



В 2015 г. наша исследовательская группа из Лимнологического института СО РАН опубликовала расшифрованный геном диатомовой водоросли *Synedra acus*, обитающей в Байкале. И хотя сейчас «прочитать» геном живого организма гораздо проще и дешевле, чем лет десять назад, эта работа по-прежнему требует сложного оборудования и дорогостоящих реактивов. Почему же ученые из ЛИНа взялись за этот масштабный проект, и почему именно диатомовая водоросль была выбрана в качестве объекта исследования?

Диатомовые водоросли представляют большой интерес для ученых из самых разных областей науки. Благодаря своей многочисленности, разнообразию и широкому распространению – от океанов и озер до торфяных болот и антарктических льдов – диатомеи обеспечивают до 20 % первичной продукции биосферы Земли, к тому же клетки этих водорослей заключены в кремнеземные створки сложной наноразмерной структуры, хорошо сохраняющиеся в геологических отложениях. Тем не менее на данный момент опубликованы геномы всего шести видов диатомей, включая нашу синедру, а это очень мало для такой огромной группы (Armbrust *et al.*, 2004; Bowler *et al.*, 2008; Tanaka *et al.*, 2015; Галачьянц и др. 2015).

МОРОЗОВ Алексей Анатольевич – аспирант и ведущий инженер группы биоинформатики отдела ультраструктур клетки Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 4 научных работ

Диатомеи обеспечивают до 20 % первичной продукции биосферы Земли. Это значит, что один из каждого пяти атомов углерода, вовлеченный в биологический круговорот, был ассимилирован из атмосферной углекислоты именно клеткой диатомовой водоросли

Ключевые слова: диатомеи, геномика, филогеномика, эволюция, Синедра.

Keywords: diatoms, genomics, phylogenomics, evolution, *Synedra*

© А. А. Морозов, 2016

К примеру, в близкой к диатомеям группе оомицетов – сходных с грибами организмов с многоядерным мицелием, у одного только рода фитофтора было отсеквенировано четыре вида из сотни. Дело в том, что фитофторы – это печально известные патогены культурных растений, и если анализ их генома позволит разработать более эффективные методы борьбы с ними, то потраченные на это средства тут же окупятся стократно. Диатомеи же до последнего времени интересовали преимущественно фундаментальную науку. С другой стороны, если ученым удастся «реконструировать» механизмы формирования кремнеземных створок, это станет настоящим прорывом в нанотехнологиях, но не раньше, чем исследования будут завершены. Сейчас же геномикой диатомеи во всем мире занимается меньше десятка лабораторий.

Геном как ключ к эволюции диатомей

Секвенирование генома позволяет решать ряд важных задач, которые нельзя или затруднительно решить с помощью других методов исследования, таких как микроскопия или биохимический анализ.

Во-первых, благодаря знанию генетической информации становится гораздо проще искать белки, отвечающие за те или иные функции (Галачьянц и др., 2015). После завершения геномного проекта у исследователя имеется несколько десятков тысяч «прочтенных» генов и, соответственно, предсказанных белков. Часть этих генов может быть опознана сразу, потому что аналогичные им уже были изучены и описаны у других организмов. Для остальных можно, по крайней мере, оценить массу белков, которые они кодируют, а также провести поиск «родственников» в других геномах. Также несложно выяснить, является ли искомый белок трансмембранным или нет, и в какую клеточную органеллу он направится после синтеза. А при наличии транскриптов (совокупности всех «считанных» с генов нуклеотидных последовательностей, включая мРНК и некодирующие РНК, которые клетка синтезирует в тот или иной период времени) можно узнать, при каких обстоятельствах экспрессируется, т. е. начинает работать тот или иной ген.

Нашу группу в первую очередь интересуют гены, вовлеченные в метаболизм кремния, в то время как основная цель, например, группы японского исследователя Т. Танаки, «прочитавшей» геном *Fistulifera solaris*, состояла в использовании этой морской диатомовой водоросли в качестве продуцента биотоплива (Tanaka et al., 2015).

Во-вторых, лишь при наличии полных геномов (именно во множественном числе!) можно изучать

«После гибели диатомей их пустые прочные кремнистые створки прекрасно сохраняются в осадках. Причем зачастую неповрежденными остаются даже мельчайшие элементы структуры ископаемых стенок диатомей, что позволяет идентифицировать их до вида спустя миллионы лет.

С помощью метода молекулярных часов удалось установить, что диатомовые водоросли появились около 230 млн лет назад. Вероятно, первые диатомеи были обнаженными жгутиковыми клетками (в настоящее время их относят к *Heterokonta* – разножгутиковым, так как на некоторых стадиях жизненного цикла они имеют один жгутик с тончайшими волосками).

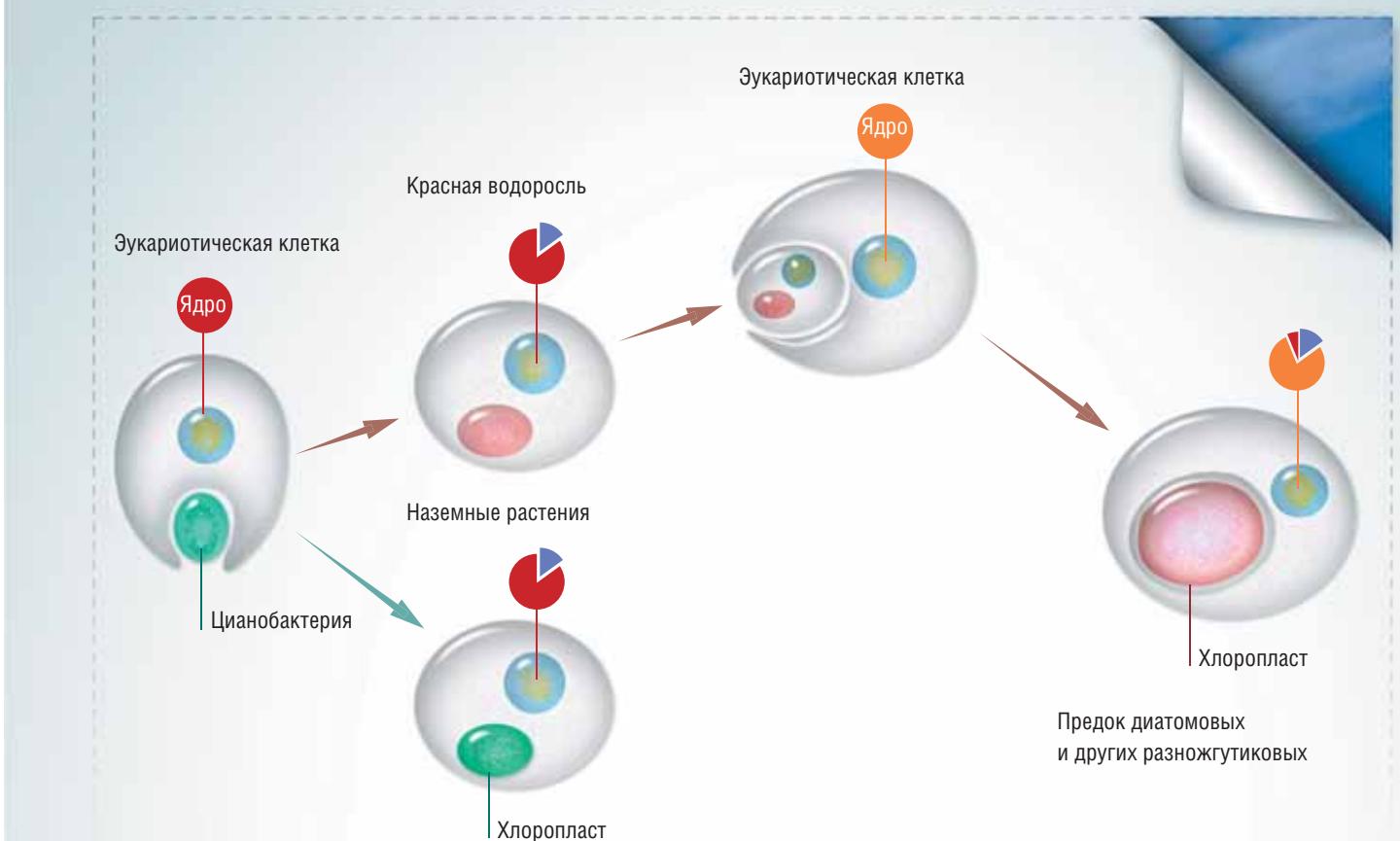
Самые ранние отложения диатомей были найдены в Корее, в осадках, сформировавшихся на суше. Была высказана гипотеза, что океан, отступивший около 230 млн лет назад, оставил за собой лужи, где и обитали жгутиковые диатомеи. Они стали использовать кремнезем, тормозящий процесс старения, чтобы переживать в стадии покоя неблагоприятные условия.

Древние диатомеи потребляли так много кремнезема, что он начал осаждаться в клетках, по-видимому, сначала в виде маленьких чешуек, которые выдавливались из клеток и создавали вокруг них защитную оболочку, препятствующую обезвоживанию при высыхании мелководных водоемов» (Медлин, Симс, 2006, с. 28)

некоторые аспекты эволюции, которая у группы водорослей-гетероконтов, к которым относятся диатомеи, очень интригующая.

На сегодня считается доказанным, что хлоропласти растений, в которых происходит фотосинтез, обязаны своим происхождением эндосимбиозу: некогда клетка цианобактерии была поглощена эукариотической клеткой, но не переварилась, а стала функционировать внутри хозяина, постепенно упростившись до вида современной внутриклеточной органеллы. При этом большая часть генов эндосимбионта была перенесена в геном хозяина. Что же касается гетероконтов и, в частности, диатомовых водорослей, то предполагается, что их предки проглотили, в свою очередь, уже эукариотическую красную водоросль вместе с ее хлоропластом.

Подтверждением этой теории служит наличие четырех (вместо обычных двух) мембран, окружающих хлоропласти диатомовых, а также открытие в их геноме свыше 170 генов красных водорослей (Bowler et al., 2008). Именно поэтому в геномах диатомей присутствуют гены, восходящие к участникам обоих эндосимбиозов. Кроме того, в них были обнаружены гены различных прокариот (протеобактерий, архей и др.), попавшие путем так называемого горизонтального переноса, а также большое количество уникальных генов, аналогов которым нет у других живых организмов.



Последние генетические данные свидетельствуют в пользу гипотезы, что диатомеи, наряду с другими водорослями из группы *Heterokonta*, появились около 1 млрд лет назад в результате симбиоза нефотосинтезирующего одноклеточного эукариотического организма с одноклеточной красной водорослью, чей фотосинтезирующий орган (хлоропласт) напрямую произошел от симбиотических цианобактерий

Чтобы установить историю отдельного гена, достаточно отсеквенировать один лишь этот ген для определенной выборки организмов, что гораздо быстрее и дешевле секвенирования полного генома и позволяет включить в анализ гораздо больше видов. Но реконструкция сложных эволюционных событий требует изучения истории всех генов у всех представителей группы, и эту информацию могут дать только полные геномные исследования.

В нашем случае выбор объекта исследования был связан в первую очередь с тем, что *Synedra acus* является пресноводным видом. И тот факт, что она извлекает необходимое ей количество кремния даже из байкальской воды, известной своей низкой минерализацией, делает синедру идеальным кандидатом для исследования механизмов импорта этого элемента, а также других адаптаций к пресноводному образу жизни. Во-вторых, эта водоросль стала первым отсеквенированным представителем крупной группы бесшовных пеннатных диатомей, что открывает возможность проследить историю формирования тех или иных молекулярных механизмов и особенностей генома среди разных таксонов диатомовых.

Наша работа с геномом синедры не заканчивается публикацией результатов секвенирования. Уже получены многообещающие данные о структуре отдельных генов, участвующих в метаболизме кремния, и ведутся исследования соответствующих белков. В планах – получение транскриптома, что позволит оценить экспрессию интересующих нас генов и расширить знания об их регуляции.

Литература

Галачьянц Ю.П. и др. Определение нуклеотидной последовательности полного генома бесшовной пеннатной диатомеи *Synedra acus* subsp. *Radians* из озера Байкал // Докл. РАН. 2015. Т. 461 № (3). С. 348–352.

Armbrust E. V. et al. The Genome of the Diatom *Thalassiosira pseudonana*: Ecology, Evolution and Metabolism // Science. 2004. Vol. 306 (5693). P. 79–86.

Bhattacharya D., Qui H., Price D. C. Why we need more algal genomes. // J. Phycol. 2015. Vol. 51 N.(5). P. 1–5.

Bowler C. et al. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes // Nature. 2008. 456: 239–244.

Tanaka T. et al. Oil accumulation by the Oleaginous Diatom *Fistulifera Solaris* as Revealed by the Genome and Transcriptome // The Plant Cell. 2015. Vol. 27 N.(1). P. 162–176