

УДК 575.113

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОДГОТОВКИ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПОЛНОГЕНОМНОЙ СБОРКИ БАКТЕРИОЯДНЫХ ПРОТИСТОВ, НА ПРИМЕРЕ *NUCLEARIA THERMOPHILA*

Барзасекова К. О. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – Поздняков И. Р.

(Зоологический Институт Российской академии наук)

Введение. Исследования генома одноклеточных организмов (протистов) нуждаются в получении и поддержании чистых культур [1]. Бактерии, которые чаще всего находятся в культуре протистов, носят как положительную роль, так и отрицательную. С одной стороны бактерии являются пищей для протистов, а с другой – многообразие бактерий встанет на пути качественного секвенирования нужного объекта [2-3].

Основная часть. В настоящей работе были разработаны подготовительные этапы для получения полногеномной сборки питающегося бактериями протиста *N.thermophila*. Подготовка материалов разделяется на два этапа:

1. Подготовка живого материала:

1.1 Культивирование *N.thermophila* на монокультуре *E.coli* по специальной методике. Результатом является быстрое размножение *N.thermophila* и постепенное вытеснение их культуры других видов бактерий, попавших из природной среды.

1.2 Фильтрация культуры через антибактериальные фильтры (5 мкм) с помощью вакуумной фильтрационной установки «Milipore Vacuum pump» с промывкой стерильной средой PJ.

1.3 Концентрирование отфильтрованных клеток *N.thermophila* с помощью центрифугирования.

2. Первичная обработка результатов секвенирования биоинформатическими методами:

2.1. К-мерный анализ результатов секвенирования (программа Jellyfish). Анализ состава, полноты и качества полученных материалов, качества прочтений [4].

2.2. Фильтрация результатов секвенирования в программе Kraken 2. Разделение прочтений по таксономическому признаку. Удаление прочтений, явно принадлежащих бактериям [5].

2.3. Черновая сборка контигов в программе SPAdes из прочтений, отобранных программой Kraken 2 [6].

2.4. В программном пакете BlobToolKit находятся и отбираются контиги, чётко принадлежащие эукариотному организму. Затем путём выравнивания отбираются прочтения, связанные с отобранными контигами и используются для чистой сборки [7-8].

Вывод. Предложенный подход будет применён на полногеномной сборке *N. thermophila* в процессе выполнения исследований по проекту РНФ № 22-24-01149. В случае удачи этот же подход может применяться далее при сходных исследованиях.

Исследование поддержано грантом РНФ № 22–24-01149.

Список используемых источников:

1. Probabilistic transition from unstable predator–prey interaction to stable coexistence of *Dictyostelium discoideum* and *Escherichia coli* / Kihara K., Mori K., Suzuki S., Hosoda K., Yamada A., Matsuyama S., Kashiwagi A., Yomo T. // *Biosystems*. – 2011. – V. 103. – I. 3. – P. 342–347. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2010.11.006>.

2. Page, F.C. A new key to freshwater and soil gymnamoebae with instructions for culture. *Freshwater Biological Association*. – Freshwater Biological Association, 1988. – 102 p.

3. Prescott, D.M. Culturing of *Amoeba proteus* on *Tetrahymena* / D.M. Prescott, T.W. James // *Experimental Cell Research*. – 1955. – V. 88. – P. 256–258.
4. Marcais, G. A fast, lock-free approach for efficient parallel counting of occurrences of k-mers. / G. Marcais, C. Kingsford // *Bioinformatics*. – 2011. – V. 27. – I. 6. – P. 764-770.
5. Wood, D.E. Improved metagenomic analysis with Kraken 2 / D.E. Wood, J. Lu, B. Langmead // *Genome Biol*. – 2019. – V. 20. – P. 257. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>.
6. Using SPAdes De Novo Assembler / A. Prjibelski, D. Antipov, D. Meleshko, A. Lapidus, A. Korobeynikov // *Current Protocols in Bioinformatics*. – 2020. V. 70. – I. 1– P. e102. <https://doi.org/10.1002/cpbi.102>.
7. Pop, M. Bioinformatics challenges of new sequencing technology / M. Pop, S.L. Salzberg // *Trends Genet*. – 2008. – V. 24. – P. 142–149.
8. BlobToolKit – Interactive Quality Assessment of Genome Assemblies / R. Challis, E. Richards, J. Rajan, G. Cochrane, M. Blaxter, // *G3 Genes|Genomes|Genetics*, – 2020. – V. 10. – I. 4. – P. 1361–1374.