

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ АМЕБОИДНЫХ ПРОТИСТОВ

Палатайкова Мария (Университет ИТМО)

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Кудрявцев А. А.
(Зоологический институт РАН).

Введение. Простейшие микроорганизмы широко распространены в природе, они были обнаружены в наземных, пресноводных и морских экосистемах. Изучение протистов дает лучшее понимание эволюционной истории организмов [1]. До появления методов молекулярной биологии, протистов идентифицировали по морфологическим особенностям. Такие традиционные методы идентификации видов требуют много времени, а из-за большого разнообразия простейших методы их идентификации на основе только морфологических особенностей являются неточными [2]. Появление методов обнаружения и идентификации видов на основе молекулярных данных существенно улучшили наши способности к изучению биоразнообразия организмов в разных экосистемах, а также повысили скорость и эффективность исследований [3]. В данной работе мы опишем методы молекулярной биологии, которые используются для идентификации и изучения простейших организмов, на примере двух штаммов амeboидных протистов.

Основная часть. В ходе проделанной работы для получения и анализа молекулярных данных было проведено выделение тотальной ДНК из двух очищенных культур амeб гуанидин-изотиоцианатным буфером. Из полученной ДНК необходимо было амплифицировать локусы, используемые для реконструкции филогенетических взаимоотношений и идентификации видов. Постановка ПЦР проводилась с праймерами для получения участков генов 18S рибосомной РНК и цитохромоксидазы. Очистка амплифицированных фрагментов проводилась на центрифужных колонках с силикатной мембраной. Очищенные фрагменты ДНК были клонированы в бактериальных клетках *E. coli*. Клонированные фрагменты были секвенированы по Сэнгеру. Для реконструкции филогенетических взаимоотношений полученные последовательности сравнивались с ранее опубликованными гомологичными последовательностями, доступными в базе данных NCBI/GenBank

Выводы. По полученным данным после секвенирования была проведена идентификация данных штаммов. Один штамм был идентифицирован как представитель рода *Vannella*, а второй как *Vermamoeba* sp. Молекулярно-филогенетический анализ подтверждает предварительную идентификацию исследованных штаммов, выполненную морфологическими методами. Такой подход оказывается значительно быстрее традиционного, однако его применимость до сих пор ограничена в силу ограниченности объема доступных данных для сравнения [4].

Исследование поддержано грантом РФФ 20-14-00181; использовано оборудование ЦКП «Таксон» ЗИН РАН.

Список использованных источников:

1. Allan G. J., Max T. L. Molecular genetic techniques and markers for ecological research. *Nature Education Knowledge*. (2010);3(10):2
2. Girard E.B., Langerak A., Jompa J., Wangensteen O.S., Macher J-N., Renema W. Mitochondrial Cytochrome oxidase subunit 1: a promising molecular marker for species identification in foraminifera. *Front. Mar. Sci.* (2022); 9. DOI: 10.3389/fmars.2022.809659
3. Bruce K. A practical guide to DNA-based methods for biodiversity assessment. (2021). DOI: 10.3897/ab.e68634.

4. Kudryavtsev A.A. Amoebozoan barcoding marker cytochrome c oxidase (Cox1), RNA editing and issues in creating a public reference sequence database. *Protistology*. (2022); 16(3): 236-245. DOI: 10.21685/1680-0826-2022-16-3-8