

Бактерии из древних отложений: древние или современные?

Науменко С.А.
ИППИ РАН, ФББ
МГУ, РХТУ
sergey.naumenko@
yahoo.com

Едидин Г.М.
Геофак МГУ
spamred@mail.ru

Аннотация

Учёные-геологи извлекли образцы бактерий из отложений в зоне вечной мерзлоты (Мамонтова гора в долине реки Алдан в центральной Якутии). Возраст образования отложений составляет 3.5 млн. лет. Геномы бактерий были секвенированы в лаборатории эволюционной геномики. Бактерии были типированы по 16S рРНК как представители *bacillus cereus* и *bacillus pumilus*. Были построены филогенетические деревья как по 16S РНК, так и по полным геномам. Можно ли определить возраст бактерий по этим данным? Согласно длине ветвей на филогенетическом дереве и расположению ветвей относительно ближайших родственников, данные образцы являются современными бактериями.

1. Введение

Изучать молекулярную эволюцию можно тремя основными методами: сравнения геномы современных видов, проводя эволюционные эксперименты и получая древнюю ДНК из геологических отложений.

Уже 25 лет продолжается долговременный эксперимент по эволюции *E. coli* в лаборатории Ричарда Ленского в университете штата Мичиган [1]. Получено более 50 000 поколений бактерий.

Из линзы в древнем солевом кристалле возрастом в 250 миллионов лет извлечена бактерия, которая была типирована по 16S РНК как представитель рода *Bacillus* [2]. Однако позже по выравниваниям между геном 16S РНК этой бактерии и её ближайшего современного родственника было установлено время дивергенции, не превышающее 13,000 – 65,000 лет [3].

2. Образцы из отложений

Из древних отложений были извлечены [4] и секвенированы 5 образцов бактерий. Чтения были фильтрованы по качеству и собраны ассемблером velvet [5] (таблица 1).

Таблица 1. Результаты сборки геномов.

Образец	Длина генома
g13	3 628 037
g17	3 627 905
g20	5 379 620
g27	5 531 460
g40	5 398 680

Бласт геномов против базы NT, выделение последовательности гена 16S рРНК по высокому покрытию, типирование по базе ribosomal genome project, показали, что образцы g13, g17 принадлежат к виду *bacillus pumilus*, а g20, g27, g40 – к виду *bacillus cereus*.

Дополнительно выяснилось, что образцы g13 и g17, а также g20 и g40 идентичны, что позволило пересобрать их с большим покрытием и лучшим качеством.

3. Филогенетические деревья

При помощи muscle [7] были построены множественные выравнивания генов 16s рРНК образцов g1317, g2040, g27 с ближайшими родственными штаммами, полученными из генобанка.

На рис. 1 показано филогенетическое дерево для *bacillus cereus*, построенное по 16s рРНК. Дерево было построено при помощи phyIip [8].

Скорость эволюции 16s рРНК лежит в пределах $1 \cdot 10^{-8}$ – $5 \cdot 10^{-8}$, то есть за 3.5 млн лет последовательность длиной 1500 нуклеотидов должна накопить минимум 500 замен, чего мы не наблюдаем на рис. 1 (длина ветки должна быть около 0.3). Кроме того, предположительно древние бактерии g27, g2040 не являются предковыми ветвями на филогенетическом дереве, а окружены современными штаммами.

При помощи multiz-tba [9] было построено полногеномное выравнивание и дерево по полным геномам (рис. 2). Оно так же не подтверждает гипотезу о древности бактерий.

4. Вывод

Вероятно, выделены современные бактерии, устойчивые к жизни при низких температурах.

5. Благодарности

Авторы благодарны А.С. Кондрашову, Г.А. Базыкину и А.В. Брушкову за плодотворные дискуссии, М. Логачевой и А.Пенину – за секвенирование геномов.

Работа осуществлялась при поддержке Министерства образования и науки РФ (гранты 11.G34.31.0008 and 8814) и РФФИ (грант 12-07-31261), на вычислительном кластере лаборатории эволюционной геномики ФББ МГУ.

Литература

- [1] J.E. Barrick, D.S. Yu, S.H. Yoon, H. Jeong, T. K. Oh, D. Schneider, R.E. Lenski, J.F. Kim. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli*. *Nature* 2009, 461, 1243-1247.
- [2] R.H. Vreeland, W.D. Rosenzweig & D.W. Powers. Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. *Nature* 2000, 407, 897-900.
- [3] D. Graur and T. Pupko. The permian bacterium that isn't. *Mol.Biol.Evol* 2001, 18(6), 1143-1146.
- [4] D-C. Zhang, A. Brouchkov, G. Griva, F. Schinner and R. Margesin. Isolation and characterization of bacteria from ancient siberian permafrost sediment. *Biology* 2013, 2(1), 85-106.
- [5] D.R. Zerbino and E. Birney. 2008. Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. *Genome Research*, 18:821-829.
- [6] Q. Wang, G. M. Garrity, J. M. Tiedje, and J. R. Cole. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Appl Environ Microbiol* 2007. 73(16):5261-7.
- [7] R.C. Edgar. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* 2004. 32(5):1792-1797.
- [8] J. Felsenstein. PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics* 1989, 5, 164-166.
- [9] M. Blanchette, W.J. Kent, C. Riemer, L. Elnitski, A.F.A. Smit, K.M. Roskin, R. Baertsch, K. Rosenbloom, H. Clawson, E.D. Green, D. Haussler, and W. Miller. Aligning Multiple Genomic Sequences With the Threaded Blockset Aligner. *Genome Research* 2004, 14:708-715.

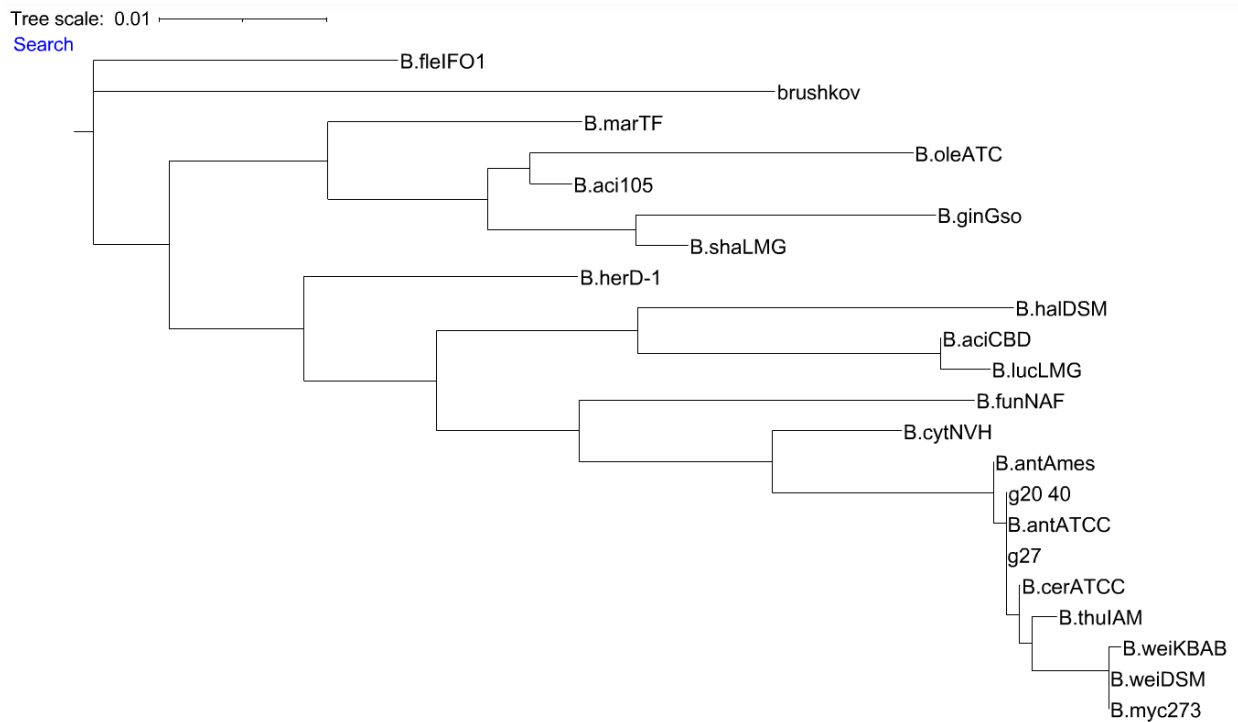


Рис.1. Филогенетическое дерево по 16s рНК.

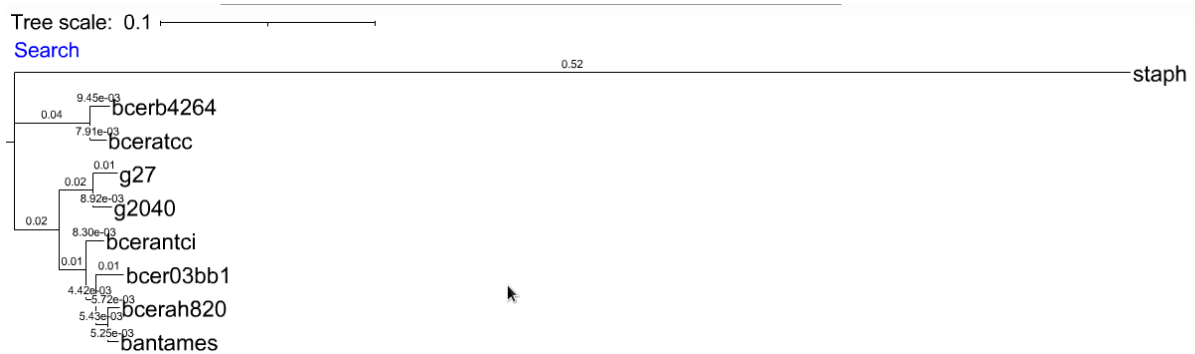


Рис.2. Филогенетическое дерево по полным геномам со стафилококком в качестве ветви-кузины.