

Моделирование эволюции усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенных средах

Клименко А.И.¹, Мустафин З.С.¹, Лашин С.А.^{1,2}, Матушкин Ю.Г.^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СОРАН

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет

mat@bionet.nsc.ru

Среди бактерий различных микробных сообществ существуют два противоположных эволюционных тренда – направленных на усложнение и на упрощение метаболизма. Как экосистемные ограничения, так и особенности генных сетей, лежащих в основе соответствующих метаболических процессов, выступают в качестве факторов, определяющих эволюционный исход в сообществе. В данной работе теоретически показано, что в пространственно-структурированных средах, характеризующихся наличием субстратных градиентов, возможно пространственное подразделение различных эволюционных тенденций в зависимости от близости ячейки к притоку питательных веществ, однако, эта закономерность разительно меняется для клеток, способных к активному движению в направлении хемоаттрактанта. Показано, что процессы горизонтального переноса и потери генов в сообществах подвижных прокариот могут приводить к стабильному распределению биомасс экогрупп, отличному от того, которое наблюдается в ходе естественного отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. Моделирование показало, что экологические паттерны самоорганизации микробных сообществ способствуют поддержанию различных стратегий, лежащих в основе сценариев, как усложнения, так и упрощения метаболизма. Таким образом, различные эволюционные тренды поддерживаются в средах с контрастными условиями, что обуславливается пространственной структурой местообитания.

Ключевые слова: микробные сообщества, индивидуально-ориентированное моделирование, экологическое моделирование, эволюционное моделирование, пространственная гетерогенность.

Simulation of the evolution of metabolism amplification and reduction in prokaryotes inhabiting spatially heterogeneous environments

Klimenko A.I.¹, Mustafin Z.S.¹, Lashin S.A.^{1,2}, Matushkin Yu.G.^{1,2}

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS

²Novosibirsk State University

There are two evolutionary trends in genome organization among bacteria inhabiting microbial communities – towards amplification and towards reduction of metabolism. Both environmental constraints and the complexity of underlying gene networks apparently act as factors determining evolutionary fate of a community. Here, we have theoretically shown that spatially structured habitats characterized by nutrient gradients allow subdivision of evolutionary trends depending on the distance of a sub-habitat to the nutrient source though this pattern changes drastically if cells are able to move actively towards chemo-attractant. We have demonstrated that horizontal gene transfer and gene loss occurring in the communities of motile bacteria are able to produce robust biomass dynamics of the ecogroups, which differs from the dynamics in the model of a community that consists of populations possessing all feasible metabolic combinations under natural selection. Simulations have shown that ecological patterns of self-organization of microbial communities cause sustainability of different strategies underlying the antagonistic evolutionary scenarios. Different evolutionary trends sustain in habitats with contrasting ecological conditions due to nutrient gradients that structure the environment spatially.

Key words: microbial communities, individual-based modelling, ecological modelling, evolutionary modelling, spatial heterogeneity.

1. Актуальность

Известно, что существуют два противоположных тренда эволюции генома – на упрощение и на усложнение, – каждый из которых берёт верх в тех или иных условиях. К ярким примерам упрощения относится редукция генома у паразитов [1], потеря генов бактериями в *in vitro* системах [2], а также оптимизация длины генома при синтрофии [3, 4]. С другой стороны, приобретение генов устойчивости к антибиотикам [5, 6], приобретение генов, способствующих выживанию в экстремальных условиях [7, 8], а также симбиогенез (вплоть до симбиогенетической теории эволюции) [9, 10] представляют тенденцию к усложнению геномов.

Несмотря на важность обмена генетическим материалом, эволюция прокариот путём горизонтального переноса генетического материала имеет ряд ограничений: гены имеют разную мобильность, экзогену нужен оптимальный промотор, чтобы работать, и экологические взаимосвязи в симбиотрофном сообществе канализируют пространство возможной эволюции, на что указывал ещё Заварзин [11, 12]. Однако, Кунин считает горизонтальный перенос важнейшим фактором в эволюции прокариот, легко преодолевающим экологические ограничения [13].

2. Материалы и методы

2.1. Классификация экологических групп

Для нужд анализа экологической структуры формирующихся микробных сообществ была предложена классификация, которая позволяет с одной стороны учесть роль организмов в их взаимоотношениях друг с другом, а с другой – их роль в структурировании сообщества через оценку сложности организации их метаболизма. Поэтому в рамках данной работы была предложена классификация всех возможных в данной модели популяций по их экологической роли, сделанная на основе двух признаков – *широта спектра метаболических активностей* (M – размер части генома, ответственной за метаболизм специфических субстратов) и *уклон* (U = число метаболических систем синтеза – число метаболических систем утилизации специфических субстратов) в сторону утилизации (отрицательное направление) или синтеза (положительное направление). Тем самым, при построении своей классификации авторы данной работы синтезировали подходы, основывающиеся на попарных взаимодействиях видов, и подходы на основе роли популяции в формировании всего сообщества. Получившиеся классы были названы экологическими функциональными группами (экогруппами) и получили свои названия, исходя из экологической роли, которую выполняют их представители в сообществе (см. рис. 1).

При $M \leq 3$ (популяции с узким спектром метаболических активностей):

- *минимальный геном* – популяция, способная лишь утилизировать неспецифический субстрат;
- на линии альтруизма лежат *продуценты* – класс организмов, образующих метаболические тупики, которые могут быть использованы другими организмами в качестве источника энергии, структурного элемента, донора или акцептора электронов и т.д.;
- на линии эгоизма лежат *квазикомменсалы* – класс организмов, потребляющих чужие продукты. В отличие от обычных комменсалов квазикомменсалы конкурируют за неспецифический субстрат со своими кормильцами.

Между линиями эгоизма и альтруизма симметрично относительно линии баланса лежат *квазимутуалисты* – класс организмов, имеющих короткий и относительно сбалансированный по утилизации / синтезу геном, а потому потенциально способных вступать в симбиотические трофические кольца с другими подобными организмами. В отличие от обычных мутуалистов квазимутуалисты конкурируют за неспецифический субстрат со своими симбионтами.



Рис. 1. Экогруппы. По оси абсцисс отложено значение «уклона» в сторону генов синтеза (положительная полуось) или генов утилизации (отрицательная полуось), а по оси ординат – общее число генов метаболизма специфических субстратов. $M = U$ – линия альтруизма. $M = -U$ – линия эгоизма. $U = 0$ – линия баланса.

При $4 \leq M \leq 6$ (популяции с широким спектром метаболических активностей):

- при $|U| = 2$ популяция относится либо к экогруппе *квазикомменсалов*, либо к экогруппе *продуцентов* в зависимости от знака U (см. рис. 1). Поскольку в данной модели рассматривались лишь экогруппы, выделяемые на основании трёх видов специфических субстратов, ни одна популяция не может характеризоваться более чем тремя метаболическими системами одного типа (утилизации или синтеза), что в случае популяций с большим геномом автоматически влечёт необходимость иметь гены другого типа. Поэтому в данный класс попадают популяции с

большим геномом, имеющие значительный уклон в сторону утилизации или синтеза;

— все остальные популяции относятся к классу *эдификаторов* – популяций с большим, но сбалансированным геномом, которые обладают широким спектром метаболических активностей и тем самым существенно преобразуют среду обитания, оказывая через неё влияние на многие другие популяции сообщества.

2.2. Модель усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенной среде

Модели эволюции микробных сообществ были созданы с использованием программного комплекса «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) [14, 15], в основе которого лежит агентно-ориентированный подход и концепция супериндивида [16]. ГЭК доступен по адресу: http://evol-constructor.bionet.nsc.ru/?page_id=34.

Основной модельной единицей ГЭК является популяция микроорганизмов, характеризуемая набором метаболических систем, отвечающих за утилизацию или синтез определённого субстрата. Клетки различных популяций взаимодействуют между собой и с окружающей средой путём выделения или поглощения различных субстратов, а также могут обмениваться метаболическими системами в процессе горизонтального переноса генов или терять куски генома, образуя новые популяции.

Модель усложнения и упрощения метаболизма прокариот в пространственно-гетерогенной среде была построена с использованием программного комплекса «Гаплоидный эволюционный конструктор». В начальный момент времени сообщество представляло собой трофическое кольцо из трёх симбиотических популяций, каждая из которых производит специфический нутриент, потребляемый следующей по часовой стрелке популяцией. Во время моделирования с вероятностью 10^{-7} на поколение на клетку происходят процессы горизонтального переноса и/или потери генетического материала, кодирующего метаболические системы, позволяющие либо утилизировать тот или иной специфический нутриент, либо синтезировать его. Эти процессы приводят к появлению популяций новых видов и к дальнейшей эволюции сообщества.

Численность популяций микроорганизмов изменялась согласно следующему закону [17]:

$$F(n_0, \mathbf{S}, r_0, \mathbf{C}, P, G) = T(n_0, \mathbf{S}, r_0, \mathbf{C}, P) - \frac{(G/k_1)^n}{1 + (G^n / (k_1^n - 1))} P, \quad (1)$$

где $T(n_0, \mathbf{S}, r_0, \mathbf{C}, P)$ – компенсаторная трофическая стратегия популяции [18]; \mathbf{S} – вектор количественных значений потребляемых специфических субстратов; n_0 – количество неспецифического субстрата, потребляемого

клетками популяции; r_0 – генетически предопределённая скорость утилизации неспецифического субстрата; P – численность популяции; G – количество генов в геноме; k_1 – пороговое значение, определяющее возрастание штрафа за длину генома; n – степень нелинейности штрафа за длину генома.

Последнее вычитаемое описывает штраф за длину генома. Рост популяции происходит в прямой зависимости от количества и числа потребляемых субстратов и в обратной зависимости как от времени, необходимого на репликацию (которое зависит от числа генов в геноме), так и от времени, затрачиваемого на утилизацию субстратов.

Было принято значение параметра k_1 (1), равное 0.01, что соответствует *низкому* штрафу за длину генома в соответствии с классификацией, используемой в статье [17].

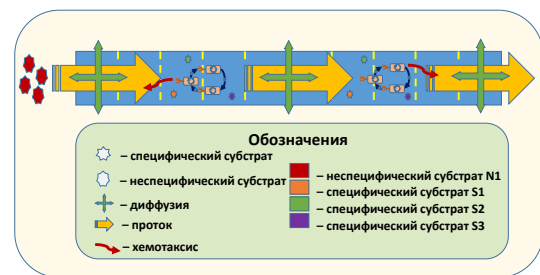


Рис. 2. Пространственная схема организации среды обитания (труба из 10 ячеек), подачи субстратов в среду, проточного перемещения и миграций клеток.

Среда обитания представляла собой 1D-трубу, поступление (приток) неспецифического (потребляемого всеми клетками сообщества) нутриента, в которую происходило только с одной стороны – с «начала» (на рисунке – левый конец) трубы (см. рис. 2). Проток может также перемещать отдельные клетки в трубе, в направлении от её «начала» к «концу». В «конце» трубы происходит удаление нутриентов и клеток из среды (см. рис. 2).

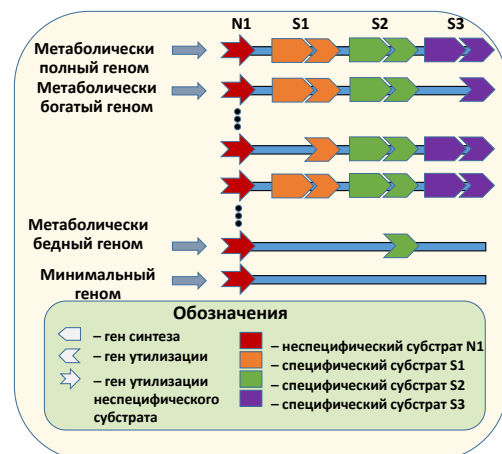


Рис. 3. Достижимые наборы комбинаций метаболических систем для модели с одним неспецифическим и тремя специфическими субстратами.

Внутри трубы распространение неспецифического нутриента, равно как и специфического, произведённого клетками сообщества, происходит под действием протока и диффузии. Кроме пассивного перемещения клеток была также рассмотрена способность клеток к хемотаксису, т.е. к самостоятельным миграциям в направлении более благоприятных условий среды в смысле насыщенности питательными веществами.

В процессе видообразования, обусловленного горизонтальным переносом и потерей генетического материала, в модели достижимы метаболические конфигурации, представленные на рисунке 3. На одном полюсе группируются популяции с метаболически полным, а на другом – с метаболически бедными и минимальным геномом. Популяции, клетки которых характеризуются данными комбинациями метаболических систем, были разбиты в соответствии со своей ролью в экосистеме на пять функциональных экологических групп (экогрупп): эдификаторы, квазикомменсалы, квазимутуалисты, продуценты и минимальный геном. Данная классификация была использована для анализа процессов формирования экологической структуры сообщества в модели.

3. Результаты и обсуждение

Была проведена серия вычислительных экспериментов на моделях эволюции микробного сообщества, живущего в пространственно-распределённой среде обитания. Но прежде чем приступить к исследованию трендов эволюции прокариот на усложнение и упрощение метаболизма, необходимо понять, как отбор будет действовать в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. В связи с этим была построена детерминистская модель «полного» сообщества, т.е. такого сообщества, в котором присутствовали в равной пропорции представители всех возможных метаболических конфигураций для системы с тремя специфическими субстратами и одним неспецифическим. Было рассмотрено влияние подвижности и неподвижности клеток на итоговую экологическую структуру, которая формируется в результате развития сообщества такого типа. Тем самым были обнаружены характерные распределения биомасс экогрупп, не зависящие от таких стохастических факторов, как время и место горизонтального переноса или потери генов, но определяемые только приспособленностью популяций, входящих в соответствующие экогруппы.

В результате проведённого численного исследования оказалось, что в детерминированной системе с полным набором комбинаций метаболических систем отбор действует по-разному на подвижные и неподвижные организмы. Так, без хемотаксиса в системе выживают только эдификаторы и квазикомменсалы, причём, если ближе к источнику неспецифического субстрата

биомассы первых и вторых почти равны, то по мере удаления от источника неспецифического субстрата усиливается преобладание квазикомменсалов.

В случае с хемотаксисом, спустя всего лишь чуть более чем 3000 поколений, в системе остаётся лишь популяция с полным геномом. Причём, чем ближе ячейка находится к источнику неспецифического субстрата, тем быстрее в ней вымирают все, кроме популяции с полным геномом. Таким образом, в данном случае отбор поддерживает популяцию с метаболически полным геномом, имеющую замкнутый метаболизм.

В стохастической модели, учитывающей процессы горизонтального переноса и потери генов в сообществах подвижных прокариот, показано, что эти процессы могут приводить к стабильному распределению биомасс экогрупп, отличному от того, которое наблюдается в ходе естественного отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. Причём, в этот режим попадают не только формирующиеся сообщества на ранних стадиях, но и относительно сформированные экосистемы.

4. Заключение

Проведённое численное моделирование показывает, что пространственная организация среды обитания формирует ландшафт давления отбора, опосредуя тем самым эволюционные процессы, происходящие в экосистеме. В свою очередь, это служит причиной компартиментализации на экосистемном уровне, приводя к пространственно-специфической реализации разнообразных эволюционных сценариев, что согласуется с другими исследованиями, как теоретической [19], так и экспериментальной [20] направленности. Важность миграции для эволюционной успешности актов горизонтального переноса была показана в работах [21]. Миграция обеспечивает стабильный генный приток нужной плотности, позволяющий мутантам набрать критическую биомассу, необходимую для закрепления в сообществе, что позволяет такому редкому событию как горизонтальный перенос определять эволюцию микробного сообщества, преодолевая препятствия, создаваемые жёсткой конкурентной средой уже сложившегося сообщества. Миграции, как процесс, препятствующий выражению этой компартиментализации, ведут к уменьшению разнообразия сообщества и к экспансии немногих приспособленных популяций, что, однако, не приводит к увеличению общей биомассы сообщества по сравнению с сообществами немобильных организмов. Данный эффект можно объяснить цепным сокращением экологических лицензий в связи со снижением разнообразия и упрощением структуры сообщества. Несмотря на стохастичность процессов генетической изменчивости, происходит устойчивая самоорганизация

на уровне паттернов экологических структур. Вместе с тем присутствует множественность бассейнов притяжения эволюции систем подобного типа. Пространство эволюционных траекторий канализируется. Независимо ни от происхождения, ни от конкретного набора метаболических систем в отдельных популяциях, складываются определённые конфигурации функциональных типов, лишь в терминах, которых может быть понято содержание эволюционных процессов, происходящих в микробном сообществе. Таким образом, контекст взаимосвязей между популяциями и пространственно-гетерогенные локальные экологические условия, к которым происходит адаптация, определяют действие отбора на уровне экосистем, оставляя те трофические конфигурации, которые оказываются наиболее устойчивыми в данных условиях.

5. Благодарности

Работа поддержана бюджетным финансированием (проект № 0324-2018-0017).

6. Список литературы

- Moran N.A. Microbial Minimalism: Genome Reduction in Bacterial Pathogens. *Cell*. 2002. V. 108. № 5. P. 583–586.
- Mira A., Ochman H., Moran N.A. Deletional bias and the evolution of bacterial genomes. *Trends in Genetics*. 2001. V. 17. № 10. P. 589–596.
- McCutcheon J.P., Moran N.A. Extreme genome reduction in symbiotic bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011. V. 10. № 1. P. 13–26.
- Kunin V., Ouzounis C.A. The Balance of Driving Forces During Genome Evolution in Prokaryotes The Balance of Driving Forces During Genome Evolution in Prokaryotes. *Genome Res*. 2003. V. 13. № 7. P. 1589–1594.
- Händel N., Hoeksema M., Mata M.F., Brul S., Ter Kuile B.H. Effects of stress, ROS and the SOS response on de novo acquisition of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2016. V. 60. № 3. P. 1319–1327.
- Rodríguez-Martínez J.M., Pascual A. Antimicrobial resistance in bacterial biofilms. *Rev. Med. Microbiol.* 2006. V. 17. № 3. P. 65–75.
- Nesbø C.L., L'Haridon S., Stetter K.O., Ford Doolittle W. Phylogenetic analyses of two “archaeal” genes in *thermotoga maritima* reveal multiple transfers between archaea and bacteria. *Mol. Biol. Evol.* 2001. V. 18. № 3. P. 362–375.
- Nelson K.E., Clayton R.A., Gill S.R., Gwinn M.L., Dodson R.J., Haft D.H., Hickey E.K., Peterson J.D., Nelson W.C., Ketchum K.A. et al. Evidence for lateral gene transfer between Archaea and Bacteria from genome sequence of *Thermotoga maritima*. *Nature*. 1999. V. 399. № 6734. P. 323–329.
- Margulis L. *Origin of eukaryotic cells: evidence and research implications for a theory of the origin and evolution of microbial, plant, and animal cells on the Precambrian earth*. New Haven: Yale University Press, 1970.
- Archibald J.M. Origin of eukaryotic cells: 40 years on. *Symbiosis*. 2011. V. 54. № 2. P. 69–86.
- Заварзин Г.А. Противоречивость осознания природы естествоиспытателем. *Философия науки и техники*. 2009. Т. 14. № 1. P. 25–42.
- Заварзин Г.А. Составляет ли эволюция смысл биологии? *Вестник РАН*. 2006. Т. 76. № 6. P. 522–533.
- Koonin E.V. The Logic of Chance: The Nature and Origin of Biological Evolution. *Biometrika*. 2011. V. 51. № 1/2. 295 p.
- Lashin S.A., Suslov V.V., Kolchanov N.A., Matushkin Y.G. Simulation of coevolution in community by using the “Evolutionary Constructor” program. *In Silico Biol.* 2007. V. 7. № 3. P. 261–275.
- Klimenko A.I., Matushkin Y.G., Kolchanov N.A., Lashin S.A. Modeling evolution of spatially distributed bacterial communities: a simulation with the haploid evolutionary constructor. *BMC Evol. Biol.* 2015. V. 15. № 1. P. S3.
- Scheffer M., Baveco J.M., DeAngelis D.L., Rose K.A., van Nes E.H. Super-individuals a simple solution for modelling large populations on an individual basis. *Ecol. Modell.* 1995. V. 80. № 2–3. P. 161–170.
- Lashin S.A., Matushkin Y.G., Suslov V.V., Kolchanov N.A. Computer modeling of genome complexity variation trends in prokaryotic communities under varying habitat conditions. *Ecol. Modell. Elsevier B.V.* 2012. V. 224. № 1. P. 124–129.
- Lashin S.A., Suslov V. V., Matushkin Y.G. Comparative modeling of coevolution in communities of unicellular organisms: adaptability and biodiversity. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2010. V. 8. № 3. P. 627–643.
- Goldschmidt F., Regoes R.R., Johnson D.R. Successive range expansion promotes diversity and accelerates evolution in spatially structured microbial populations. *ISME J.* 2017. V. 11. № 9. P. 2112–2123.
- Callahan B.J., Fukami T., Fisher D.S. Rapid evolution of adaptive niche construction in experimental microbial populations. *Evolution (N Y)*. 2014. V. 68. № 11. P. 3307–3316.
- Niehus R., Mitri S., Fletcher A.G., Foster K.R. Migration and horizontal gene transfer divide microbial genomes into multiple niches. *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 8924.