

Проблемы систематики микроорганизмов. Филогенетика

д.м.н. Таран Т.В.

2020

Таксономия (систематика) бактерий

Научная классификация организмов, наука о разнообразии живых организмов, взаимоотношениях и родственных связях между группами (таксонами).

(от греч. *Taxis* – расположение; *nomos* – закон, порядок)

Цель – создание единой системы органического мира с учетом филогенетического родства.

Включает три раздела:

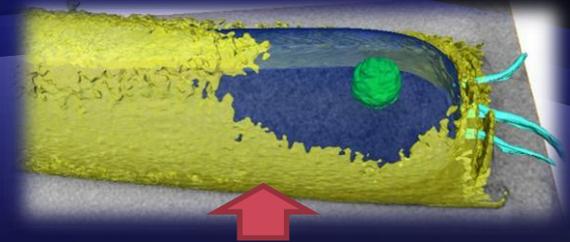
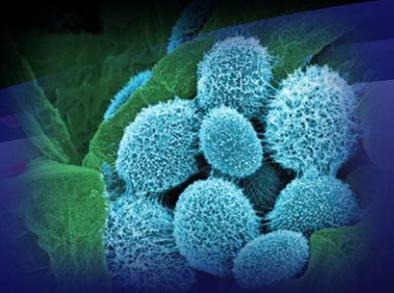
- ◆ **классификация** – ранжирование известных живых организмов по биологическим таксонам (**таксон** – единица классификации);
- ◆ **номенклатура** – порядок присвоения названий живым организмам (диктует правила наименования **таксонов**),
- ◆ **идентификация** – работа с неизвестными живыми организмами по установлению их принадлежности к тем или иным уже имеющимся таксонам.

Таксономия (систематика)

- ✿ Систематика бактерий начала активно развиваться только в конце XX в.
- ✿ Именно тогда были найдены **методы**, благодаря которым ученые смогли выявлять **основные принципы жизнедеятельности** многочисленных представителей царства бактерий.
- ✿ Ввиду того, что человек только начал изучение микроорганизмов новыми методами, **завершенной схемы прокариотического сообщества в микробиологии еще не существует.**
- ✿ Вообще сложно с уверенностью сказать, что когда-нибудь она будет составлена.

Признаки для классификации микроорганизмов по фенотипу (фенотипический метод)

- Морфологические
- Тинкториальные
- Культуральные
- Особенности питания
- Тип дыхания
- Биохимические
- Антигенные
- Чувствительность к бактериофагам
- Химические
- и др.



Метанообразующая археобактерия *Methanospirillum hungatei* и её энергетическая гранула



По определителю Берджи ранних редакций

Для идентификации и определения родства микроорганизмов ученые долгое время основывались лишь на внешнем сходстве бактерий

Современная систематика бактерий

- ◆ Конечной **целью таксономии** является построение такой системы, в основе которой лежали бы **филогенетические** (родственные) связи между прокариотными организмами
- ◆ В 60-х гг. XX в. было установлено, что все свойства организма определяются уникальными молекулами – **ДНК**, поэтому **бактерии могут быть классифицированы путем сравнения их геномов**.
- ◆ По такому признаку, как генетический материал (**ДНК, РНК**), оказалось возможным на основании выявления степени сходства делать **вывод о степени родства** между организмами.
- ◆ Основными методами современной **таксономии** являются: **генотипический, фенотипический и филогенетический**.

Bergey's Manual of
**Systematic
Bacteriology**

SECOND EDITION

Volume Four

*The Bacteroidetes, Spirochaetes,
Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria,
Fibrobacteres, Fusobacteria,
Dictyoglomi, Gemmatimonadetes,
Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae,
and Planctomycetes*

Гаксономия бактерий Определитель Берджи

- ◆ Создание «*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*» соответствует второму направлению в систематизации микроорганизмов – построению системы их филогенетического родства.

Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria

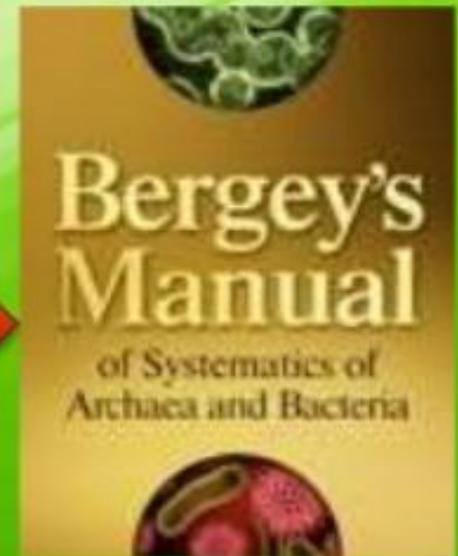
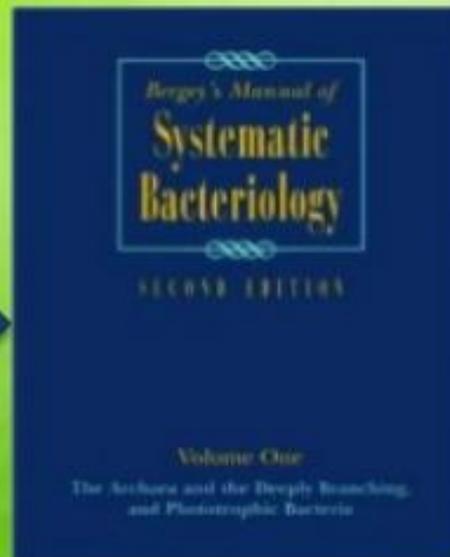
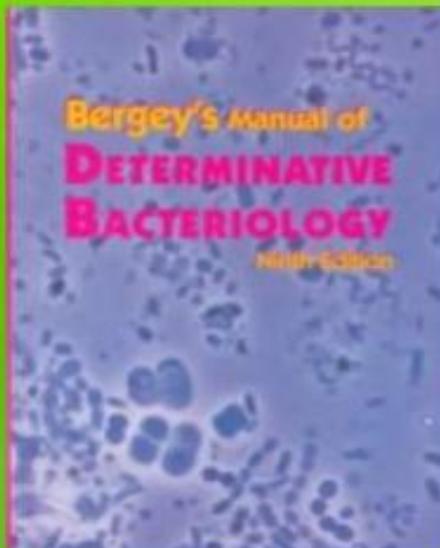
Published by John Wiley & Sons, Inc. in Association with Bergey's Manual Trust



BERGEY'S MANUAL

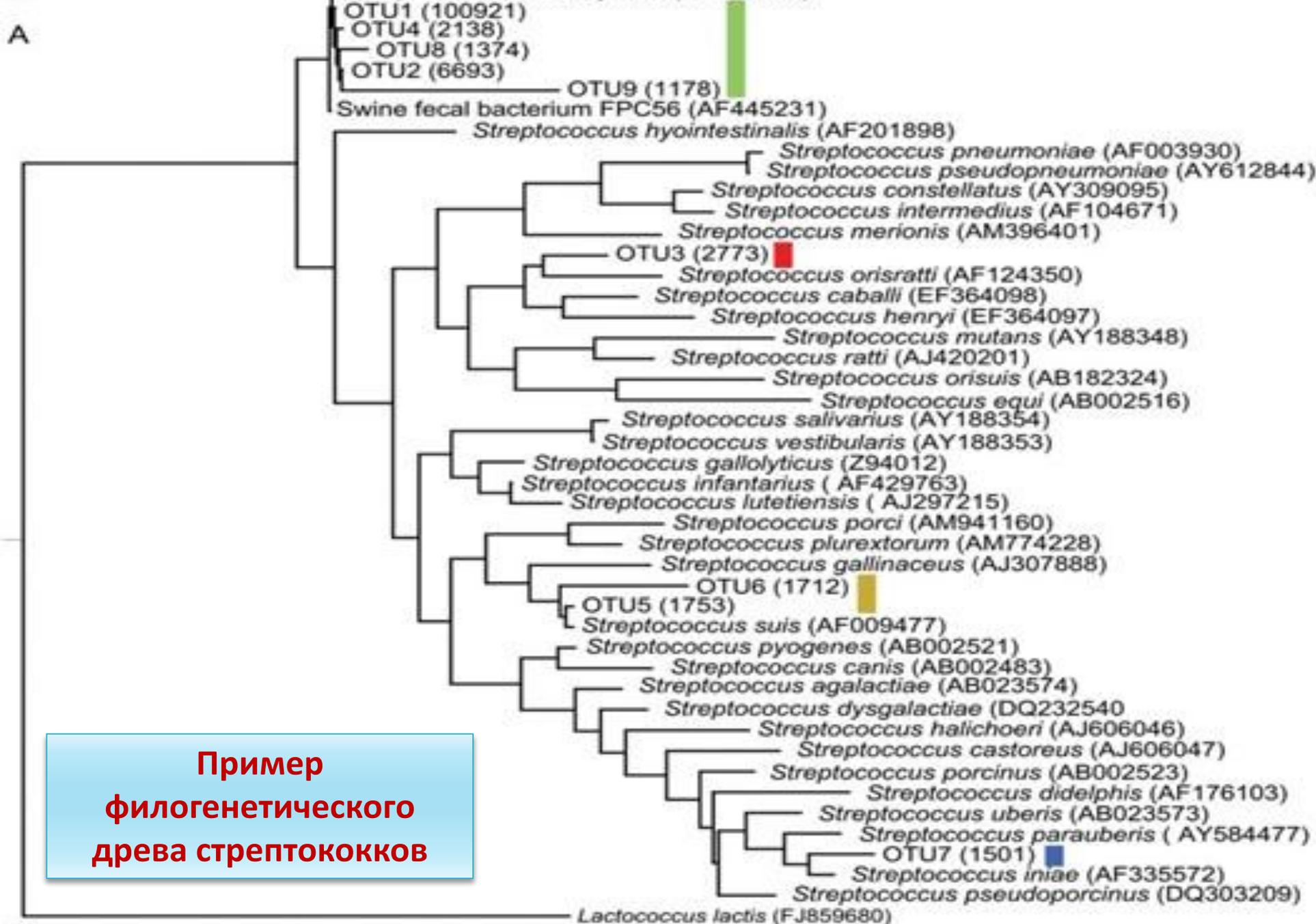
Последнее издание – 2009 г.

Авторы: Paul De Vos, George M. Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rai



Систематика микроорганизмов

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2009) отражает филогенетическое родство.
- Микроорганизмы систематизированы по:
 - **фенотипическим** признакам;
 - **генотипическим** признакам;
 - **филогенетическим** признакам (секвенирование 16S и 23S рРНК, анализ рРНК-нуклеотидных последовательностей).



**Пример
 филогенетического
 древа стрептококков**

Таксономия (систематика)

- ◆ На основе комплекса фенотипических, генотипических и филогенетических признаков микроорганизмы подразделены на доклеточные формы (вирусы – *Regnum Vira*) и клеточные формы, которые включают три домена:
- ◆ первый (1) домен «**Archaea**» – предковые прокариоты или предковые бактерии; более 5 филумов;
- ◆ второй (2) домен «**Bacteria**» – истинные прокариоты или истинные бактерии;
- ◆ третий (3) домен «**Eucarya**» – эукариотные клетки (*Regnum Fungi* и *Regnum Protista*). Высшие животные, растения, грибы – это уже не микробиология (другая систематика).
- ◆ Домены делятся на филии (или типы), которые в свою очередь делятся на классы и т.д. Так в домен «Bacteria» входит 23 филии, среди которых 6 (BXII, BXII, BIV, BVI, BVII, BXX) имеют медицинское значение.

Таксономические категории:

В классификации Bergey используются следующие группы или уровни (таксоны):

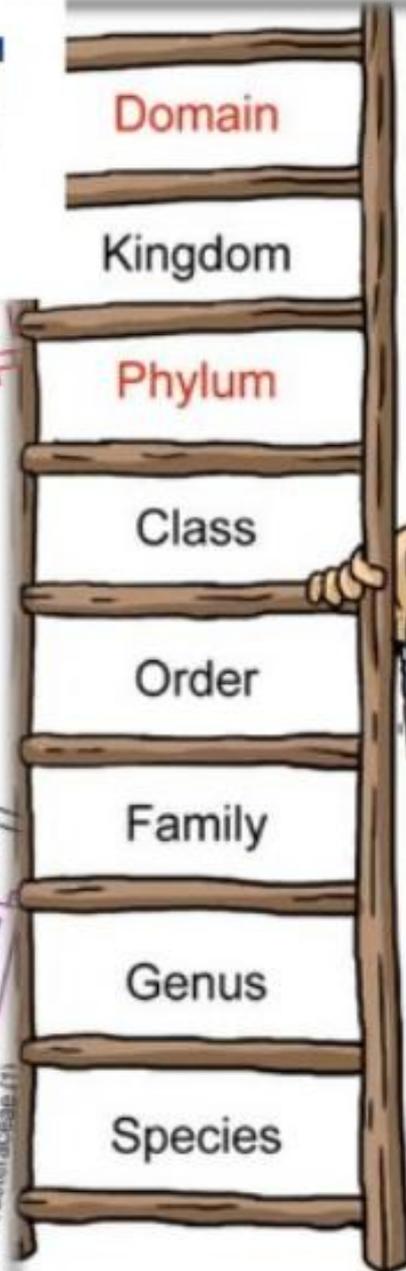
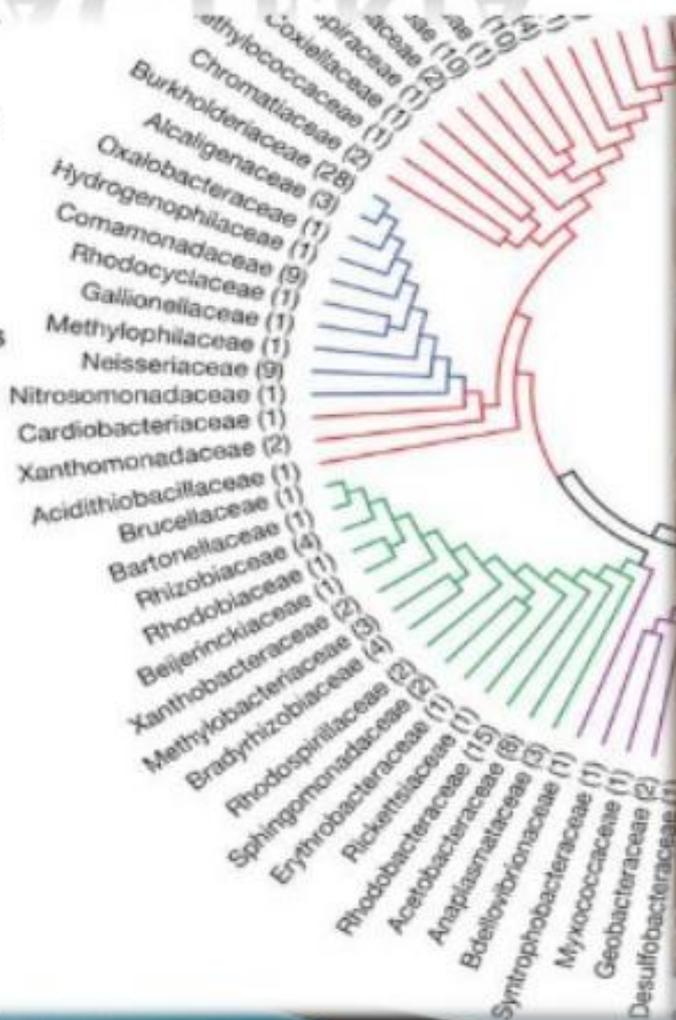
- ◆ домен – *Domain*; не всегда – царство – лат. *Regnum*;
- ◆ филум – *Phylum* (лат. – тип). В классификации прокариотов для обозначения этого таксона используется термин «филум, филии», а для эукариотов – «тип»;
- ◆ класс – *Class*;
- ◆ порядок – *Ordo*;
- ◆ семейство – *Familia*;
- ◆ род – *Genus*;
- ◆ вид – *Species*.



TAXONOMY OF BACTERIA

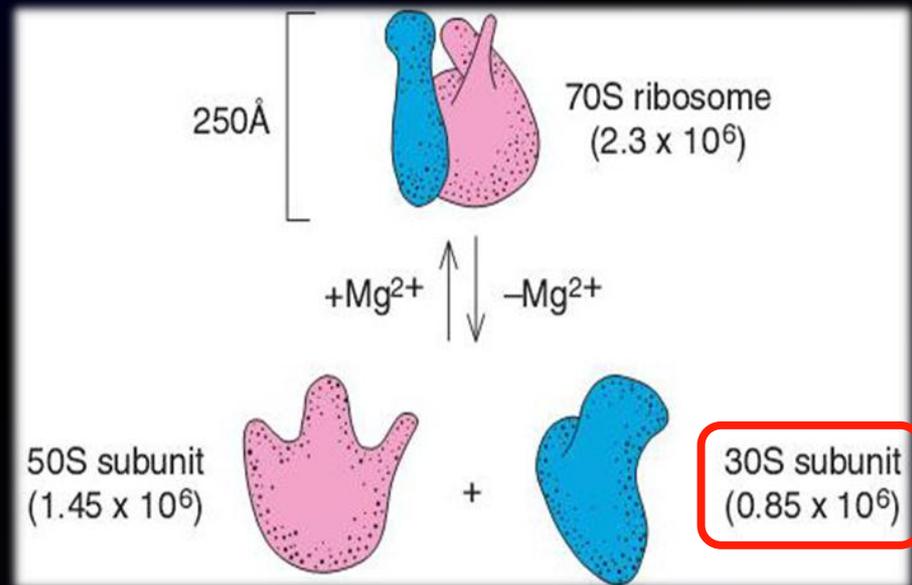
PHYLUMS

- Bacilli
- Bacteroidetes
- Clostridia
- Deinococci
- Mollicutes
- Spirochaetales
- Other



Рибосомы прокариотов

- ◆ Бактериальная клетка содержит от 5 до 50 тыс. рибосом. Различия между рибосомами бактерий (70S) и эукариот (80S) имеют решающее значение для борьбы с инфекционными болезнями, т.к. некоторые антибиотики (аминогликозиды, тетрациклины, макролиды, хлорамфеникол) подавляют синтез белка, протекающий именно на рибосомах 70S.
- ◆ Известно, что в рибосомах прокариот и эукариот присутствуют 3 типа рРНК, различающихся мол. массой и коэффициентом седиментации.
- ◆ Информационная емкость крупных молекул больше, но их труднее анализировать. Поэтому наиболее удобным оказался анализ молекул рРНК средней величины: 16S (у прокариот) и 18S (у эукариот), состоящих из 1600 и 2500 нуклеотидов.



Компоненты рибосом прокариот и эукариот

Прокариоты



70S

0,01 mM

Mg²⁺



50S

30S

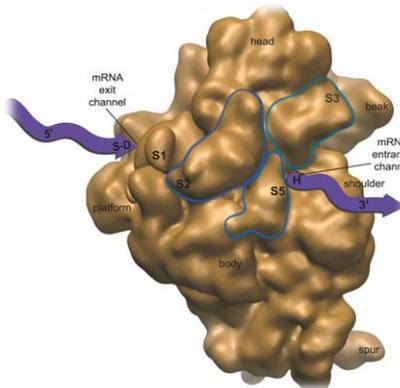
5S рРНК
(120 нукл.)

23S рРНК
(3200 нукл.)

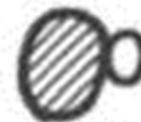
34 белка

16S рРНК
(1540 нукл.)

21 белок



Эукариоты



80S

0,01 mM

Mg²⁺



60S

40S

5S рРНК
(120 нукл.)

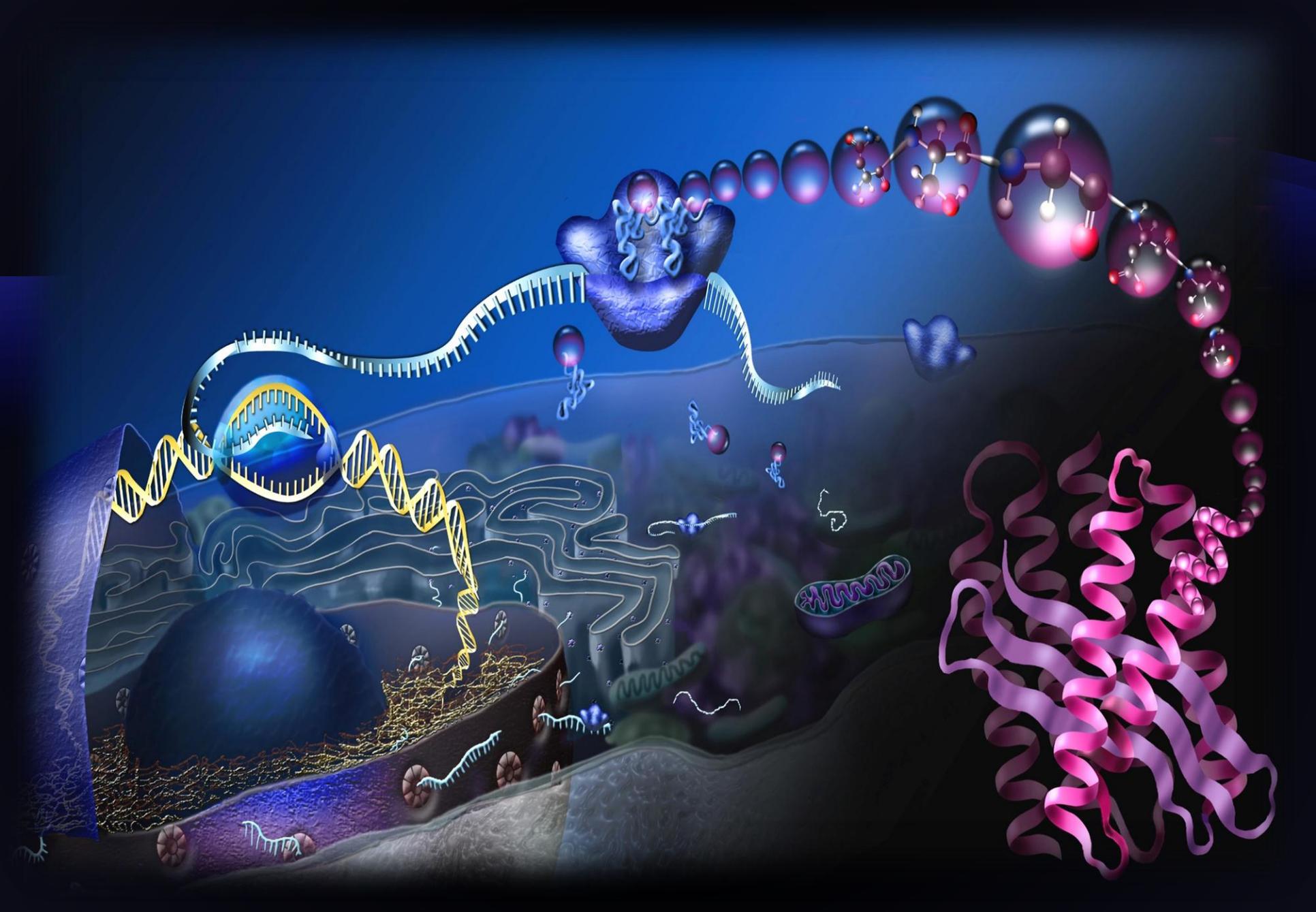
5,8S рРНК
(160 нукл.)

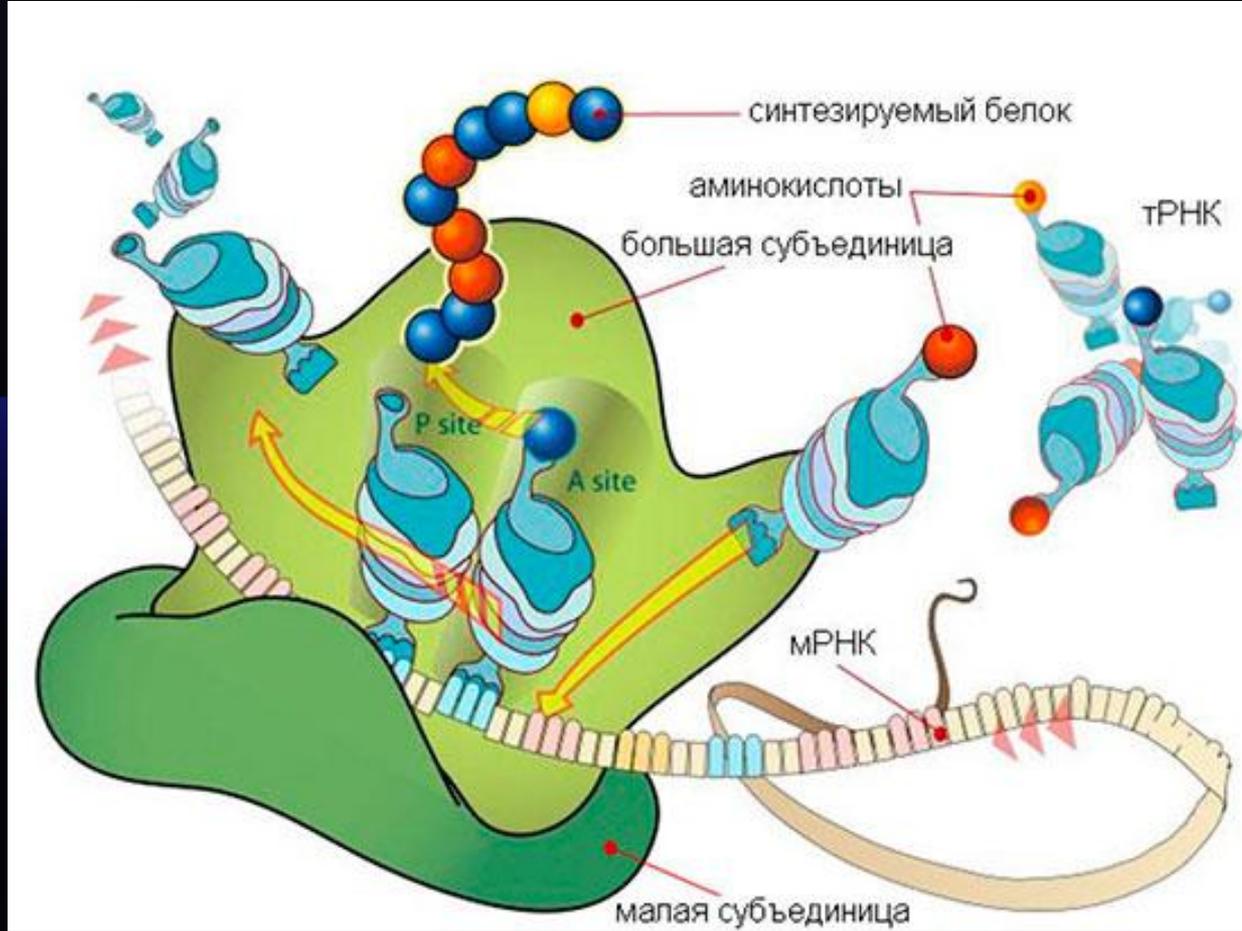
28S рРНК
(4700 нукл.)

~ 49 белков

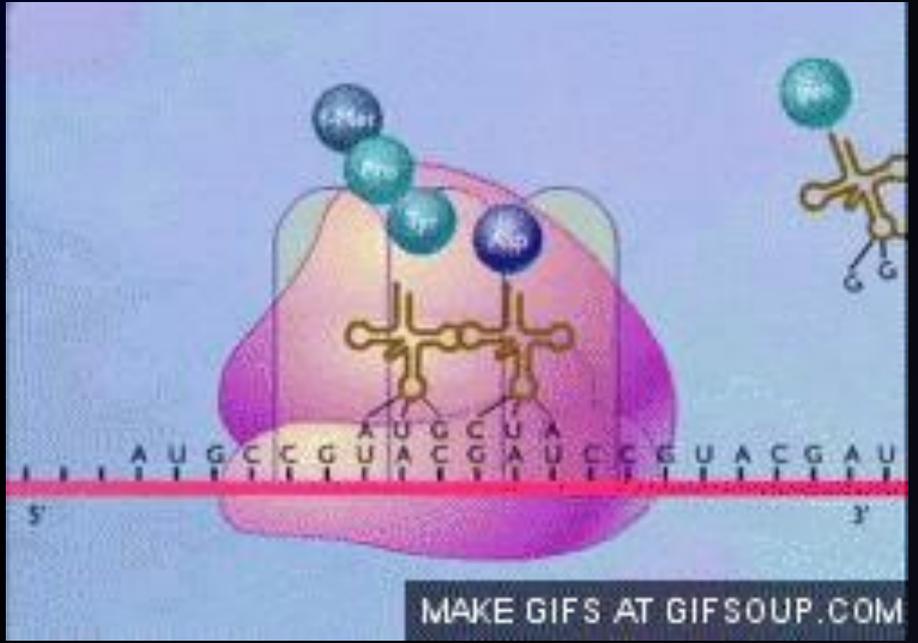
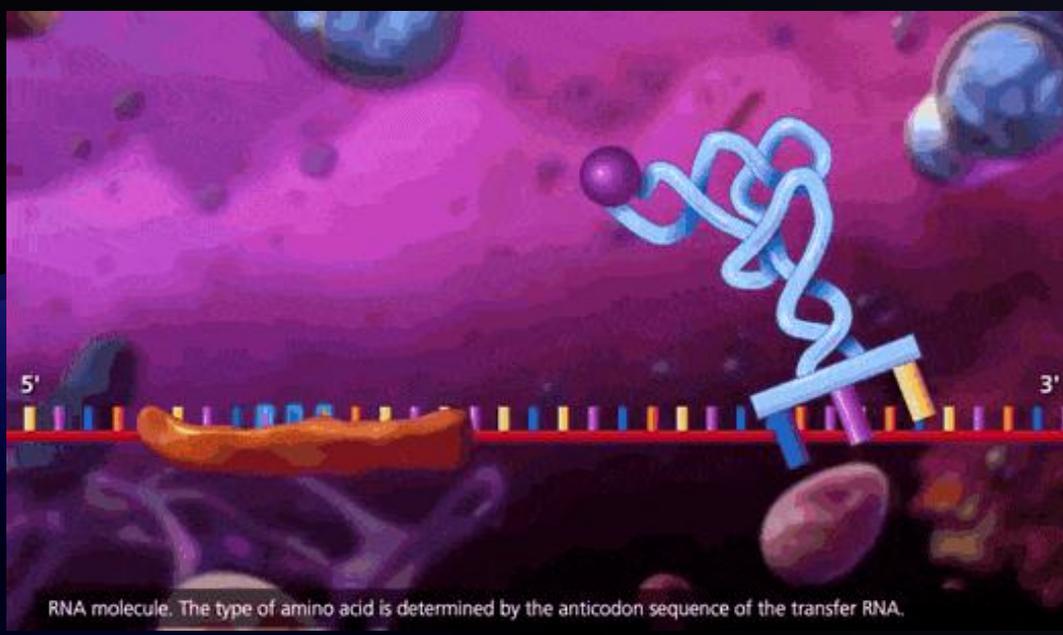
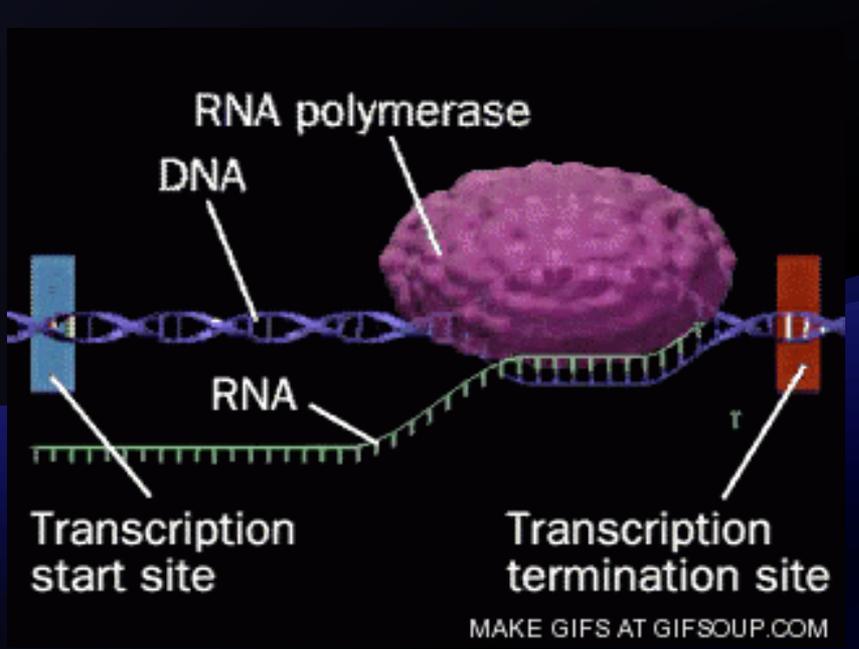
18S рРНК
(1900 нукл.)

~ 33 белка





- ◆ Схематическое изображение рибосомы в процессе трансляции. Малая субъединица связывает мРНК, а большая субъединица направляет тРНК к матричной РНК, контролируя правильное спаривания соответствующих триплетов
- ◆ Рибосома синтезирует белок из аминокислот на основе генетической информации, предоставляемой матричной РНК.



- ◆ В 1960-е годы большинство ученых не задумывалось о родстве между бактериями, т.к. эти поиски представлялись совершенно безнадёжным делом (поколения бактерий очень быстро меняются, при этом в процессе репликации происходит много ошибок и мутаций, т.о., определить предковые формы или степень филогенетического родства тех или иных бактерий было совершенно невозможно).
- ◆ Но профессор Иллинойского университета **Карл Вёзе** счёл подобное положение дел совершенно неприемлемым. Он был убеждён, что для подлинного понимания мира микробов необходимо знать историю их развития, а для этого надо было найти следы **эволюции** там, где она происходит, т.е. **в генах**.
- ◆ И **Вёзе** решил в одиночку создать **генеалогическое древо жизни бактерий**.

- ◆ Для анализа необходимо было выбрать целевой участок – **молекулу важных биополимеров**. Такая молекула должна быть консервативной и значимой для основополагающего жизненного процесса.
- ◆ Карл Вёзе, который занимался изучением рибосом, предложил для филогенетического анализа взять за основу прокариотную **16S рибосомальную РНК** (18S рРНК — для эукариотических организмов).
- ◆ Эта молекула входит в состав рибосом, которые у всех живых существ отвечают за важнейший жизненный процесс – синтез белка.
- ◆ Аппарат синтеза белка **очень незначительно меняется во времени**, так как любое сколько-нибудь существенное нарушение приводит к гибели клетки.
- ◆ Поэтому в молекулах **рРНК** разных организмов **большинство нуклеотидов неизменно**, а **изменяющаяся** в процессе эволюции часть **уникальна** для конкретного организма.
- ◆ «дизайн» мысленного эксперимента (рецепт, свисток, секундомер, клейкие листки, 20 авт. с тур, плохо говорящими по-русски)

16S рРНК

Выбор рРНК для решения проблем эволюционной систематики прокариот оказался удачным по ряду причин:

- ◆ эти молекулы обнаружены у всех клеточных форм жизни, что указывает на их **древнейшее происхождение**;
- ◆ их функции всегда одинаковы (участие в синтезе белка);
- ◆ первичная структура в целом характеризуется высокой **консервативностью**.
- ◆ Особенностью рРНК является ее нахождение вне сферы действия отбора, поэтому данные молекулы эволюционируют в результате спонтанных мутаций, происходящих с постоянной скоростью, и накопление таких мутаций зависит только от времени – **«молекулярные часы эволюции»**.
- ◆ Таким образом, **мерой эволюционного расстояния между организмами служит количество нуклеотидных замен в молекулах сравниваемых рРНК**

16S рРНК

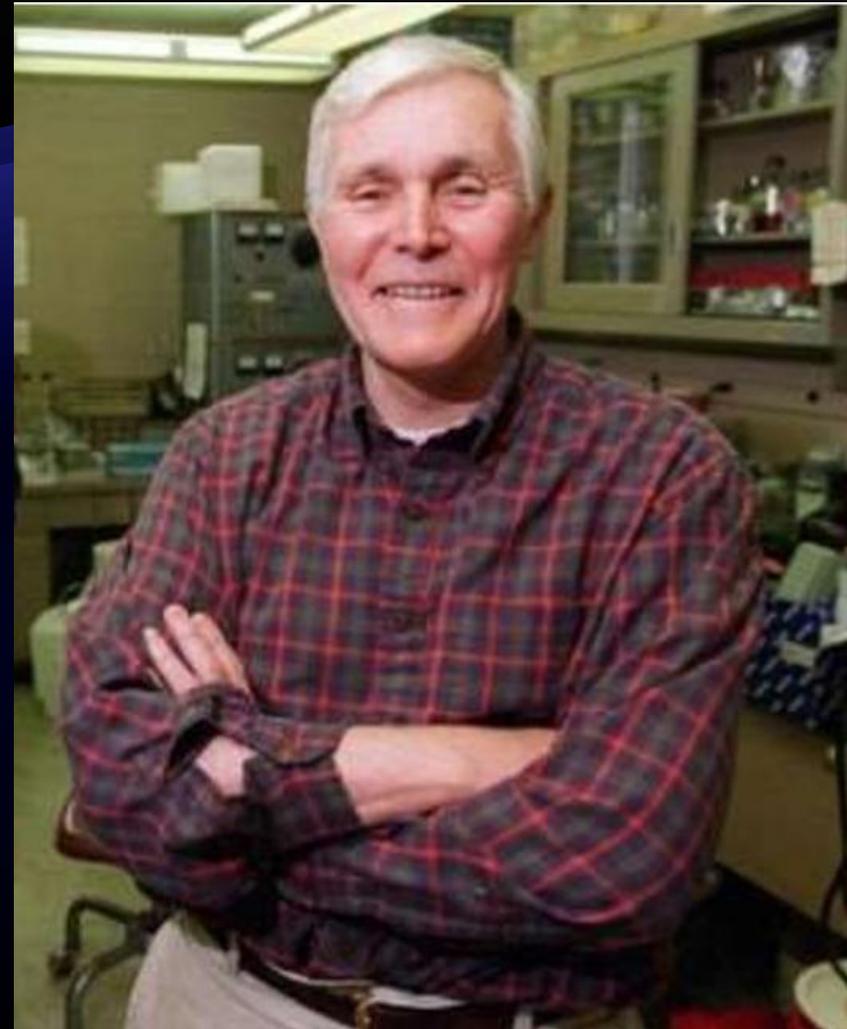
- ◆ **16S рРНК** состоит из **1600 нуклеотидов**, из которых **900** – консервативны, т.е. она обладает достаточно большой, но не чрезмерной информацией и может считаться своеобразным **биологическим генетическим «хронометром»**.
- ◆ Сравнивая с помощью специальных компьютерных программ нуклеотидные последовательности этой молекулы у разных организмов, можно получить группы сходства биологических объектов, отражающие их **родственные связи и эволюционное развитие**.
- ◆ Нуклеотидные последовательности **16S рРНК (или других частей рРНК)** изученных организмов исследователи направляют во всемирный компьютерный **генбанк**, данные которого предназначены для проведения сравнения с последовательностями каждого вновь выделенного организма.

Карл Вёзе (1928-2012) — американский микробиолог, создатель **молекулярной филогенетики** и **первооткрыватель архей**.

К. Вёзе показал, что последовательность нуклеотидов **16S рРНК** является консервативной во всём диапазоне клеточных форм жизни.

Проведённый им филогенетический анализ этой универсальной консервативной молекулы (**16S рРНК**) оказался чрезвычайно информативным.

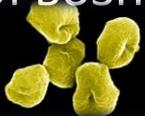
Этот анализ показал, что рРНК эволюционирует примерно с постоянной скоростью, то есть подчиняется модели **молекулярных часов**.



- **Молекулярная филогенетика** – основана на сравнении аминокислотных и нуклеотидных последовательностей белков и генов разных животных (разумеется, современных — ведь со времен кембрия ни белков, ни ДНК не осталось).
- Определение **эволюционного родства** микроорганизмов значительно продвинулось, когда для него стали использовать исследования **РНК малой субъединицы рибосом (16S рРНК)**.

Археи

- ◆ В период работы по секвенированию **16S рРНК** различных бактерий (**1967** г.) к Карлу Вёзе обратился коллега (Ральф Уолф) с просьбой определить последовательности **16S рРНК** в **метанообразующих бактериях** – предметом его изучения (производят метан, проживают в очистных сооружениях городских канализаций, в кишечнике коров и т.д.). **«Метаногены – это не бактерии!»** Это **новый ствол древа!** о внимания
- ◆ Оказалось, что **древние прокариоты метаногены** настолько сильно отличается от типичных бактерий, что никак не может входить в одно с ними царство. Так была открыта совершенно особая ветвь прокариотной жизни — архебактерии, которых вскоре стали называть просто **археями**
- ◆ У архей много **абсолютно уникальных** признаков. Например, у бактерий (и у эукариот тоже) **клеточные мембраны** состоят из сложных эфиров, образованных L-изомером глицерофосфата, а у архей — из простых эфиров, образованных D-изомером глицерофосфата; есть там и другие химические отличия.
- ◆ Эти типы мембран едва ли могли произойти один от другого. Значит, они возникли независимо.



Археи

- ◆ **1982 г. – батискаф**, Тихий океан, 2600 м, 90 °С – археи других видов. Только ч/з 10 лет их подвергли исследованию – половина их генов не была известна ранее.
- ◆ Это, наконец, подтвердило одно из самых важных открытий **эволюционной биологии** конца XX века — открытие **трёхдоменного древа жизни**.
- ◆ Третьим доменом этого древа, помимо бактерий и эукариот, являются открытый **Карлом Вёзе** домен архей.

Клеточные формы жизни:

Домены

BACTERIA

ARCHAEA

EUKARYA

Эубактерии

> 5 филумов

Fungi

Animalia

Цианобактерии

Plantae

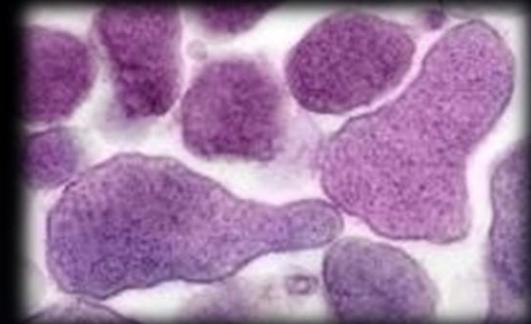
Гр-

Гр+

Микоплазмы

Сферические,
извитые,
палочковидные

Сферические,
палочковидные



- ◆ После детального изучения тех и других микроорганизмов ученые пришли к выводу, что **по ряду признаков археи оказались ближе к эукариотам, чем к бактериям.**
- ◆ Например, **архейные рибосомы больше похожи на эукариотные,** чем на бактериальные.
- ◆ В архейных генах встречаются **интроны** — некодирующие вставки, характерные в основном для эукариот.
- ◆ В то же время **устройство клетки у архей типично прокариотное:** ни ядра, ни митохондрий, ни других видимых под микроскопом структур, характерных для эукариот, там нет
- ◆ Что же касается **прокариот**... то тут опять остаётся много неясного.



- Изначально архей считали экстремофилами, живущими в суровых условиях — горячих источниках, солёных озёрах, однако потом их нашли в различных местах, включая почву, моря, болота, толстую кишку человека
- Архей особенно много в океанах, и, возможно, **планктонные археи** — самая многочисленная группа ныне живущих организмов.
- Считают, что археи являются реликтом и самыми архаичными микроорганизмами — появились, когда молодая Земля была ещё вулканически активной — ядовитый ад (а не «тихий» пруд по Дарвину)
- **Ферменты** экстремофильных микроорганизмов, **сохраняющие активность при высоких температурах и в контакте с органическими растворителями**, находят своё применение в биотехнологии.

Домен Bacteria (эубактерии)

1. Бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные (кокки, спирохеты, риккетсии)
2. Бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные (кокки, актиномицеты, коринебактерии, микобактерии, бифидобактерии)
3. Бактерии без клеточной стенки (класс Mollicutes – микоплазмы)

Домен Archaea (археи)

Древняя форма жизни. Имеют свою независимую **эволюционную** историю и характеризуются многими **биохимическими** особенностями, отличающими их от других форм жизни. Археи не содержат **пептидогликан** в клеточной стенке, коренным образом отличаются строением **плазматических** мембран.

Они имеют **особые рибосомы** и **рибосомные РНК, нуклеоид.**

Не формируют спор.

Среди них нет возбудителей инфекций?

- ◆ В настоящее время признано, что **эукариоты** — **эволюционная химера**, т.е. эволюционная ветвь, происходящая от одного-единственного предка (которым, скорее всего, была архея, вступившая в симбиоз с альфа-протеобактерией – **эндосимбиотическое слияние** с вовлечением **и бактерий, и архей**). И таксон “эукариоты” включает в себя эту ветвь целиком
- ◆ Другими словами – именно **археи стали переходным звеном между бактериями и эукариотами.**



Филогенетические методы

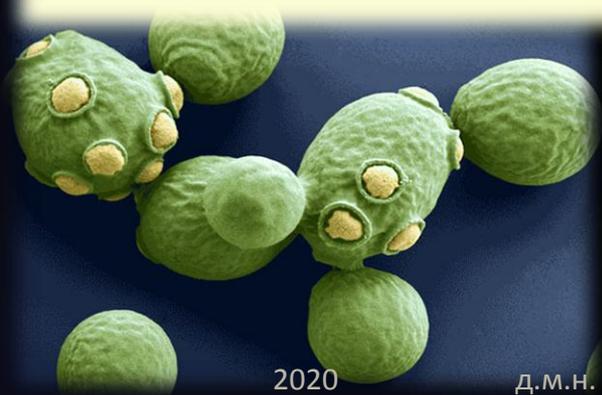
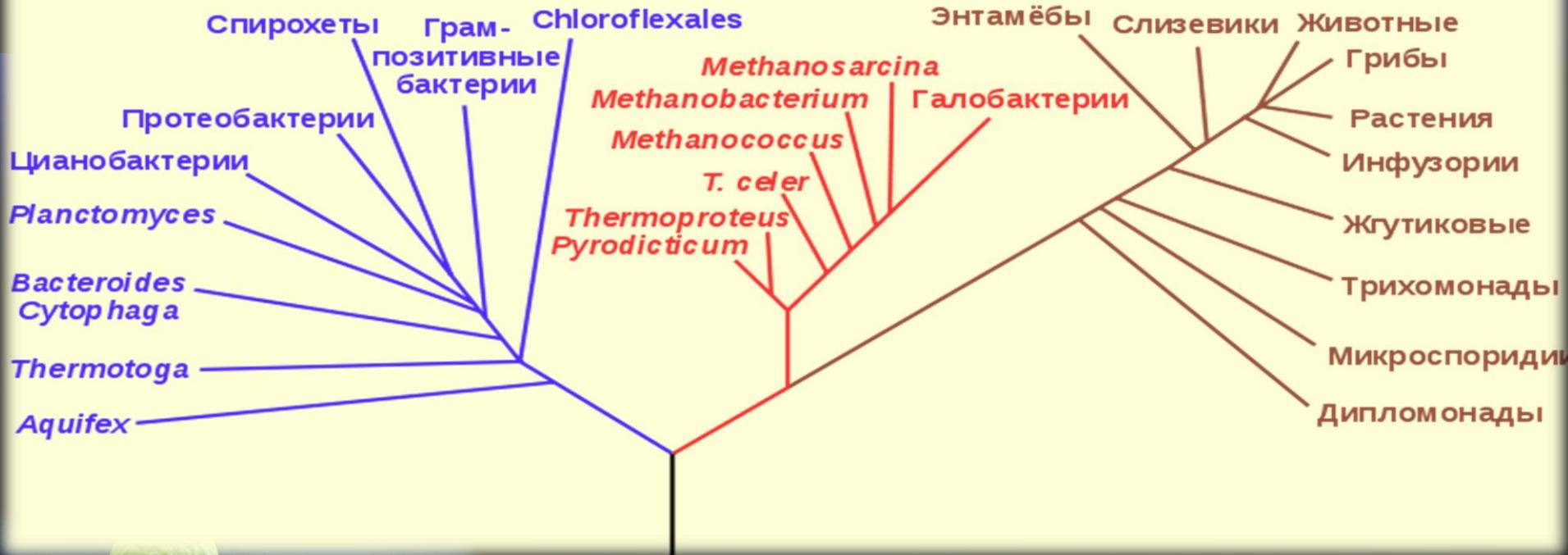
- ◆ Филогенетические методы (от греч. phylon – род, племя и genesis - происхождение, возникновение) **позволяют проследить процесс исторического развития микроорганизмов** как в целом, так и их отдельных таксономических групп: видов, подвидов, родов, семейств, порядков, подклассов, классов, царств и доменов.
- ◆ На основании полученных данных строятся **филогенетические древа**, которые отражают **эволюционные взаимоотношения** между микроорганизмами.
- ◆ Создаваемые **филогенетические древа не могут быть использованы для построения иерархической классификации** микроорганизмов и не заменяют собою систематику. Они **являются одним из ее элементов**.

Филогения живых организмов

Бактерии

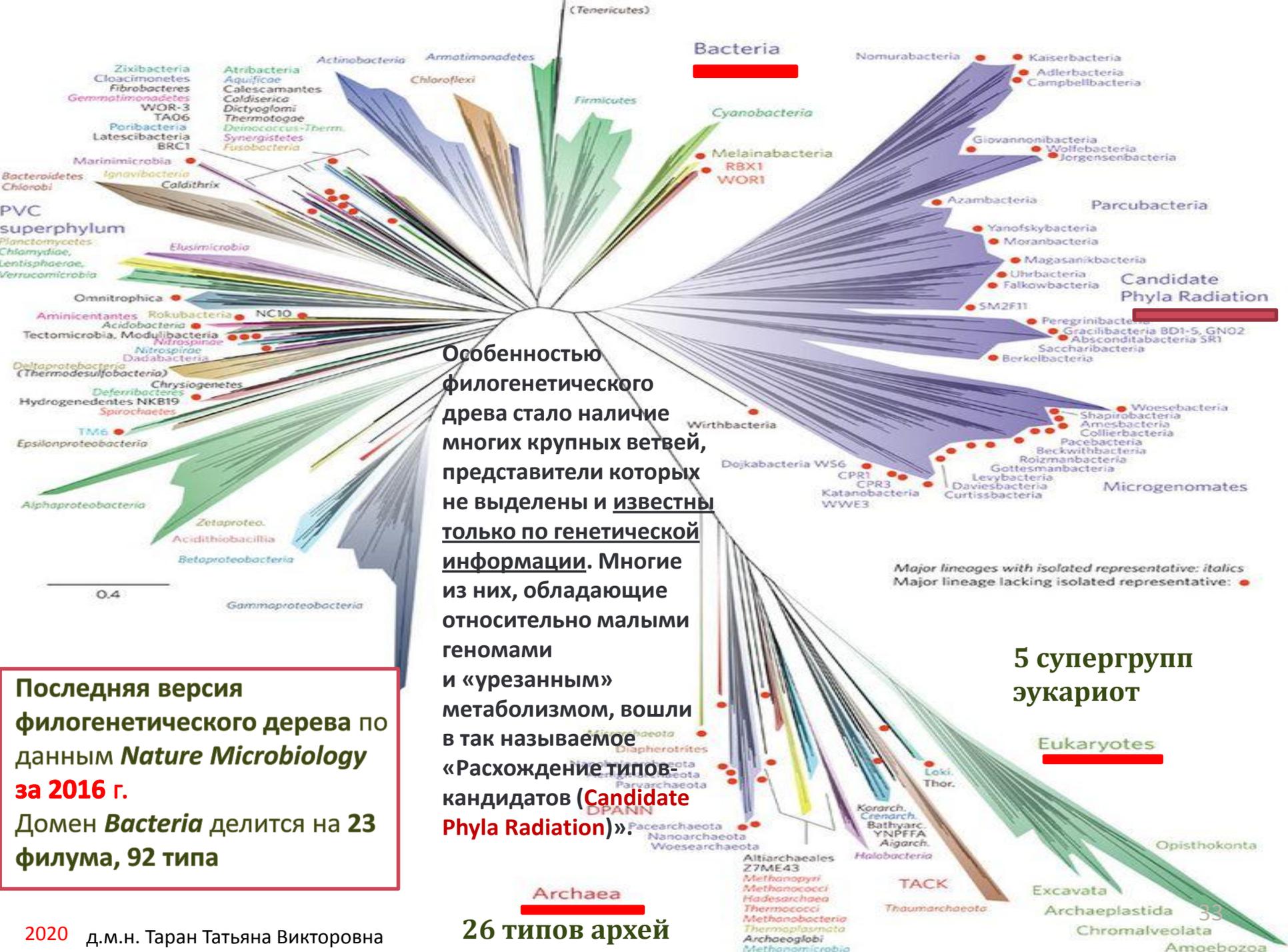
Археи

Эукариоты



Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. В эукариотической клетке дрожжей имеется **6704** гена, из них **2460** имеют прокариотическое происхождение.

Среди «прокариотных» генов **952** — **зубактериальные** гомологи, а **216** — **архейные** гомологи.



Особенностью филогенетического дерева стало наличие многих крупных ветвей, представители которых не выделены и известны только по генетической информации. Многие из них, обладающие относительно малыми геномами и «урезанным» метаболизмом, вошли в так называемое «Расхождение типов-кандидатов (Candidate Phyla Radiation)».

Major lineages with isolated representative: *italics*
 Major lineage lacking isolated representative: ●

5 супергрупп эукариот

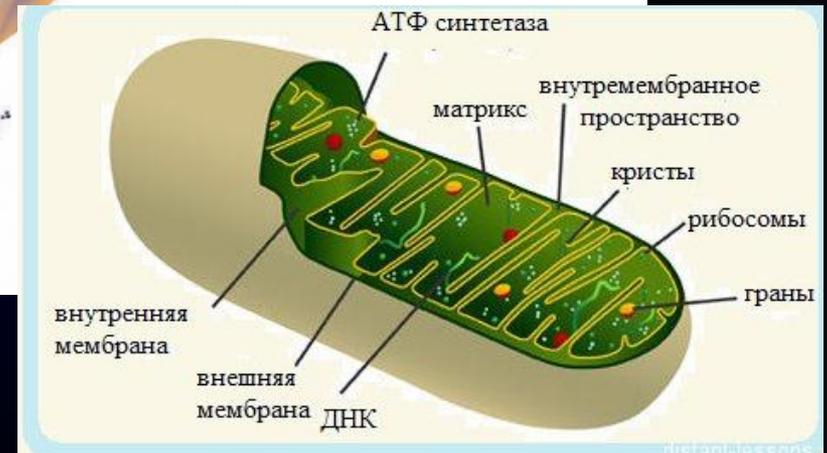
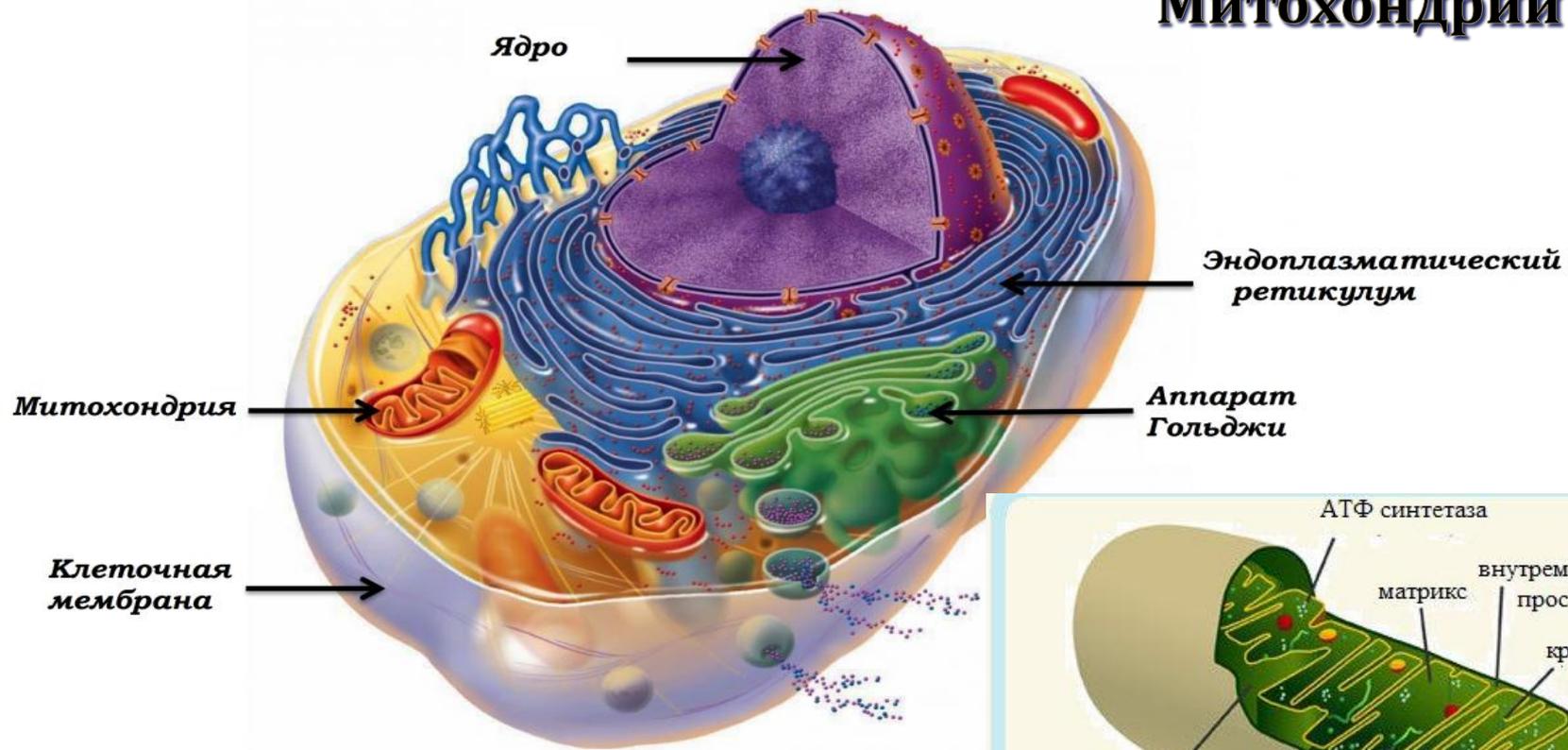
Последняя версия филогенетического дерева по данным *Nature Microbiology* за 2016 г.
 Домен *Bacteria* делится на 23 филума, 92 типа

Развитие филогенетических методов анализа

- ◆ Последовательности **rРНК** позволили микробиологам, таким как Вёзе и Фокс, переписать древо жизни.
- ◆ На сегодняшний день разрабатываются методы, основанные на **трехмерных структурах рибосом в высоком разрешении** (Нобелевская премия «за исследования структуры и функций рибосомы», 2009), позволяющие читать древнюю информацию, сохранившуюся глубоко внутри рибосомы
- ◆ Структура рибосомы, определенная методом рентгеновской кристаллографии и криоэлектронной микроскопии, теперь известна у многих видов, и данные продолжают быстро накапливаться.
- ◆ **Трехмерная структура меняется со временем намного медленнее последовательности, обеспечивая возможность открыть далекое прошлое.**

- ◆ Одновременно с созданием трёхдоменного древа жизни наукой было доказано, что митохондрии и хлоропласты имеют прокариотное симбиотическое происхождение.

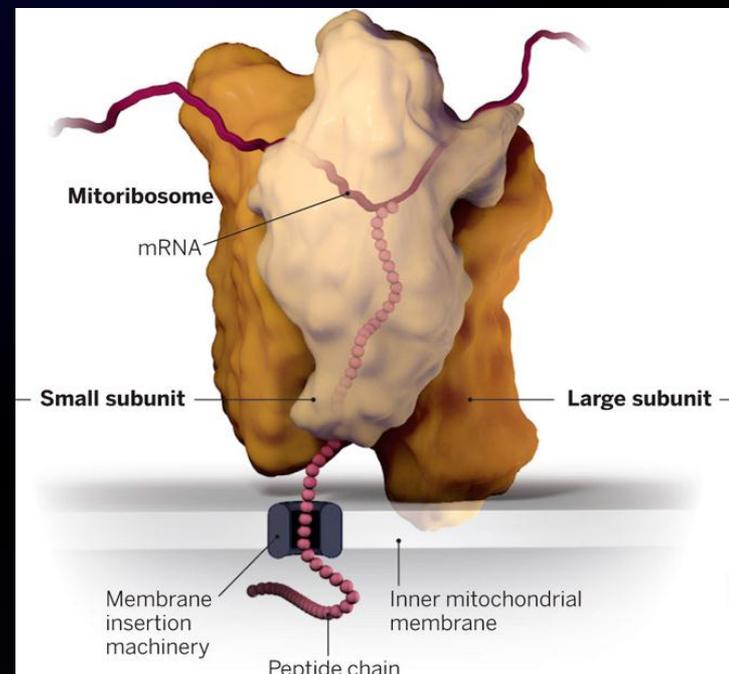
Митохондрии



Митохондрии — обязательные органеллы эукариотической клетки. Они состоят из двухслойной мембраны, образующей многочисленные складки (кристы), на которых сидят **рибосомы**. Между складками — **матрикс**.

- ◆ Митохондрии – небольшие продолговатые образования во всех клетках эукариотов (от 1 до 1000 в зависимости от вида клетки).
- ◆ Функция: синтез молекул АТФ, энергетический центр клетки
- ◆ Синтез **собственных белков, НК, углеводов и липидов**
- ◆ Образование **собственных рибосом**
- ◆ В матриксе митохондрий содержится **собственная ДНК**, отличающаяся от **ядерной ДНК** той же клетки – т.е., имеют собственный геном, больше похожий на прокариотический

Митохондриальная
рибосома
(миторибосома)



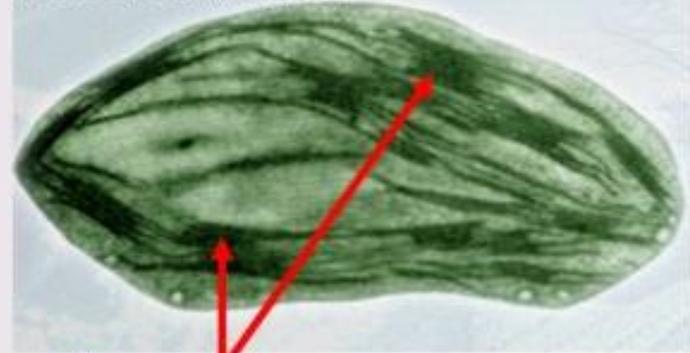
Полуавтономные органоиды

МИТОХОНДРИЯ



Кристы (содержат
встроенные ферменты,
обеспечивают синтез АТФ)

ХЛОРОПЛАСТ



Граны (стопки из
тилакоидов)

- ◆ Способны к автономному делению – независимо от деления клетки
- ◆ Предполагается, что несколько млрд лет назад **археи** «пленили» некоторые **бактерии** (риккетсии и сине-зелёные водоросли), тем самым увеличив свой геном и приобретя органеллы – это **прообраз и предок эукариотической клетки** (только эволюция по Дарвину не могла совершить такой «скачок» от прокариот к эукариотам).
- ◆ Поэтому анализ митохондриальных рибосом и ДНК также приобретает всё большее значение для филогенетического анализа

- ◆ Т.о., в настоящее время для оптимизации филогенетического анализа и классификации должно использоваться **сразу несколько специально подобранных современных методов**, а лучше – секвенирование и анализ всего генома (включая «прыгающие гены»)

Неопределённости в современной филогенетической систематике

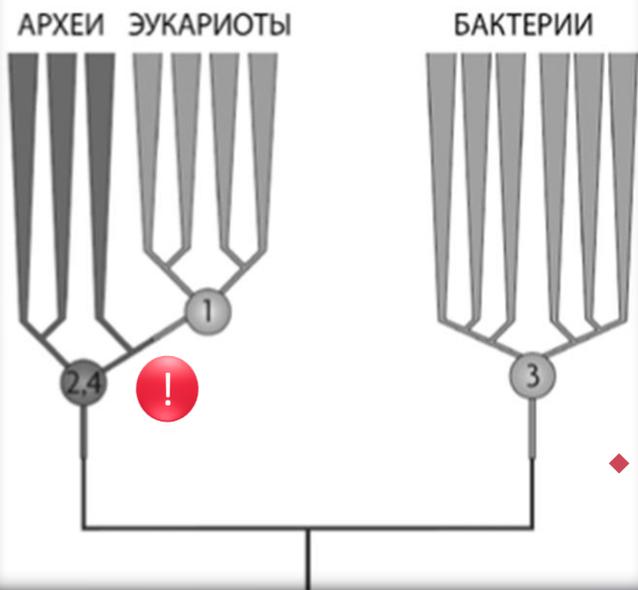
- ◆ Опыт показывает, что научные истины никогда не стоит воспринимать как “высеченные в граните”
- ◆ Итак, эукариоты произошли от архей. Это твердо установленный факт (симбиотический компонент эукариотной клетки, происхождение которого однозначно бактериальное, мы сейчас временно не учитываем). Но что, собственно, значит “произошли от архей”?
- ◆ Одно дело, если **эукариоты** и **археи** — это **две ветви**, разошедшиеся от уникального для них общего предка. В этом случае их надо считать **«сестринскими» группами**, а вот предками или потомками друг друга называть, строго говоря, нельзя.

- ◆ И совсем другое дело, если **эукариоты отпочковались от какой-то из групп архей уже после того, как древо самих архей разветвилось**. Тогда эукариоты действительно окажутся потомками архей.
- ◆ Но одновременно это будет означать, что **эукариот** надо считать **не отдельным доменом, а группой внутри архей** — так сказать, их подмножеством.
- ◆ Тем не менее именно эта вторая возможность сейчас и подтверждается.

В 2015-17 гг. после глубоководных исследований Северного Ледовитого океана были открыты 4 группы архей с общим наименованием **асгардархеоты** (локи-, óдин-, тор-, хеймдалльархеоты) — археи, однозначно более **близкородственны эукариотам**, чем любым другим археям:

- ◆ У них есть белки, близкие к **актину** — белку, из которого у эукариот образуются микрофиламенты, важнейшие составные части цитоскелета (генов актиноподобных белков у них несколько штук);
- ◆ **тубулин** — белок, из которого у эукариот состоят микротрубочки;
- ◆ **другие белки**, которые раньше считались уникальными для эукариот.
- ◆ Иными словами, существует эволюционная ветвь, которая включает **асгардархеот, эукариот** и больше никого.
- ◆ Более того, похоже, что **сами эукариоты — это всего лишь веточка глубоко внутри эволюционного “куста” асгардархеот**; например, хеймдалльархеоты генетически гораздо ближе к эукариотам, чем даже к торархеотам или óдинархеотам.
- ◆ Как бы там ни было, эти данные очень хорошо подкрепляют **двудоменную** систему жизни.

Современный "двудоменный" сценарий



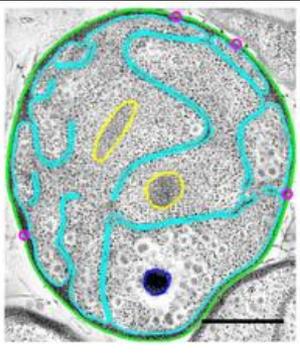
1 – общий предок эукариот; **2** – общий предок архей; **3** – общий предок бактерий; **4** – общий предок эукариот и архей.

Тогда эукариоты оказываются всего лишь ветвью архей (с точки зрения филогенетической систематики). (в этом случае **таксон архей** будет **парафилетическим**.)

- ◆ По мере развития генетических исследований становится все яснее, что **эукариоты** эволюционно **ближе к одним археям, чем к другим**.
- ◆ И в свою очередь, **некоторые археи ближе к эукариотам, чем друг к другу**: например, **асгардархеоты** доводятся куда более близкими родственниками эукариотам, чем, например, **эвриархеотам**.
- ◆ Все это означает, что ветвь эукариот возникла довольно глубоко внутри архейного дерева. Попросту говоря, **эукариоты — это специализированная веточка архей**.
- ◆ А в таком случае на смену **трехдоменному древу** жизни неизбежно должно прийти **двудоменное**

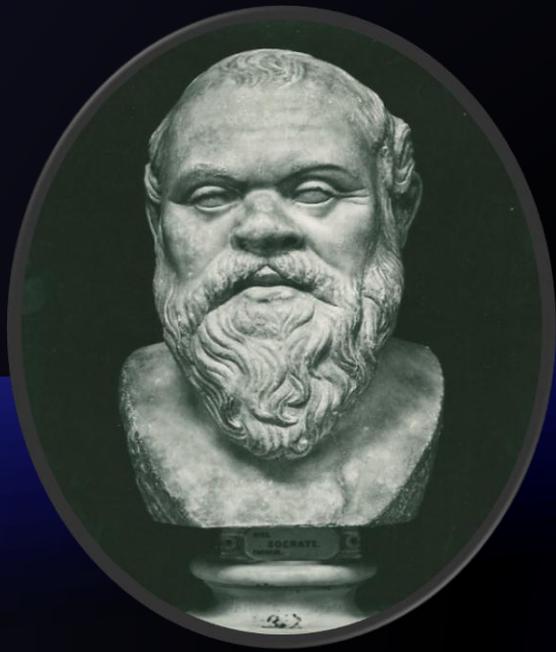
Еще неопределенности...

- ◆ Поглощение [археей грам(-) бактерии из группы **планктомицетов** или наоборот?] или слияние?
- ◆ Плазматические **мембраны** и эндоплазматическая сеть – все мембраны **бактериальные**, а не архейные.
- ◆ **Ядро**? Оно явно архейное.
- ◆ Приобретение **митохондрий** (риккетсий)? Уже после слияния?



Планктомицёты (*Planctomycetes*) — тип грамотрицательных бактерий, отличающихся уникальной клеточной структурой, а именно наличием сложной системы замкнутых мембран. Сравнение нуклеотидных последовательностей некоторых **генов** показывает бóльший уровень гомологии с таковыми у **эукариот**: например, один ген у вида *Gemmata obscuriglobus* проявляет большой уровень гомологии с геном, кодирующим **белок интегрин альфа-V**, играющий большую роль в трансмембранной передаче сигнала у эукариот.

- ◆ Можно сказать, что **в настоящее время мы находимся только у истоков создания единой концепции эволюции и систематики микроорганизмов**



др.-греч. философ **Сократ**
(470-399 до н. э.):

«Scio me nihil scire» (лат.)

Я знаю, что ничего не знаю (сцио мэ нихиль сцирэ)



Благодарю за
внимание

Спасибо!

