

Разработка системы дифференциации гидридов клещей *I. ricinus* и *I. persulcatus*

Научный руководитель – Белова Оксана Андреевна

Маслова Ксения Игоревна

Студент (бакалавр)

Государственный университет просвещения, Москва, Россия

E-mail: XenMasl204@yandex.ru

Клещи *Ixodes ricinus* и *Ixodes persulcatus* являются переносчиками множества патогенов. В последнее время наблюдается изменение их ареалов и зоны совместного обитания, где возможно появление стерильных гибридов. Смена вида переносчика патогена может повлиять на его свойства, вплоть до появления нового варианта. О компетентности гибридов как переносчиков патогенов и об их реальной представленности в зонах симпатрии известно мало. Из-за неоднозначных морфологических признаков, идентификация гибридов затруднена. Ранее предложенные генетические методы недостаточно специфичны или слишком трудозатратны. Это определяет необходимость создания эффективной тест-системы для идентификации гибридов клещей указанных видов в природе.

Для разработки тест-системы использовали лабораторные культуры клещей *I. ricinus* и *I. persulcatus*, их гибриды F1, а также особей из природных популяций Тверской области. Тестирование основано на аутосомных генах, подобранных ранее и, кодирующих лизоцим и Toll-рецепторы. Проведено секвенирование участков этих генов у *I. ricinus* и *I. persulcatus* из разных природных популяций. На основе выявленных полиморфизмов разработаны системы на основе ПЦР в реальном времени с различными комбинациями праймеров и флуоресцентных зондов. На первом этапе тестировали универсальные праймеры с двумя видоспецифичными зондами. На втором этапе использовали аллель-специфичные прямые праймеры с искусственными заменами для повышения специфичности и общий зонд. Проведен градиентный подбор температуры отжига.

При тестировании двухзондовой системы оптимальная дискриминация достигнута при температуре отжига 63°C: с зондом на *I. persulcatus* специфический вид клещей детектировался на 24-32 циклах, тогда как *I. ricinus* не давали сигнала. Лабораторные гибриды выходили позже (Cq 34-37). Зонд на *I. ricinus* показал недостаточную специфичность и был исключен. При скрининге клещей из природы, собранных в зоне симпатрии, часть особей, определенных как *I. persulcatus*, показала «гибридные» значения Cq. В дальнейшем, методом клонирования планируется подтвердить или опровергнуть принадлежность этих особей к гибридам.

При тестировании аллель-специфичной системы с общим зондом, оптимальные результаты получены при 63°C. Для *I. persulcatus* Cq с видоспецифичным праймером составил 24-26, перекрестная амплификация с праймером на *I. ricinus* была на уровне 35-37 циклов. Аналогичные результаты получены для системы с видоспецифичным праймером на *I. ricinus*. Реципрокные гибриды амплифицировались с обоими праймерами со средними значениями Cq, отличаясь от родительских видов на 2-6 циклов. Работа по оптимизации данной системы продолжается.

Таким образом, разработана специфичная ПЦР-РВ система на основе гена Toll, позволяющая дифференцировать виды *I. ricinus*, *I. persulcatus* и их гибридов. Необходимы дальнейшие исследования по оптимизации разработанных систем и их тестирование на природных популяциях клещей из зон симпатрии.