

Экспериментальная эволюция аскомицетного гриба *Podospora anserina*

Сафина К. Р.^{1,2}, Вахрушева О. А.², Базыкин Г. А.^{1,2}, Мажейка И. С.³,
Буданова Е. В.³, Камзолкина О. В.³, Кудрявцева О. А.³, Кондрашов А. С.⁴

¹ НИИ ФХБ им. А. Н. Белозерского МГУ, ² ИППИ РАН,

³ Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, ⁴ University of Michigan

e-mail: k.r.safina@gmail.com

Аннотация

Эволюционные эксперименты являются важным инструментом, позволяющим изучать накопление генетических изменений в организмах в ходе эволюции в различных условиях. Аскомицетный гриб *Podospora anserina*, модельный организм для изучения процессов старения, является подходящим объектом для эволюционного эксперимента. Быстро стареющая при культивации на твёрдой среде, *P. anserina* становится бессмертной (не проявляет характерных признаков старения и неограниченное время не прекращает непрерывный вегетативный рост) при начальном погружённом культивировании [1], [2]. Мы проанализировали геномные изменения, произошедшие в трёх независимых экспериментальных линиях *P. anserina*, полученных из быстро стареющего штамма дикого типа длительным культивированием в жидкой среде с перемешиванием. Мы предполагаем, что часть обнаруженных мутаций может носить адаптивный характер.

Ключевые слова: экспериментальная эволюция; *Podospora anserina*; адаптация к новой среде

Экспериментальная эволюция в контролируемых лабораторных условиях – важный как с практической, так и с фундаментальной точки зрения научный подход, позволяющий детально изучать различные эволюционные процессы. На сегодняшний день в качестве объектов для эволюционных экспериментов используются модельные организмы разной степени сложности (от вирусов и бактерий до млекопитающих и растений).

Использование просто устроенных организмов несёт в себе как преимущества (быстрота и простота культивирования и анализа), так и недостатки (ограниченность возможного спектра изучаемых вопросов). Сложно устроенные организмы позволяют изучать такие важные вопросы, как эволюцию пола и поведения, коэволюцию в системе хозяин-паразит и др., но требуют существенно больше временных и материальных затрат.

Аскомицетный гриб *Podospora anserina* является привлекательным объектом для проведения эволюционных экспериментов: морфология и физиология мицелиальных грибов, к которым относится *P. anserina*, значительно сложнее, чем у одноклеточных организмов; при этом *P. anserina* легко культивируется и быстро набирает биомассу. Поскольку у *P. anserina* ярко выражено репликативное старение, со второй половины XX века данный аскомицет широко используется как модельный организм для изучения механизмов старения. В 1987 году было обнаружено, что при начальном культивировании в жидкой среде программа старения не реализуется, в результате чего гриб, культивируемый таким образом, становится бессмертным (не прекращает вегетативный рост) [2].

В 2012 году на кафедре микологии и альгологии МГУ имени М.В.Ломоносова Кудрявцевой О. А. с коллегами был начат длительный эксперимент по глубинному начальному культивированию *P. anserina*, который осуществляется посредством периодического пересева части мицелиальной массы в свежую питательную среду и продолжается по сей день. Путём длительного

глубинного культивирования дикого штамма были получены 3 независимые экспериментальные линии, не прекращающие свой вегетативный рост. В настоящей работе были изучены геномные изменения, закрепившиеся в трех независимых линиях *P. anserina* в ходе данного эксперимента. Был отсекуен предковый штамм, а также три производные линии в двух временных точках. Была проведена de novo сборка генома предкового штамма, общая длина сборки составила 32.5 Мб (оцениваемый размер генома *P. anserina* — 35-36 Мб). На собранные контиги были картированы прочтения экспериментальных линий и определены высокочастотные SNP (однонуклеотидные полиморфизмы), уникальные для каждой линии. В первой временной точке было обнаружено 10 полиморфизмов (из них 2 — в первой линии, 3 — во второй и 5 — в третьей), во второй — ещё 13 (из них 1 — в первой линии, 10 — во второй и 2 — в третьей). Из 23 обнаруженных SNP 18 попали в кодирующие области (два SNP приводят к преждевременной остановке трансляции – нонсенс-мутации, 13 — к аминокислотной замене, 3 — не меняют аминокислоту), 5 не попали в проаннотированные белки. Количество несинонимических и нонсенс-мутаций значительно выше, чем ожидалось бы при попадании обнаруженных замен в случайные участки генома, что может указывать на адаптивную роль этих мутаций.

Ранее было показано, что при переходе к качалочной культивации в погружённых условиях скорость вегетативного роста *P. anserina* существенно возрастает. В соответствии с этим, выборка белков, в которых в ходе качалочного культивирования закрепились несинонимические и нонсенс-мутации, обогащена белками, участвующими в регуляции роста и размножения у других аскомицетных грибов. Данные наблюдения также могут указывать на предполагаемый адаптивный характер обнаруженных мутаций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-01845а.

Список литературы

- [1] O. A. Kudryavtseva, I. S. Mazheika, A. E. Solovchenko, и O. V. Kamzolkina, «Genetic instability of the short-living ascomycetous fungus *Podospora anserina* induced by prolonged submerged cultivation», *Microbiology*, т. 80, вып. 6, сс. 784–796, дек. 2011.

- [2] M. S. Turker и D. J. Cummings, «*Podospora anserina* does not senesce when serially passaged in liquid culture», *J. Bacteriol.*, т. 169, вып. 2, сс. 454–460, фев. 1987.