании этого слова.

Удивительные результаты были получены и при микробиологическом исследовании мозга так называемого Юкагирского мамонта, возраст которого оценивается в 18 тыс. лет, причем, судя по состоянию тканей, останки не размораживались в течение всего этого периода (Репин и др., 2007).

Поразительным оказалось то, что ранее хорошо зарекомендовавшие себя методы идентификации микроорганизмов в ряде случаев показали различающиеся результаты (Репин et al., 2007).

Аналогичные расхождения были отмечены и при исследовании древних микроорганизмов, извлеченных из насекомых, застывших в янтаре (Greenblatt et al., 1999). В некоторых случаях удалось выявить своего рода комбинаторные сдвиги, когда ожидаемые характеристики штамма были как бы подменены другими, принадлежащими к од-

ком исследовании мозга так называемого Юкагирского мамонта, возраст которого оценивается в 18 тыс. лет, причем, судя по состоянию тканей, останки не размораживались в течение всего этого периода (Репин и др., 2007).

Поразительным оказалось то, что ранее хорошо зарекомендовавшие себя методы идентификации микроорганизмов в ряде случаев показали различающиеся результаты (Репин et al., 2007).

Аналогичные расхождения были отмечены и при исследовании древних микроорганизмов, извлеченных из насекомых, застывших в янтаре (Greenblatt et al., 1999). В некоторых случаях удалось выявить своего рода комбинаторные сдвиги, когда ожидаемые характеристики штамма были как бы подменены другими, принадлежащими к од-

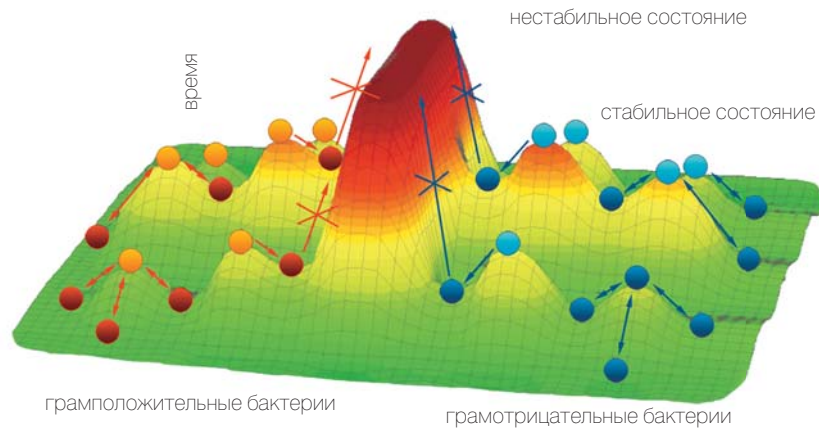


Голова Юкагирского мамонта — объект для микробиологического исследования

ному, достаточно ограниченному, пулу признаков. Это послужило поводом для предположения, которое сделали авторы: даже в янтаре идут эволюционные изменения генотипа на уровне обмена информацией, а это может косвенно объяснить выживание микроорганизмов в изолированных условиях в течение нескольких десятков миллионов лет.

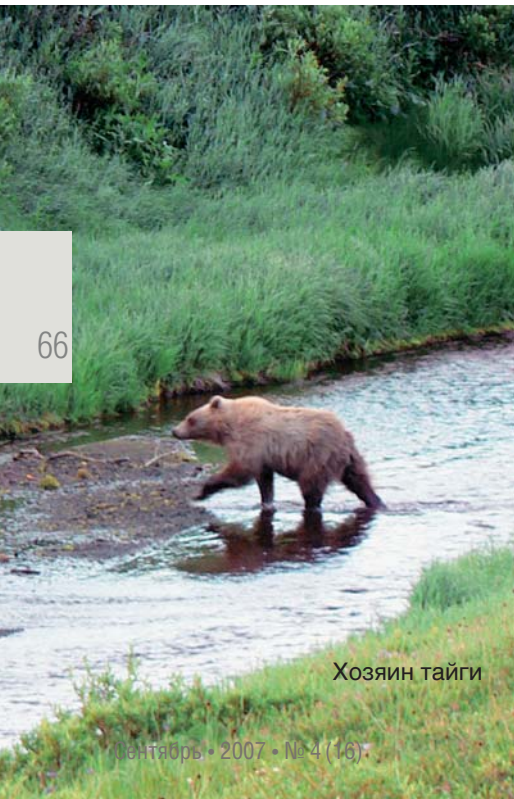
Важное наблюдение было сделано при анализе проб одного из горячих источников Камчатки. Среди найденных микроорганизмов был проведен массовый поиск штаммов, производящих определенные ферменты рестрикции-модификации нуклеиновых кислот. При этом был обнаружен продуцент редкого фермента, который «узнавал» и расщеплял последовательность нуклеотидов 5'-CCNNNNN[^]NNGG-3'.

Через 10 лет из того же самого источника были вновь отобраны пробы и проведены аналогичные исследования. Среди прочих продуцентов этих ферментов были найдены и бактерии с ранее обнаруженной специфичностью. Причем таких микроорганизмов было



Теорию пластичности геномов и стабильных состояний (Repin et al., 2001) можно упрощенно проиллюстрировать схемой, где шарики обозначают популяции клеток, а ямки — изменяющиеся по времени экологические ниши. Попав в нестабильные условия (на верх бугорка), клетки неизбежно со временем перейдут в то или иное стабильное состояние. Если «барьер» значителен, то попасть из одного состояния в другое можно только через несколько актов перехода

Кальдера Узон.
Так после природной катастрофы 2007 г.
выглядит русло реки Гейзерной



Хозяин тайги



несколько, и все они отличались по биохимическим и морфологическим признакам как друг от друга, так и от ранее обнаруженной бациллы. Эти результаты могут служить косвенным подтверждением предположения о том, что если какая-либо генная система играет определенную (существенную) роль в поддержании жизнедеятельности микробиологического сообщества, то она долгое время будет сохраняться в природе, причем не обязательно в одном и том же штамме. С помощью горизонтального переноса генов она может попасть в другой штамм, вид, род и даже в другое царство.

Микробиологическое изучение Камчатки привело к открытиям многих необычных, ранее неизвестных микроорганизмов (Андреева и др., 2005). Эти исследования еще раз подтвердили удивительную пластичность геномов микроорганизмов и их высокую способность комбинировать свой генетический материал.

Так, одним из незыблемых правил систематики микроорганизмов являлось утверждение, что споры могут формировать только грамположительные бактерии. Наши камчатские исследования показали, что давать

Великан и карлик. Гейзер «Великан» и участник экспедиции В. Е. Репин

споры способны грамотрицательные бактерии. Эти факты полностью подтверждают высказанную ранее теорию (Repin et al., 2001).

Вышеперечисленные факты — лишь небольшая толика результатов исследований жизни в экстремальных условиях, в которых решаются тесно переплетенные между собой фундаментальные и прикладные проблемы. Ученые Сибирского отделения СО РАН с большим энтузиазмом продолжают эти исследования. И большим подспорьем для них должен стать научный стационар в кальдере Узон, построенный в 2007 г. (Проект IPP-DOE #10618).

Исследования в рамках междисциплинарного интеграционного проекта продолжаются и в других точках России. Например, в 2007 г. была проведена экспедиция в Забайкалье, где находятся горячие источники, с сочетанием ряда уникальных характеристик: высокой температуры, pH, наличием радона.



Особый интерес для ученых представляют микроорганизмы щелочных гидротерм с умеренно высокой температурой. Подобные условия гидротерм препятствуют тому, чтобы высшие организмы развивались и активно воздействовали на бактериальный мир, причем таких мест в мире очень мало (в России, помимо Забайкалья, к ним относится Долина гейзеров в камчатской Долине гейзеров). Согласно нашему предположению, в Забайкалье должны обнаружиться археобактерии *Crenarchaeota*, изучение генетической организации которых поможет выявить эволюционные связи и направление эволюции современных архей и бактерий.

Задач поставлено много, но исследователи надеются, что междисциплинарный характер проекта позволит пролить свет на многие нерешенные до сих пор проблемы.

Научно-популярный крен статьи не позволяет представить фактический материал более полно. Но это не избавляет нас от почетного права высказать благодарность следующим соавторам или соучастникам, чье содействие, высказывания или даже мимолетные реплики неоценимо помогали в наших изысканиях. Это Н.Л. Добрецов, М.И. Кузьмин, Н.А. Колчанов, И. Андреева, В. Пугачев, О. Таранов, Л. Пучкова, Е. Рябчикова, Е. Дейнека, О. Пестунова, А. Симонов, Т. Торок, Е. Емельянова, И. Прокопкин. В организации экспедиции на Камчатку большую роль сыграли зам. директора Института вулканологии и сейсмологии ДО РАН профессор Г.А. Карпов и руководство Кроноцкого заповедника, за что им огромное спасибо

Термальное поле более чем с 70-ю термовыходами (источниками с температурой воды до 75° С).
Аллинские источники, Бурятия

Литература

1. Добрецов Н.Л. О ранних стадиях зарождения и эволюции жизни // Вестник ВОГИС. — 2005. — Т. 9. — № 1. — С. 43–54.
2. Репин В.Е., Дейнека Е.В., Пестунова О.П., Колчанов Н.А., Власов В.В., Прокопкин И.Г. Путешествие в горячую точку // Наука из первых рук. — 2007. — № 1(13). — С. 98–117.
3. Розанов А.Ю. Цианобактерии и, возможно, низшие грибы в метеоритах // Соросовский образовательный журнал. — 1999. — № 10. — С. 61–67.
4. Cano R.J., Borucki M.K. Revival and identification of bacterial spores in 25–40-million-year-old Dominican amber // Science. — 1995. — V. 268. — P. 1060–1064.
5. Greenblatt C.L., Davis A., Clement B.G., Kitts C.L., Cox T., and Cano R.J. Microbial Diversity of Amber // Microbial Ecology. — 1999. — V. 38. — P. 58–68.
6. Repin V.E., Torok T., Kuz'min M.I. Biodiversity of microorganisms from bottom sediments of Lake Baikal // Russian Geology and Geophysics. — 2001. — V. 42. — № 2. — P. 219–221.
7. Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. Prokaryotes: the unseen majority // PNAS. — 1998. — V. 95. — P. 6578–6583.
8. Woese C. There must be a prokaryote somewhere: microbiology's search for itself // Microbiol. Rev. — 1994. — V. 58. — P. 1–9.



«Уха уже почти готова». Участник экспедиции на Камчатку В.Е. Репин занимается сбором проб из горячего источника



Комплект № 2 «Эволюция»

Серия публикаций, посвященных эволюции и происхождению жизни на Земле глазами крупных ученых, специалистов в самых разных областях знаний, интеграция которых стала совершенно необходимой для исследования столь основополагающей темы

Комплект № 2 состоит из девяти номеров: № 0(1), 1(2), 2(3) — 2004 г.; № 1(4), 2(5), 3(6) — 2005 г.; № 1(7) — 2006 г.; № 1(13), 2(14) — 2007 г.

ЦЕНА 585 руб.

Порядок приобретения комплекта см. на стр. 126