

Метагеномный анализ тонкого кишечника *Bison priscus* из вечной мерзлоты**Кольжецов Николай Павлович**

Аспирант

Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Россия

E-mail: kolya.kolzhecov@mail.ru

Изучение ископаемых останков древних организмов представляет интерес, предоставляя данные для проверки эволюционных гипотез. Степень сохранности наиболее древних образцов (порядка миллионов лет) зачастую не позволяет проводить молекулярно-генетический анализ из-за высокой степени деградациии макромолекул и интенсивной минерализации. Более “молодые” и сохранные образцы (возрастом около десятков тысяч лет), напротив, могут быть исследованы на молекулярном уровне, что позволяет изучать древние микроорганизмы и их сообщества.

Классический подход к изучению сообществ микроорганизмов основан на анализе последовательностей гена 16S рРНК. Однако, ряд деталей препятствует получению адекватной информации об образце. Например, наличие этапа ПЦР может приводить к искаженной представленности разных видов микроорганизмов в образце. Также, у подавляющего большинства бактерий геномы содержат более одной копии гена 16S рРНК с отличающимися последовательностями, что также влияет на результаты анализа. Более точная и полная классификация компонентов микробиома достигается путем прочтения тотальной ДНК из образца методами секвенирования с получением длинных прочтений (PacBio, Oxford Nanopore).

В данной работе был проведен первичный метагеномный анализ сообщества содержащего тонкого кишечника *Bison priscus* возрастом ~50000 лет, найденного в вечной мерзлоте [1]. Тотальную ДНК выделяли из образца при помощи PureLink Microbiome DNA Purification Kit, а затем секвенировали на платформе MinION. Полученные прочтения собирали в контиги при помощи metaFlye, после чего классифицировали при помощи Kraken2. Для визуализации использовали инструменты Krona и iTOL.

Установлено, что в исследованном кишечном содержимом доминируют гаммапротеобактерии родов *Psychrobacter* и *Pseudomonas* (~60% от всех контигов). Однако, литературные данные указывают на то, что у близкого современного родственника бизона, *Bos taurus*, в тонком кишечнике преимущественно содержатся *Firmicutes* и *Bacteroides*, тогда как гаммапротеобактерии составляют меньшую часть микробиоты [2]. Учитывая, что в образце наиболее представленным видом рода *Pseudomonas* является *Pseudomonas psychrophila*, не являющийся основным природным компонентом микрофлоры бизона, и среди бактерий *Psychrobacter* также выявлены психрофильные виды, мы предполагаем, что экспансия данных бактерий имела место после смерти животного и снижения температуры его тела до уровня окружающей среды.

Источники и литература

- 1) Nikolskiy, P., Shidlovsky, F. (2014). Preliminary data from the study of the intact 50 000 YBP frozen mummy of the Anyuy steppe bison (Anyuy River, Arctic Far East). Abstract Book of the VIth International Conference on Mammoths and their Relatives. S.A.S.G., Special Volume 102: 141.
- 2) Shengyong Mao, Mengling Zhang, Junhua Liu and Weiyun Zhu (2015). Characterising the bacterial microbiota across the gastrointestinal tracts of dairy cattle: membership and potential function. Scientific Reports. <https://doi.org/10.1038/srep16116>