

## **Один генотип → два фенотипа: «нейтрально-сопряженная коэволюция» и происхождение персистентных клеток**

Лихошвай В.А., Хлебодарова Т.М.

*ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

[likho@bionet.nsc.ru](mailto:likho@bionet.nsc.ru)

Феномен бактериальной персистенции – ненаследуемой толерантности одиночных клеток популяции к антибиотикам, описан более 70 лет назад. В настоящее время предполагают, что «клетки-персисторы» являются альтернативным сценарием клеточного цикла, однако пути его возникновения до сих пор не ясны. Ранее мы представили теоретические аргументы в пользу гипотезы о том, что феномен фенотипической множественности клеточного цикла является имманентным (скрытым) свойством клетки, так как определяется нелинейными свойствами сопряженной системы транскрипции-трансляции, под управлением которой протекают все ее процессы. В настоящей работе определены условия, при которых в популяции клеток гарантируется появление особей, способных осуществлять одиночный цикл размножения несколькими альтернативными способами. Показано, что гарантированное появление таких клеток обеспечивается эволюционным дрейфом в пространстве множественных нейтрально-сопряженных мутаций. Данный тип эволюции мы назвали «нейтрально-сопряженной коэволюцией». Высказывается гипотеза, что современные клетки-персисторы произошли от клеток, способных осуществлять одиночный цикл размножения несколькими альтернативными способами, поскольку эта способность, приобретенная ими в результате «нейтрально-сопряженной коэволюции», повышала шансы популяции к выживанию в стрессовых условиях. В дальнейшем свойство фенотипической бистабильности закрепилось путем формирования на генетическом уровне специальных регуляторных триггерных механизмов и, таким образом, бистабильность была включена в норму реакции клетки на изменение внешних условий. Мы полагаем, что роль «нейтрально-сопряженной коэволюции» в развитии живых систем была более фундаментальной и не ограничилась формированием феномена ненаследуемой толерантности. С нашей точки зрения, «нейтрально-сопряженная коэволюция» – это реальный путь усложнения строения живых систем, которому мог предшествовать этап возрастания динамической сложности ландшафта функционирования популяции с последующим закреплением этой сложности на генетическом и структурном уровне.

*Ключевые слова: прокариоты, клеточный цикл, бистабильность, бактериальная персистенция, эволюция, нейтрально-сопряженная коэволюция, динамическая сложность, моделирование*

### **One Genotype → Two Phenotypes:**

#### **“Neutrally Coupled Coevolution” and the Origin of “Persister Cells”**

Likhoshvai V.A., Khlebodarova T.M.

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk*

The phenomenon of bacterial persistence – the non-inherited antibiotic tolerance in a minute fraction of the bacterial population, was observed more than 70 years ago. Nowadays, it is suggested that “persister cells” undergo an alternative scenario of the cell cycle; however, pathways involved in its emergence are still not identified. Previously, we have presented theoretical arguments in favor of the hypothesis that the phenomenon of phenotypic multiplicity of the cell cycle is an immanent (hidden) property of the cell, since it is determined by the nonlinear properties of the coupled transcription-translation system, which determines all processes in the cell. In the present work, we have determined the conditions under which individual cells capable of carrying out a single cell cycle in several alternative ways are guaranteed to appear in a bacterial population. We demonstrated that guaranteed appearance of persister cells is due to evolutionary drift in the space of multiple neutrally coupled mutations and called this type of evolution the “neutrally coupled coevolution”. We hypothesized that modern persister cells have originated from cells capable of carrying out a single cell cycle in several alternative ways, since this ability, acquired as a result of “neutrally coupled coevolution”, boosted

overall population survival rates under stressful conditions. We believe that phenotypic bistability has been consolidated via the formation of specific regulatory trigger mechanisms at the genetic level and, thus, bistability became a typical cellular response to changes in external conditions. We suggest that the role of “neutrally coupled coevolution” in the development of living systems has been more fundamental and was not limited to the formation of non-inherited antibiotic tolerance. In our opinion, “neutrally coupled coevolution” is an existent way of complicating the structure of living systems, which could be preceded by increased dynamic complexity of the landscape of the population's functioning with subsequent consolidation of this complexity at the genetic and structural levels.

*Key words: prokaryotes, cell cycle, bistability, bacterial persistence, evolution, neutral co-evolution, modeling, dynamical complicity*

## 1. Введение

Феномен бактериальной персистенции – ненаследуемой толерантности части микробной популяции к антибиотикам, был открыт в 1944 году [1] и его суть состоит в том, что чувствительная к антибиотику популяция бактериальных клеток практически всегда, даже после длительной обработки антибиотиком, содержит с небольшой частотой ( $10^{-3}$ – $10^{-6}$ ) клетки, толерантные к нему, которые способны восстановить клеточную популяцию после прекращения воздействия. Однако, это свойство толерантности своим потомкам они не передают. Клетки, толерантные к антибиотикам, с небольшой частотой возникают в генетически однородной популяции экспоненциально растущих клеток, но отличаются от них низким уровнем метаболизма, небольшими размерами и медленной скоростью деления [2–5]. Считается, что клетки-персисторы являются причиной хронического течения многих инфекционных заболеваний [6, 7]. В настоящее время их появление связывают с активностью различных стресс-активируемых систем, включая токсин-антитоксиновые [2, 8–10]. Однако существует целый ряд данных, которые свидетельствуют о том, что частота возникновения клеток персисторов существенно увеличивается в результате мутаций генов системы клеточного метаболизма и при неспецифическом блокировании процессов транскрипции и трансляции [11–13]. Это указывает на то, что определенная доля клеток-персисторов возникает в результате некоторых универсальных процессов, присущих всем видам бактерий, которые позволяют в генетически однородной популяции формироваться клеткам с различным уровнем метаболизма: высоким и низким.

Ранее мы показали, что клетки, обладающие характеристиками клеток-персисторов, возникают в простейшей модели клеточного цикла бактерий [14] в отсутствие каких-либо специальных регуляторных механизмов триггерного типа. Мы также доказали, что в основе наблюдаемой фенотипической множественности лежат нелинейные свойства сопряженной системы транскрипции-трансляции, универсальные для всех типов клеток [15]. Эти

данные позволили нам высказать гипотезу, что клетки-персисторы произошли от клеток, которые приобрели способность осуществлять одиночный цикл размножения несколькими альтернативными способами. В настоящей работе мы исследовали условия формирования фенотипической бистабильности и показали, что возможность реализации формулы размножения: *один генотип* → *два фенотипа* обеспечивается процессом «нейтрально-сопряженной коэволюции» – дрейфом популяции в пространстве множественных нейтрально сопряженных мутаций в условиях относительного недостатка питательных ресурсов.

## 2. Модель

Исследование эволюционных механизмов формирования феномена фенотипической множественности клеточных циклов проведено на минимальной модели (1) одиночного цикла размножения простейшей самовоспроизводящейся системы – «клетки». В ней рассмотрены только два основных процесса: рост объема «клетки»  $V$  и синтез / разбавление фактора синтеза  $C$  (аналог рибосомы). Фактор  $C$  обеспечивает собственный синтез и рост «клетки»:

$$\begin{cases} \frac{dV}{dt} = z \frac{1}{\alpha_r} S_r V, \\ \frac{dc}{dt} = zc \left( \frac{S_c}{c} - \frac{1}{\alpha_r} S_r \right), \\ z = \frac{k_{zin}}{(k_{zout} + \Delta_z (S_c + S_r))}, \end{cases} \quad \begin{cases} S_c = k_c \frac{c^{h_c}}{K_c^{h_c} + c^{h_c}}, \\ S_r = k_r \frac{c^{h_r}}{K_r^{h_r} + c^{h_r}}. \end{cases} \quad (1)$$

В (1)  $V$  – объем «клетки»;  $c$  – суммарная концентрация свободных молекул фактора синтеза  $C$ ;  $\alpha_r$  – коэффициент скорости роста объема «клетки»  $V$ ;  $S_c$  – скорость синтеза фактора  $C$ ,  $S_r$  – закон роста «клетки»,  $k_{zin}$  – константа скорости поступления ресурса в область потребления,  $k_{zout}$  – константа скорости вывода ресурса из области потребления,  $\Delta_z$  – удельная стоимость «клеточных» процессов.

## 3. Результаты и обсуждение

Ранее мы показали [14, 15], что естественным носителем свойств, обеспечивающих реализацию

фенотипической множественности одиночного цикла размножения у живых организмов, является сопряженная система транскрипции-трансляции.

Полученные в работах [14, 15], результаты поставили закономерный вопрос: а не могли ли клетки, способные осуществлять одиночный цикл размножения двумя альтернативными способами, быть предками современных клеток-персистеров и если да, то какие процессы могли привести к этому?

### 3.1. Условия реализации фенотипической множественности

Отвечая на поставленные вопросы, мы исследовали закономерности эволюции живых систем методами математического моделирования.

Считая, что источником изменчивости и материалом для эволюционного отбора в живых системах являются мутации, мы, в рамках модели (1), имитировали мутации изменением значений параметров  $k_c$ ,  $k_r$ ,  $K_c$ ,  $K_r$ . В остальном мы приняли, что внешние условия являются одинаковыми и постоянными для всех «клеток» и их потомков и, что вероятность спонтанной гибели одинакова для всех «клеток» на всем интервале существования.

В качестве меры приспособленности  $W$  мы использовали величину, обратную длительности «клеточного» цикла

$$W = \frac{k_{zin} S_r}{\alpha_r (k_{zout} + \Delta_z (S_c + S_r))}, \quad (2)$$

вычисленную в устойчивом стационаре системы (1).

Эволюцию рассматривали как движение последовательно возникающих мутантных «клеток» в направлении возрастания значения  $W$ .

Анализ показал, что  $W$  имеет в пространстве изменения параметров  $k_c$ ,  $k_r$ ,  $K_c$ ,  $K_r$ , единственный глобальный максимум ( $W_G$ ).

Далее мы показали, что, в условиях относительной ограниченности питательных ресурсов

$$\Delta_z > 2(K_{min} / \alpha_r)^2, c_{fis} = \sqrt[3]{2 \frac{\alpha_r K_{min}^2}{\Delta_z}}, \quad (3)$$

$W_G$  достигается в некотором нетривиальном интервале нейтральности

$$k_{max} c_{fis} / \alpha_r \leq k_c \leq k_{max}, k_r = k_{max}, K_r = K_{min},$$

$$K_c = \sqrt{\frac{\alpha_r k_c}{c_{fis} k_{max}} (K_{min}^2 + c_{fis}^2) - c_{fis}^2}. \quad (4)$$

И, если дополнительно к неравенству (3), выполнено неравенство:

$$4\alpha_r c_{fis} \geq (K_{min} + \sqrt{4c_{fis}^2 + K_{min}^2})^2, \quad (5)$$

то интервал нейтральности (4) содержит подобласть множественности стационаров системы (1). В (2)–(5)  $K_{min}$  – физиологический минимум значений

параметров  $K_c$  и  $K_r$ , а  $k_{max}$  – физиологический максимум значений  $k_c$  и  $k_r$ .

Анализ экспериментальных данных, известных для активно растущей клетки *E. coli* [16–19], показал, что для нее условия (2)–(5) выполняются с большим запасом. Т.е., параметры современной клетки *E. coli* вполне удовлетворяют условиям реализации фенотипической множественности.

### 3.2. Нейтральная коэволюция в условиях максимальной приспособленности

Для клеток, достигших состояния максимальной приспособленности, эволюционная сила, ранее обеспечивающая направленный отбор мутаций, повышающих ее приспособленность, исчезает, и движущий тип эволюции меняется на стабилизирующий. После этого, любые мутации, уменьшающие приспособленность ее носителя, будут элиминироваться из популяции. В популяции, не подвергаясь отрицательному отбору, будут циркулировать только нейтральные мутации. Таким свойством обладают как одиночные нейтральные мутации, так и множественные, которые одновременно (или почти одновременно) возникают в клетке и по одиночке являются «вредными» (повреждающими), но по совокупному действию некоторых их комбинаций оказываются сопряженно нейтральными. Носители этих комбинаций мутаций также не будут элиминироваться из популяции. И хотя возникают они много реже одиночных мутаций, вероятность фиксации компенсаторно нейтральных пар мутаций, как показано Кимура [20], достаточно высока.

В нашей модели (1) свойствами сопряженной нейтральности обладают все пары значений параметров  $(k_{c,i}, K_{c,i})$ , которые удовлетворяют равенству

$$\frac{k_{c,i}}{K_{c,i}^2 + c^2} = \frac{k_{c,j}}{K_{c,j}^2 + c^2}, \quad (6)$$

т.е., после достижения «клеткой» состояния максимальной приспособленности, эволюция ее потомков, содержащих множественные мутации, не нарушающие равенства в уравнении (6), будет протекать в режиме нейтрального дрейфа. При этом, любая одиночная мутация  $k_{c,i}$  или  $K_{c,i}$  понижает приспособленность ее носителя и будет элиминироваться из популяции.

Ранее на возможность взаимной компенсации «вредных» мутаций на примере ферментативных реакций указывал Волькенштейн [21]. В системе трансляции возможность возникновения компенсаторных мутаций продемонстрирована на примере эволюции стартовых кодонов и сайтов инициации трансляции [22].

Новое качество, которое мы выявили для данного типа эволюционного дрейфа, названного нами «нейтрально-сопряженной коэволюцией», состоит в том, что при выполнении условий (2)–(5) дрейф в пространстве нейтрально сопряженных

одиночно-вредных мутаций обеспечивает в рамках модели (1) гарантированное появление в популяции, изначально состоящей из «клеток», способных осуществлять одиночный цикл развития только одним способом (стратегия «*один генотип* → *один фенотип*»), особей, способных реализовывать одиночный цикл более чем одним альтернативным способом (стратегия «*один генотип* → *несколько фенотипов*»). Это новое качество, которое гарантированно появлялось у отдельных клеток популяции, свидетельствует, что данный тип нейтральной коэволюции обладает уникальной способностью увеличивать динамическую сложность функционирования популяции, благодаря которой в популяции, изначально состоящей из клеток с единственным вариантом реализации клеточного цикла, возникают особи, способные осуществлять клеточный цикл несколькими альтернативными способами.

Ранее, аналогичное свойство демонстрировалась на модели стохастического эволюционного дрейфа популяции простейших самовоспроизводящихся особей [23, 24]. Однако в работах [23, 24] привязка к конкретным биологическим системам не была осуществлена.

### 3.3. Как могли произойти персистентные клетки

Учитывая полученные ранее результаты [15, 16], мы высказываем гипотезу, что современные клетки, которые обладают способностью в условиях стресса переключаться из состояния активного роста в состояние с крайне низким уровнем метаболизма (клетки-персистеры) [2, 5], произошли от «древних» клеток, которые на определенном этапе

нейтральной коэволюции приобрели способность осуществлять одиночный цикл несколькими альтернативными способами. Основной аргумент, который свидетельствует в пользу состоятельности данной гипотезы состоит в том, что популяции, содержащие клетки со свойством фенотипической множественности имеют больше шансов выжить в среде, в которой условия периодически меняются с благоприятных на неблагоприятные. Эти изменения критичны для активно растущих клеток (R-фенотип, согласно [15]), но не являются таковыми для клеток с низким уровнем метаболизма (S-фенотип, согласно [15]). Поэтому свойство бистабильности закрепилось, как эволюционно выгодное приобретение, путем формирования в клетках специальных молекулярно-генетических триггеров, наблюдаемых у современных видов бактерий [2, 8–11], которые в условиях стресса способны целенаправленно переводить клетки из стресс-чувствительного фенотипа в стресс-устойчивый, повышая, таким образом, выживаемость популяции в неблагоприятных условиях.

### 3.4. О роли нейтрально-сопряженной коэволюции в развитии живых систем

Предлагаемый нами сценарий происхождения клеток, обладающих персистентным фенотипом (см. рис. 1), существенно опирается на уникальное свойство «нейтрально-сопряженной коэволюции» проявлять имманентно присущую клеткам способность к бистабильности, которая обусловлена автокаталитическими свойствами сопряженной системы транскрипции-трансляции.



**Рис. 1.** Сценарий возникновения клеток «персистеров»: в результате нейтральной коэволюции и благодаря нелинейным свойствам сопряженной системы транскрипции-трансляции из условной популяция «древних клеток» (1), состоящей из клеток, способных осуществлять одиночный цикл исключительно единственным способом, возникла условная популяция «древних клеток» (2), в которой наряду с клетками первого типа появились особи качественно нового типа – это клетки, способные осуществлять одиночный цикл развития несколькими альтернативными способами (фенотипами). Условная популяция «современных клеток» (3) возникла из клеток второго типа «древней популяции» (2) в результате формирования на генетическом уровне регуляторных контуров триггерного типа, которые включили оба фенотипа в норму реакции. Чувствительные клетки и клетки «персистеры» данной популяции являются генетически идентичными особями, осуществляющими клеточный цикл альтернативными способами [2–4].

Не вдаваясь в детали, отметим, что это же уникальное свойство «нейтрально-сопряженной коэволюции» в прошлом могло выступить реальным механизмом возникновения не только клеток-персистеров, но и других стресс-устойчивых клеточных форм. Мы не исключаем, что именно этот тип нейтральной коэволюции мог создать и развести пути эволюции мезофилов и экстремофилов, как у бактерий, так и у архей. Более того, мы не видим принципиальных запретов к тому, чтобы «нейтрально-сопряженная коэволюция» в определенные периоды прошлого выступила в качестве дизайнера и драйвера усложнения живых систем по сценарию: *возрастание динамической сложности поведения популяции живых организмов* → *включение динамической сложности в норму реакции путем формирования специализированных генетических программ* → *возрастание сложности строения организма*.

Этот уникальный потенциал «нейтрально-сопряженной коэволюции» является особенно интригующим, так как показывает направление для поиска решения проблемы эволюционного усложнения строения живых систем, которая является одной из самых актуальных и сложных проблем теории эволюции, которая не только не решена до сих пор, но и, по мнению Кунина, до сих пор даже не предложено подходов к ее решению [25].

Мы полагаем, что это уникальное свойство «нейтрально-сопряженной коэволюции» к усложнению динамики поведения популяции, могло сформироваться достаточно рано. Возможно даже раньше, чем, собственно, возникла система транскрипции-трансляции современного типа. Согласно представленным результатам, соответствующие условия могли сформироваться еще в период ранней эволюции протоклеток, основой функционирования которых стали нелинейные биохимические процессы. И в этом смысле описанный выше потенциал нейтрально-сопряженной коэволюции мог внести созидательный вклад в эволюцию практически всех типов живых систем, начиная с самых ранних этапов развития жизни на Земле.

### 3. Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований СО РАН (проект № 0324-2018-0017) и при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-01-00237а).

### 4. Список литературы

1. Bigger J.W. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilisation. *Lancet*. 1944. V. 244. № 6320. P. 497–500.

2. Balaban N.Q., Merrin J., Chait R., Kowalik L., Leibler S. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science*. 2004. V. 305. № 5690. P. 1622–1625. doi: [10.1126/science.1099390](https://doi.org/10.1126/science.1099390).
3. Keren I., Shah D., Spoering A., Kaldalu N., Lewis K. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2004. V. 186. № 24. P. 8172–8180. doi: [10.1128/JB.186.24.8172-8180.2004](https://doi.org/10.1128/JB.186.24.8172-8180.2004).
4. Shah D., Zhang Z., Khodursky A., Kaldalu N., Kurg K., Lewis K. Persisters: a distinct physiological state of *E. coli*. *BMC Microbiol.* 2006. V. 6. Article No. 53. doi: [10.1186/1471-2180-6-53](https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-53).
5. Radzikowski J.L., Vedelaar S., Siegel D., Ortega Á.D., Schmidt A., Heinemann M. Bacterial persistence is an active  $\sigma^S$  stress response to metabolic flux limitation. *Mol. Syst. Biol.* 2016. V. 12. Article No. 882. doi: [10.15252/msb.20166998](https://doi.org/10.15252/msb.20166998).
6. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. V. 5. P. 48–56. doi: [10.1038/nrmicro1557](https://doi.org/10.1038/nrmicro1557).
7. Grant S.S., Hung D.T. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence*. 2013. V. 4. P. 273–283.
8. Schumacher M.A., Balani P., Min J., Chinnam N.B., Hansen S., Vulić M., Lewis K., Brennan R.G. HipBA-promoter structures reveal the basis of heritable multidrug tolerance. *Nature*. 2015. V. 524. № 7563. P. 59–64. doi: [10.1038/nature14662](https://doi.org/10.1038/nature14662).
9. Dörr T., Vulić M., Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli*. *PLoS Biol.* 2010. V. 8. Article No. e1000317. doi: [10.1371/journal.pbio.1000317](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000317).
10. Tripathi A., Dewan P.C., Siddique S.A., Varadarajan R. MazF-induced growth inhibition and persister generation in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 7. P. 4191–4205. doi: [10.1074/jbc.M113.510511](https://doi.org/10.1074/jbc.M113.510511).
11. Li Y., Zhang Y. PhoU is a persistence switch involved in persister formation and tolerance to multiple antibiotics and stresses in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007. V. 51. P. 2092–2099. doi: [10.1128/AAC.00052-07](https://doi.org/10.1128/AAC.00052-07).
12. Ma C., Sim S., Shi W., Du L., Xing D., Zhang Y. Energy production genes *sucB* and *ubiF* are involved in persister survival and tolerance to multiple antibiotics and stresses in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010. V. 303. P. 33–40. doi: [10.1111/j.1574-6968.2009.01857.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01857.x).
13. Kwan B.W., Valenta J.A., Benedik M.J., Wood T.K. Arrested protein synthesis increases persister-like cell formation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. № 3. P. 1468–1473. doi: [10.1128/AAC.02135-12](https://doi.org/10.1128/AAC.02135-12).
14. Лихошвай В.А., Хлебодарова Т.М. Фенотипическая множественность клеточного цикла бактерий: математическая модель.

- Матем. биол. и биоинформ.* 2016. Т. 11. С. 91–113. doi: [10.17537/2016.11](https://doi.org/10.17537/2016.11).
15. Хлебодарова Т.М., Лихошвай В.А. Фенотипическая множественность клеточного цикла – следствие универсальных свойств сопряженной системы транскрипции-трансляции. В: *Математическая биология и биоинформатика*. Под ред. Лахно В.Д. Пушино: ИМПБ РАН, 2016. Т. 6. С. 98–99.
  16. Inouye M., Shaw J., Shen C. The assembly of a structural lipoprotein in the envelope of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 1972. V. 247. № 24. P. 8154–8159.
  17. Schaechter M., Williamson J.P., Hood J.R.Jr., Koch A.L. Growth, cell and nuclear divisions in some bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 1962. V. 29. P. 421–434.
  18. Bremer H., Dennis P.P. Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate. In: *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Eds. Neidhardt F.C. et al. Washington: ASM Press, 1996. V. 2. P. 1553–1569.
  19. Dai X., Zhu M., Warren M. et al. Reduction of translating ribosomes enables *Escherichia coli* to maintain elongation rates during slow growth. *Nat. Microbiol.* 2016. V. 2. Article No. 16231. doi: [10.1038/nmicrobiol.2016.231](https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.231).
  20. Kimura M. The role of compensatory neutral mutations in molecular evolution. *J. Genet.* 1985. V. 64. P. 7–19. doi: [10.1007/BF02923549](https://doi.org/10.1007/BF02923549).
  21. Волькенштейн М.В. Биополимеры и эволюция. *Молекулярная биология*. 1986. Т. 19. С. 55–66.
  22. Belinky F., Rogozin I.B., Koonin E.V. Selection on start codons in prokaryotes and potential compensatory nucleotide substitutions. *Sci. Rep.* 2017. V. 7. Article No. 12422. doi: [10.1038/s41598-017-12619-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-12619-6).
  23. Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G. Latent phenotype as adaptation reserve: a simplest model of cell evolution. In: *Bioinformatics of genome regulation and structure: proceeding of the second international conference*. Novosibirsk: ICG SB RAS, 2000. V. 1. P. 195–198.
  24. Likhoshvai V.A., Matushkin Yu. GS paradise: emergence of latent phenotype during evolution. In: *Bioinformatics of genome regulation and structure*. Eds. Kolchanov N., Hofstaedt R. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2004. P. 231–243.
  25. Кунин Е.В. *Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции*. М: Центрполиграф, 2014. 527 с. (Пер. с англ. Koonin E.V. *The logics of chance. The nature and origin of biological evolution*. New Jersey: FT Press Science, 2012. 529 p.).