

## МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ АНТАРКТИКИ

Таксономия и систематика дрожжей до настоящего времени находится в процессе становления, несмотря на то, что первая классификация этих организмов была предложена еще в 1904 году. В современных научных исследованиях наибольшую достоверность в идентификации видов приобрели молекулярно-биологические методы, к которым можно отнести MALDI-TOF масс-спектрометрию и секвенирование участков ДНК.

Первичная идентификация видовой принадлежности проводилась с использованием масс-спектрометрического профилирования рибосомальных белков микроорганизмов, находящихся в экспоненциальной стадии роста при поддержке Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси. Метод основан на ионизации матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с детекцией во время пролетном масс-анализаторе высокого разрешения [1]. Данные после обработки анализировали с использованием системы управления базами данных BioType для идентификации микроорганизмов.

Полученные параметры достоверности в пределах от 1,700 до 1,999 («желтая область») позволили идентифицировать 7 изолятов до рода, из которых 6 были отнесены к *Sporobolomyces roseus* (изоляты 4-1, 4-7, 4-9, 4-10, 4-11 и 7-71) и один к *Pseudozyma aphidis* (изолят 1-15). Параметр достоверности в пределах от 2,000 до 2,299 («зеленая область») позволили достоверно идентифицировать до рода и возможна идентификация до вида изолята 1-32 как *Pseudozyma aphidis*. Одна культура дрожжей попала в диапазон 2,300-3,000 («зеленая область»), что позволило достоверно идентифицировать ее до вида (культура 2-2 – *Cryptococcus liquefaciens*). Остальные результаты параметров достоверности находились в «красной области» (значения показателей ниже 1,700), поэтому достоверно идентифицировать их не имелось возможности. Основной причиной являлось отсутствие в используемой базе данных таких видов дрожжей и данных о них.

Полученные результаты свидетельствовали о необходимости дальнейшей идентификации с использованием амплификации фрагментов ДНК с последующим секвенированием. Для идентификации

дрожжевых культур проводили амплификацию фрагмента 18S рДНК с использованием праймеров NS1-NS4 (размер фрагмента ~1100 пн) и межгенные участки окаймленные праймерами ITS1-ITS4, ITS1-LR3 и ITS1-LR5 (размер фрагментов ~600, 1200 и 1500 пн соответственно) (рисунок) [2].

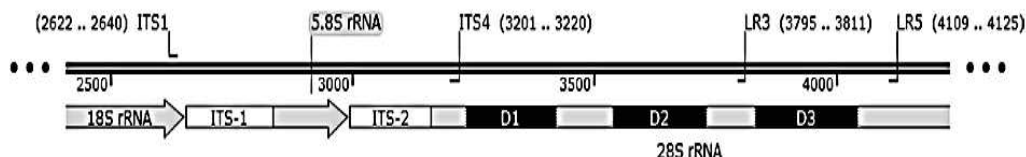


Рисунок – Генетическая карта региона амплификации

Секвенирование проводили при поддержке Института микробиологии НАН Беларуси. На момент учета результатов были получены результаты секвенирования следующих образцов: ITS1-LR5: 3-39 - *Leucosporidium golubevii* с вероятностью идентификации 94.47 %; ITS1-ITS4: 7-180 - *Cystobasidium slooffiae* - 97.39 %, 4-1 - *Sporidiobolus* sp. - 98.18 %; 3-38 - *Rhodotorula* sp. - 96.53 %; 4-7 - *Sporobolomyces roseus* - 94.31 %; 1-16.1 - *Leucosporidium fragaria* - 93.96 %; 1-16.2 - *Leucosporidium fragaria* - 95.93 %; NS1-NS4: Echo - *Sydowia polyspora*-87.17 %.

Согласно информации базы данных Index Fungorum идентифицированные изоляты дрожжей относятся к базидиомицетам, за исключением изолята Echo, который по систематическому положению относится к аскомицетным видам дрожжей.

Работа по дальнейшей идентификации антарктических изолятов дрожжей ведется и далее.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. He C., Feng J., Su J., Zhang T., Yu L. Application of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry for the Rapid Identification of Yeast Species From Polar Regions / C. He // Front. Microbiol. – 2022. – Vol.13.
2. Savchik A.V., Kanterova A.V., Leonovich S.I., Ladutko E.I., Novik G.I. Molecular genetic identification of yeast from the fund of the belarusian collection of non-pathogenic microorganism / A. V. Savchik [et al.] // Food Industry: Science and Technology. – 2020. – vol. 13, №3 (49). – pp. 61–69.