

## Рыба мечты... осётр!

*Сибирские ученые исследуют геномы сибирского осетра и стерляди, чтобы понять, как эволюционировали эти организмы и каким образом те или иные участки ДНК становились ответственными за разные функции. Например, до сих пор не удалось выяснить, где в геноме искать признаки пола. Пока рыба не достигнет «совершеннолетия», невозможно понять, самец это или самка*



Исследователи Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН изучают осетровых уже второй год. В 2014-м их проект «Картирование геномов, сравнительная молекулярная цитогенетика и транскриптомика сибирского осетра и стерляди» был поддержан Российским научным фондом. Основная цель работы — описать особенности строения и функционирования генома у этих существ.

Осетр и стерлядь не относятся к модельным видам, то есть тем, которые используются в качестве модели для изучения каких-то свойств, процессов или явлений. Обычно закономерности, выявленные при работе с плодовой мушкой-дрозофилой, мышью, крысой, успешно применимы для многих других видов. С этими рыбами же все по-другому: у них есть множество механизмов и феноменов, которые не встречаются больше ни у кого, поэтому они интересны исследователям. Например, осетровые — долгожители среди рыб. Некоторые представители семейства живут более 100 лет, значит они, как и голый землекоп, обладают рядом уникальных приспособлений, позволяющих противостоять возникновению рака и дающих отсрочку процессам старения. К тому же пока не понятно как у них определяется пол. Не то, чтобы осётр в ожидании совершеннолетия воспринимал внешние сигналы, стремясь понять в каком направлении развиваться, самца или самки (как это делают некоторые другие рыбы) — пол у него заложен генетически, но пока никто не нашел, в каком же именно участке хромосомы есть маркер, отвечающий за это. Если искать, допустим, ген определенного фермента или структурного белка — и у человека, и у рыбы, и у лягушки он вполне определенный и расположен в известном месте, его можно назвать консервативным. А ген определения пола — лабильный у некоторых организмов, то есть каждая группа (в некоторых случаях — семейство, а в некоторых — и популяция) изобретает для себя свой. Но и это еще не всё.

— Есть особенности, связанные с полиплоидным статусом генома (наличием нескольких наборов хромосом). Полиплоидность — удобный инструмент для эволюции, потому что при увеличении числа сегментов хромосом каждая из копий может взять на себя какие-то дополнительные функции. Например, именно так у приматов появилась возможность усложнить цветное зрение: дублировался ген светочувствительного рецептора, который впоследствии перестроился на другую длину оптической волны, — объясняет заведующий лабораторией сравнительной геномики

ИМКБ СО РАН кандидат биологических наук **Владимир Александрович Трифонов**. — Полный набор генов удваивался и у далекого предка человека и всех современных позвоночных, но сейчас такие процессы характерны скорее для растений, а среди позвоночных — для некоторых видов ящериц и рыб. У сибирского осетра и стерляди — 240 и 120 хромосом соответственно, поэтому есть гипотеза, что вторые появились как раз в результате дубликации генома какого-то вида с 60 хромосомами, а первые — в процессе последующего раунда удвоения. Это описано уже давно, но мы с помощью молекулярных зондов получили данные, которые показывают, какие именно участки генома находятся в тетраплоидном состоянии (четыре копии на геном). Кроме того, выяснилось, что некоторые части — диплоидные, а значит можно предположить, что сначала геном «разросся», а потом частично редуцировался.

*У стерляди — 120 хромосом, у сибирского осетра — 240, а у малого осетра из Северной Америки — 360. Среди млекопитающих такого количества не имеет никто. Рекордсмен среди последних — вискашевая крыса из Южной Америки (102 хромосомы). Для сравнения: у человека — 46, у кошки — 38, у оленя-мунтжака — всего 6 хромосом.*

— Мы хотим понять, как происходила эволюция плоидности, — продолжает Владимир Трифонов, — как это повлияло на рыб, какой у них заложен механизм, позволяющий легко «наращивать» хромосомный набор. Например, среди рыб и рептилий могут встречаться жизнеспособные триплоиды, а млекопитающие подобного рода умирают еще на стадии зародыша.

Исследователи планируют также описать генетическое разнообразие стерляди и сибирского осетра в бассейнах Оби, Иртыша, Енисея и Лены. В России живет 12 из 25 современных видов этих рыб, однако самое большое их разнообразие наблюдается в Каспийском море. В полноводных реках Сибири существует всего два вышеназванных вида, и ученые интересуются вопросом, какие у этого явления причины.

— Специалисты в палеоэкологии связывают такое распределение с последним оледенением, когда был заблокирован сток в Северный ледовитый океан всех крупных сибирских рек, в результате чего водные массы устремлялись на запад — в Каспийское, Черное и Средиземное моря, — говорит Владимир Трифонов. — Если посмотреть на основные виды осетровых, то многие из них мигрируют: нагуливают вес в соленой воде, а размножаться приходят в пресную. Когда сток в океан был заблокирован, поведенческие инстинкты не могли быстро измениться. Получается, что имели шанс выжить только те виды, которые совершали миграции в пределах сибирских рек до оледенения, то есть сибирский осётр и стерлядь.

Сейчас ученые уже описали более 300 особей стерляди из Обь-Иртышского бассейна с использованием митохондриальных маркеров, а также подробно исследовали кариотип (совокупность признаков полного набора хромосом) этого вида. Генетическое разнообразие в целом довольно высоко, что, по словам Владимира Трифонова, свидетельствует об интенсивном обмене генами между популяциями. Причем даже живущие в Новосибирском водохранилище организмы, отделенные от всех остальных плотинами, не выглядят как-то особенно. Пока ученые высказывают гипотезу, что из-за длительного репродуктивного периода окончательная обособленность данной популяции еще не произошла, но ее можно ждать в будущем.

Материал для исследований специалисты получают в основном от Госрыбцентра, у которого есть лицензия на отлов этой рыбы, в том числе и для научных целей.



— Для разных задач нужны разные образцы. Например, для феноменологического описания особенностей структуры генома не важно, из какого района взят образец, живую рыбу можно просто купить в магазине и взять образцы разных тканей. Если же нам требуется описать структуру популяций диких особей, то нужны организмы из определенного места обитания. В этом случае, конечно, мы работаем с Госрыбцентром, и он уже в рамках мониторинга рыбных ресурсов проводит взятие проб и привозит нам материал, — рассказывает Владимир.

Для исследований достаточно небольшого кусочка плавника, из которого ученые могут затем вырастить в лаборатории клеточную культуру: образец обрабатывается определенным образом, кладется в питательную среду, измельчается, добавляются ферменты, а затем через некоторое время клетки начинают делиться и расти прямо на внутренней поверхности культурального флакона. Их можно использовать в последующих экспериментах, например, выделить ДНК, РНК и белки, или остановить на стадии деления и получить суспензию хромосом для цитогенетических экспериментов. Последнее сделать на живой рыбе очень сложно. Для млекопитающих есть протоколы, которые позволяют выращивать материал достаточно легко, для рыб же сотрудницы лаборатории цитогенетики животных ИМКБ СО РАН кандидат биологических наук **Светлана Анатольевна Романенко** и **Ольга Леонидовна Гладких** специально подбирали оптимальные условия.

С помощью лабораторной культуры ученые Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН описали кариотип, показали частичную тетраплоидизацию генома стерляди, секвенировали геномы самца и самки и получили хромосомоспецифичные библиотеки, которых никто еще для осетровых не делал. Такие библиотеки, созданные Светланой Романенко — один из способов, которым ученые охотятся на участок генома, отвечающий за пол у осетровых.

— Самое важное применение нашей работы в практике — это определение пола осетровых, что позволит рыбозаводам увеличить экономическую прибыль, — поясняет Владимир Трифонов. — Сейчас и самцов, и самок выращивают до восьми лет, пока появляется возможность определить кто есть кто.

Для поддержания искусственного стада не нужно много особей мужского пола, а между тем затраты на их содержание значительны. В настоящее время в качестве возможного способа выяснить половую принадлежность используется УЗИ для рыб в возрасте трех-четырех лет, при условии, что аппарат у завода есть. Это дорого и занимает много времени, поэтому компании заинтересованы в генетических маркерах, связанных с полом, и готовы за это платить. Если такой метод появится, то они смогут значительно снизить производственные затраты.

В следующем году исследователи сосредоточатся на изучении ленской популяции сибирских осетров, уже сейчас коллеги из Якутии предоставили им коллекционные образцы для работы. Кроме того, ученые планируют использовать RAD-секвенирование для направленного поиска генов пола. Смысл метода в том, что секвенировать планируется не весь геном, а определенные характерные участки, прилегающие к сайтам рестрикции. С помощью данного метода уже были выявлены полспецифические маркеры у нескольких видов позвоночных.

Подготовила Юлия Позднякова  
Фото Юлии Поздняковой, Светланы Романенко и  
Ольги Гладких

