

Метагеномный анализ микробных сообществ паразитических корнеголовых раков (*Rhizosephala*)

Научный руководитель – Козлова-Рябова Александра Дмитриевна

Мухортикова Анастасия Дмитриевна

Студент (магистр)

Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Факультет компьютерных наук, Москва, Россия
E-mail: admukhortikova@gmail.com

Ракообразные из группы корнеголовых (*Rhizosephala*) представляют исключительный биологический интерес благодаря своему крайне специализированному паразитическому образу жизни. Адаптация к эндопаразитизму привела к существенной модификации тела этих животных [1]. Паразитическая стадия ризоцефал представлена взрослой самкой, в строении которой различают два отдела: экстерну — репродуктивное тело, расположенное вне тела хозяина, и интерну — систему столонов, находящуюся в гемоцеле зараженного организма.

Изучение микробиома экстерны корнеголовых раков представляет особый интерес, поскольку эта структура контактирует как с внутренней средой хозяина через систему столонов интерны, так и с внешней средой, что делает её потенциальной зоной взаимодействия различных микробных сообществ. Анализ микробиома этой структуры может позволить выявить микроорганизмы, участвующие в процессах защите от патогенов или регуляции репродуктивных функций. Кроме того, изучение микробиоты экстерны может дать представление о возможных симбиотических и паразитических микроорганизмах, ассоциированных с ризоцефалами, и тем самым расширить понимание биологии и эволюции этих высокоспециализированных паразитов.

Целью данной работы является характеристика таксономического состава микробиома паразитического рачка *Polyascus* и доказательство его биологической специфичности относительно хозяина и внешней среды.

Образцы *P. polygeneus* были собраны на станции «Восток» НИЦМБ ДВО РАН, Японское море, и заморожены в жидком азоте на -180 [U+2103]. Из экстерны была выделена ДНК, которая далее была просеквенирована на платформе PacBio Revio. На полученных данных была проведена классификация микробиома с помощью нескольких подходов: (а) классификация с помощью *Metaphlan4* [2] и (б) классификация на базе данных *PlusPFP-8* с программным обеспечением *Kraken2* [3].

Так как мы предполагали, что данный микробный состав может относиться не к раку, а к окружающей среде, мы также провели поиск образцов воды японского моря в открытых источниках. Всего было обработано 12 образцов, отобранных из базы SRA (NCBI), включая региональные контроли морской воды (SRR29245572) и губок (SRR11301536, SRR30038024) из Восточно-Китайского и Японского морей. Для валидации специфичности микробиома проводилось сравнение с тканями хозяев — снежного краба *Chionoecetes opilio* (SRR11278230) и плавающего краба *Portunus trituberculatus* (SRR30303727), а техническая точность классификации проверялась на изолятах видов *Maribacter* и *Neptunomonas*. Классификация образцов также проводилась с помощью *Metaphlan4*.

В ходе исследования в микробиоме рачка *Polyascus* были идентифицированы и подтверждены два доминирующих вида: *Maribacter dokdonensis* (6,40%) и *Neptunomonas phycophila* (5,32%). Техническая проверка на изолятах (ERR12523129 и SRR16146541) показала 100%

точность детекции данных видов классификатором MetaPhlAn4, что подтверждает достоверность сигнала в основном образце паразита.

Важным результатом стало доказательство внутренней специфичности этих бактерий для паразита: в образцах гемолимфы, ног и внутренних тканей здоровых крабов данные виды практически полностью отсутствуют (MetaPhlAn показал 100% UNCLASSIFIED для образцов SRR24415469, SRR30303727 и SRR11278230), что исключает их принадлежность к нормальной флоре хозяина. Также были обнаружены *Jejuia spongiicola* (4,23%) и порядок OFGB6436 на (2,23%), которые встречаются в окружающей среде (например, в губках Окинавской впадины), но концентрируются именно в тканях *Polyascus*, что указывает на формирование уникального симбиотического сообщества внутри организма паразита.

Источники и литература

- 1) Miroshnichenko L. D., Mikhailov K. V., Diakin A. Y. et al. From head to rootlet: comparative transcriptomic analysis of a rhizocephalan barnacle *Peltogaster reticulata* (Crustacea: Rhizocephala) // F1000Research. – 2023. – Vol. 11. – P. 583.
- 2) Blanco-Míguez A., Beghini F., Cumbo F. et al. Extending and improving metagenomic taxonomic profiling with uncharacterized species using MetaPhlAn 4 // Nature Biotechnology. – 2023. – Vol. 41, No. 11. – P. 1633-1644.
- 3) Wood D. E., Lu J., Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2 // Genome Biology. – 2019. – Vol. 20. – Article 257. – P. 1-13.