Молекулярний паспорт для біологічного виду

На початку XXI століття біологія отримала в своє розпорядження унікальний за точністю та зручністю інструмент — ДНК-штрихкод, який дозволяє ідентифікувати види на основі окремих фрагментів організму, його біологічних рідин, а також стадій життєвого циклу з недостатньою кількістю морфологічних ознак.

Там, де спеціалісти-систематики не в змозі ідентифікувати вид через механічні пошкодження, втрату морфологічних ознак чи на початкових стадіях розвитку (яйця, личинки, насінини або проростки), на допомогу приходить штрихкодування ДНК. Застосування такої технології дозволяє науці використовувати колосальний обсяг раніше недоступної інформації.

Сьогодні ДНК-штрихкодування широко застосовується дослідниками у сфері теоретичної біології, захисту зникаючих видів, карантинними, моніторинговими і митними службами, криміналістами та епідеміологами для вирішення прикладних завдань.

Для систематизації, зберігання та аналізу даних створено Глобальний банк ДНК-штрихкодів, який активно поповнюється завдяки зусиллям міжнародного наукового співтовариства.

В основі концепції ДНК-штрихкодування лежить уявлення про те, що кожен біологічний вид на планеті може бути ідентифікований за ДНК. Однак для того, щоб цей підхід був застосований в реальному житті, потрібно, щоб ідентифікація проходила не на основі аналізу всього генома або його довільної ділянки, а за якоюсь короткою й універсальною послідовністю ДНК. Ця послідовність має бути ідентичною у всіх представників виду (навіть з різних популяцій), а також — відрізнятися від такої ж послідовності ДНК інших видів.

Після довгих пошуків такі ділянки геному були знайдені практично для всіх царств живих організмів (поки виключаючи протистів).

Процедура ідентифікації зразка за існуючим ДНК-штрихкодом порівняно проста. Вона включає виділення ДНК з біоматеріалу, проведення ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції – нині широко відомої через пандемію короновірусу, — ред.) з універсальними геноспецифічними праймерами та секвенування отриманого ДНК-фрагмента.

Після отримання розшифрованої ділянки геному, дослідникові залишається провести комп'ютерне порівняння цієї послідовності з ДНК-штрихкодами, які зберігаються в Глобальній базі даних ДНК-штрихкодів живих організмів (BOLD). Час, необхідний для ідентифікації одного зразка, може становити не більше 2—3 днів.

Ідея ДНК-штрихкодування вперше привернула увагу наукового співтовариства в 2003 році, коли Пол Хеберт і його дослідницька група з університету Гуелф (Guelph) в Канаді опублікували статтю «Biological identifications through DNA barcodes» (Біологічна ідентифікація видів за допомогою ДНК-штрихкодів). У ній автори запропонували нову систему ідентифікації видів за короткою стандартизованою ділянкою ДНК, яка використовується як молекулярний паспорт, який потенційно може бути отриманий для кожного біологічного виду планети.

Запропонований підхід було визнано настільки багатообіцяючим, що в 2004 р. за підтримки фундації Альфреда Слоуна було створено «Консорціум з ДНК-штрихкодування життя» (Consortium for the Barcode of Life, CBOL). Через два роки загальний розмір фінансування проекту, який спочатку об'єднував лише канадських і американських вчених, завдяки участі державних і приватних фондів Канади, склав 2 мільйони доларів. При університеті Гуелфа було відкрито канадський Інститут біорізноманіття в Онтаріо, який взяв на себе обов'язок підтримувати і розвивати Світовий банк ДНК-штрихкодів.

2007 року проект з ДНК-штрихкодування життя став міжнародним. Було запущено глобальну ініціативу з ДНК-штрихкодування — iBOL (International Consortium for the Barcode of Life). За колективної угоди країн-учасниць основною місією iBOL є розширення географічного поля і таксономічного обсягу бібліотеки ДНК-штрихкодів, зберігання їх, а також забезпечення колективного та вільного доступу до системи BOLD дослідникам усього світу.

Своєю головною метою Міжнародний консорціум вважає вивчення і збереження біологічного різноманіття планети, дослідження еволюції живих організмів, виявлення нових видів, а також об'єднання вчених з різних країн.

Завдяки створенню iBOL, система BOLD на сьогодні містить ДНК-штрихкоди більш ніж 100 тис. видів живих організмів і об'єднує 170 наукових центрів з 50 країн-учасниць. Спільні зусилля дозволяють країнам значно знизити витрати на проведення досліджень і підвищити їх інформативність за рахунок доступу до безкоштовних загальних ресурсів.

Очікується значний економічний ефект від розвитку методів ДНК-штрихкодування. Адже глобалізація торгівлі, розвиток транспорту і зміна клімату, призвели до швидкого зростання кількості інвазійних видів, загрожують сільському й лісовому господарству, рибальству і здоров'ю людей. Використання ДНК-штрихкодів надає можливість швидко виявляти загрозу, скорочуючи таким чином витрати на боротьбу з ними.

iBOL має багаторівневу структуру, в якій країни-партнери є системою «вузлів» проекту. Вузли — це мережа провідних дослідників і ключових організацій, які займаються штрих-кодуванням ДНК та використанням цих даних у різних цілях, надають ресурси і послуги.

Вузли поділяються на національні, регіональні та центральні.

Центральні — забезпечують фінансову підтримку проекту, а також найбільш масове отримання і забезпечення збереження інформації, підтримують засоби біоінформатики, необхідні для обміну штрих-кодів з усіма країнами. Такі вузли є у Канаді, Китаї, США та Європейському Союзі.

Регіональні вузли курують дослідження щодо ДНК-штрихкодуванння в регіоні, поповнюють глобальні бази даних, організовують тематичні конференції та освітні заходи. За угодою, регіональний вузол повинен забезпечувати розширення BOLD на 2000 послідовностей в рік. Сьогодні цим критерієм відповідають лише 10 країн: Аргентина, Австралія, Бразилія, Індія, Мексика, Нова Зеландія, Норвегія, Росія, Саудівська Аравія, Південно-Африканська Республіка. Національні вузли зосереджені на зборі, ідентифікації та зберіганні ваучерних зразків на території своїх країн, а також на передачі біологічного матеріалу в організації центральних вузлів для секвенування й депонування послідовностей в базах даних.

Хоч Україна не приєднана до системи Консорціуму баркодінгу живої природи (Consortium for the Barcode of Life (CBOL), у нас є всі передумови для участі в цій міжнародній ініціативі. Ми маємо надійний біорепозитарій, володіємо унікальними ботанічними колекціями, які відображають історію досліджень її флори, починаючи з XVIII ст. Найважливіші з них внесено до Державного реєстру об'єктів, які становлять національне надбання України.

Понад половина гербарного фонду перебуває в установах НАН України, де вони функціонують як типово наукові колекції з обмеженим доступом; в них міститься значна кількість автентиків та низка цінних меморіальних колекцій. Гербарний фонд України широко документує всі групи біологічних організмів рослинного царства й грибів як нашої країни так і світу. Гербарій Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (Національний гербарій України, KW) нараховує 2 млн. одиниць зберігання і є головною в Україні науково-інформаційною базою для фундаментальних та прикладних досліджень в галузі ботаніки та суміжних біологічних дисциплін. Крім того, заслуговують на увагу Палінотека (KW-P), зібрання еталонних препаратів пилку сучасних рослин, Національного гербарію України та Колекція популяційних вибірок (LWKS) Інституту екології Карпат НАН України.

Наукові зоологічні фондові колекції Інституту зоології імені Шмальгаузена нараховують 6,1 млн. одиниць зберігання, які об'єднані в 328 колекцій. Це майже 50 тис. видів тварин; близько 1,6 тис. таксонів — голотипи. Янтарна колекція складається з 4043 інклюзів. А ще спеціалізовані колекції: гельмінтів (близько 3 тис. видів і понад 1млн. одиниць), кліщів (700 видів, майже 120 — типові екземпляри), комах (близько 46 тис. видів; понад 1,4 тис. таксонів представлені голотипами).

Витрати на дослідження ДНК-баркодінгу (*http://www.ibol.org*) фінансуються кожною країною, що долучається до ініціативи, наприклад, Кенія – 50–150 тис. доларів, Норвегія – від 1 до 5 млн. доларів; США – біля 5,5 млн. доларів щорічно. Україна – лише в рамках проекту за програмою НАН України «Використання ДНК баркодінгу для індентифікації інвазійних, шкідливих та природних злаків флори України». Нині розпочато розробку ДНК бази даних, що вміщуватиме три ДНК-баркодінгмаркери для швидкої індентифікації всіх 340 видів злаків, що зростають на території України. Вперше з території України опрацьовано 2200 злаків, для яких зібрані метадані та дані глобальної позиційної системи (GPS), що передаються до міжнародної бази даних. Отримані результати актуальні у світовому масштабі. Їх дані необхідні для точної ідентифікації видів для використання в експертизі, природоохоронній роботі, таксономії, екологічному моніторингу, навчанні. Україна має можливість створити Національний вузол й офіційно приєднатись до iBOL, підписавши відповідний Меморандум, але для цього необхідна відповідна підтримка.

Яків ДІДУХ,
академік НАН України,
Оксана ФУТОРНА,
кандидат біологічних наук
Інститут ботаніки
ім. М.Г. Холодного НАН України.