

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗОЛЯТОВ PASTEURELLA MULTOCIDA

А.О. Амиргазин, К.К. Муканов, М.А. Куйбагаров, Т.Б. Карибаев, Е.М. Раманкулов, А.Б. Шевцов

РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии», Нур-Султан, Казахстан

В Казахстане пастереллёз является эндемичной инфекцией, со спорадическими случаями среди домашних животных и пандемическими вспышками среди популяций сайги. Целью данной работы было изучить генотипы *P. multocida* приводящие к острой геморрагической септицемии домашних животных.

В работе были использованы три изолята *P. multocida* депонированные в коллекции РГП на ПХВ «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКиН МСХ РК. Изоляты P-mult-5-KZ, P-mult-15-KZ и P-mult-10-KZ были выделены в 2006, 2015 и 2013 годах, в Костанайской, Алматинской и Восточно-Казахстанской областях, из патологического материала двух лошадей и КРС, соответственно. ДНК выделяли с использованием набора «QIAamp DNA Mini Kit» QIAGEN (США). Приготовление библиотек ДНК осуществлялось с использованием набора Nextera XT DNA Library Prep Kit, согласно инструкции производителя. Секвенирование проводилось с использованием Reagent Kit v3 (600-циклов) на платформе MiSeq. Контроль качества полученных прочтений оценивалось в программе FastQC v0.11.9, с последующей обрезкой от низкокачественных данных используя плагин BBDuk trimmer v1.0 до значений Q30. Полученные прочтения были собраны de novo используя Skesa v2.3.0 [1]. Идентификация капсульных и липополисахаридных локусов проводилось сравнением в BLAST+ v2.9.0 и подтверждено мультиплексной ПЦР [2, 3]. Идентификация сиквенса типов было проведено на ресурсе PubMLST [4]. Аннотирование геномов проводилось с использованием веб-сервиса RASTtk [5]. Все упомянутые программы использовались со стандартными настройками.

Характеристики сборки и аннотирования секвенированных геномов представлены в таблице 1. Согласно результатам генотипирования все изоляты имеют генотип B:L2:multihost ST64, что согласуется с данными описанными ранее в работе Орынбаева с соавторами [6]. Поэтому можно судить о том, что для территории Казахстана характерен именно данный генотип. Интересным также является то, что оба штамма выделенные от лошади (ранее не доступные) проявляют сходство в длине генома и количестве генов, несмотря на дальнейшее географическое расположение и год выделения. Полногеномные данные были депонированы в базу данных NCBI под номерами: JAAILE000000000, JAAILE000000000 и JAAILE000000000.

Таблица 1 – Характеристики сборки и аннотирования секвенированных геномов.

Изолят	Кол-во прочтений	Размер генома (bp)	Кол-во контигов	Средняя глубина	N ₅₀	GC (%)	Кол-во генов (CDCs)
P-mult-5-KZ	318693	2,256,412	29	32.69	237,868	40.28	2141
P-mult-10-KZ	365028	2,300,365	30	37.18	382,962	40.25	2203
P-mult-15-KZ	225053	2,255,675	28	25.81	220,435	40.29	2142

Данная работа финансировалась грантом № AP05133053 Министерства образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Souvorov A., Agarwala R., Lipman D.J. SKESA: strategic k-mer extension for scrupulous assemblies //Genome biology. – 2018. – Т. 19. – №. 1. – С. 153.
- 2 Townsend K.M. et al. Genetic organization of Pasteurella multocida cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system //Journal of Clinical Microbiology. – 2001. – Т. 39. – №. 3. – С. 924–929.
- 3 Harper M. et al. Development of a rapid multiplex PCR assay to genotype Pasteurella multocida strains by use of the lipopolysaccharide outer core biosynthesis locus //Journal of Clinical Microbiology. – 2015. – Т. 53. – №. 2. – С. 477–485.
- 4 Pasteurella multocida multihost multilocus sequence type (MLST) database [Электронный ресурс]. URL: <http://pubmlst.org/pmultocida/multihost/introduction.shtml>.
- 5 Brettin T. et al. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes //Scientific reports. – 2015. – Т. 5. – С. 8365.
- 6 Orynbayev M. et al. Biological characterization of Pasteurella multocida present in the Saiga population //BMC microbiology. – 2019. – Т. 19. – №. 1. – С. 37.