

Оценка копийности гена 18S рРНК у некоторых диатомовых водорослей методом ddPCR**Научный руководитель – Кезля Елена Михайловна****Дринь Владислав Дмитриевич**

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биотехнологический факультет, Москва, Россия

E-mail: vladislav.drin@yandex.ru

Подходы высокопроизводительного секвенирования в настоящее время активно используются как для изучения разнообразия и биогеографии микроводорослей, так и внедряются в гидробиологические мониторинговые программы, включая отслеживание распространения токсичных видов [1]. Однако данные метагеномного анализа не являются количественными, для их правильной интерпретации необходимы сведения о копийности маркерных генов. Регионы гена 18S рРНК наиболее часто используются для изучения сообществ эукариотических микроорганизмов. Известно, что у микроводорослей могут наблюдаться существенные различия в количестве копий генов 18S рРНК от нескольких десятков до сотен тысяч [2].

Целью данной работы является определение копийности гена 18S рРНК диатомовых водорослей методом цифровой капельной ПЦР (ddPCR).

Материалом для работы послужили семь штаммов из шести родов диатомовых водорослей, выделенных из проб планктона, собранных в Южно-Китайском море (Вьетнам) в июле 2024 года. Для анализа концентрацию клеток подсчитывали при помощи камеры Горяева, 1 мл клеточной суспензии осаждали центрифугированием. Далее из биомассы выделяли ДНК, амплифицировали и секвенировали регион V4 18S рРНК. Анализ копийности 18S рРНК проведен на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в ЦКП «Безопасность и новые технологии». Для оценки взаимосвязи между концентрацией клеток и числом копий целевого гена на клетку применяли корреляционный и регрессионный анализы.

В результате определено среднее количество копий гена 18S рРНК на одну клетку для каждого из штаммов: *Psammodyctyon lamii* CBMCSvn758 (46 ± 22), *P. constrictum* CBMCSvn771 (42 ± 16), *Bellerochea malleus* CBMCSvn764 (229 ± 3), *Navicula* sp. CBMCSvn817 (84 ± 62), *Pseudo-nitzschia* cf. *pungens* VR12 (510 ± 224), *Hippodonta* sp. CBMCSvn928 (79 ± 18), *Helicotheca tamesis* CBMCSvn 967 (218 ± 185). Корреляционный анализ Пирсона выявил высокую положительную связь между концентрацией клеток и числом копий гена 18S рРНК ($r=0,94-0,98$, $p=0,042-0,048$). После логарифмического преобразования данных (log-log трансформация) линейный регрессионный анализ показал сильную зависимость ($R^2=0,82-0,89$), однако статистическая значимость находилась на пограничном уровне ($p=0,06-0,07$).

Полученные результаты демонстрируют вариабельность числа копий 18S рРНК между родами диатомовых водорослей. Порядок полученных значений согласуется с данными литературы [2]. Для улучшения точности анализа необходимо увеличение числа технических повторностей.

Работа выполнена в лаборатории молекулярной систематики водных растений ИФР РАН за счет гранта РФФИ №24-44-04006, <https://rscf.ru/project/24-44-04006/>.

Источники и литература

- 1) Kezlya E., Tseplik N., Kulikovskiy M. Genetic markers for metabarcoding of freshwater microalgae: review // *Biology*. 2023. V. 12. No. 7. 1038.
- 2) Yarimizu K., Sildever S., Hamamoto Y., Tazawa S., Oikawa H., Yamaguchi H., Basti L., Mardones J.I., Paredes-Mella J., Nagai S. Development of an absolute quantification method for ribosomal RNA gene copy numbers per eukaryotic single cell by digital PCR // *Harmful Algae*. 2021. V. 103. 102008.