

Сравнение методов РНК-гибридизации *in situ* и гибридационной цепной реакции для анализа тканеспецифической экспрессии генов у трематоды *Opisthorchis felineus*

Научный руководитель – Пахарукова Мария Юрьевна

Бикеев Наиль Рафикович

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Факультет естественных наук,
Новосибирск, Россия

E-mail: bikeev27.n@gmail.com

Opisthorchis felineus – трематода, возбудитель описторхоза, распространённого в России и Восточной Европе гельминтоза. Взрослые особи *O. felineus* паразитируют в желчных протоках млекопитающих и человека в течение десятилетий, вызывая хроническое воспаление, фиброз и повышая риск развития холангиокарциномы, что определяет высокую медико-социальную значимость заболевания. Длительное выживание паразита обеспечивается соматическими стволовыми клетками, поддерживающими обновление тканей. Идентификация и пространственная локализация стволовых и дифференцированных клеток необходима для понимания механизмов паразитирования и поиска новых мишеней для терапии. Одним из базовых подходов для анализа тканеспецифичной экспрессии является РНК-гибридизация *in situ*. Однако применение данного метода к цельным образцам трематод сопровождается высокой аутофлуоресценцией и неспецифическим фоном, что существенно снижает информативность метода.

В работе проведено сравнение классической РНК-гибридизации *in situ* и метода гибридационной цепной реакции (НСР), в котором амплификация сигнала происходит за счет каскадной сборки флуоресцентных ДНК-усилителей только в случае специфического связывания зонда с мРНК. На основании данных секвенирования одиночных ядер snRNA-seq взрослых особей *O. felineus* и литературных данных были выбраны мРНК-мишени: *fgfrA* (маркер соматических стволовых клеток), *hnf4* (маркер кишечного эпителия), *tsp-2* (маркер тегумента).

Показано, что применение стандартной флуоресцентной РНК-гибридизации *in situ* (FISH) сопровождается выраженным неспецифическим фоновым сигналом, затрудняющим определение локализации мРНК. Применение НСР обеспечило снижение фоновой флуоресценции и повышение контрастности сигнала, что позволило выявить тканеспецифичную экспрессию маркерных генов, включая локализацию *fgfrA*, ассоциированную с прогениторными клеточными популяциями, а также экспрессию *hnf4* и *tsp-2* в гастродермисе и тегументе соответственно. Впервые метод гибридационной цепной реакции был адаптирован для анализа цельных образцов трематод и продемонстрировал преимущество по отношению сигнал/фон по сравнению с классической гибридацией *in situ*.