

УДК 577.21.06:575.8

Метапротеом микробиома таежного клеща *Ixodes persulcatus* Тюменской области

А. С. Козлова^{1,2}, А. В. Згода^{2*}, Н. А. Петушкова², Н. А. Болоченков², В. Г. Згода²,
М. А. Сальницкая¹, Д. В. Казаков¹, А. В. Лисица^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень, 625003 Россия

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»,
Москва, 119121 Россия

*E-mail: alex.zgoda23@gmail.com

Поступила в редакцию 07.07.2025

Принята к печати 28.10.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27741

РЕФЕРАТ Метагеномные исследования раскрывают таксономический состав микробиома таежного клеща (*Ixodes persulcatus*), а сведения о биохимически активной части обитающего в клеще микробного сообщества могут быть получены из метапротеомных данных. С использованием методов метапротеомики охарактеризованы биологические процессы микробиома *I. persulcatus*. Проанализированы метапротеомы голодных самок и самцов, идентифицированы белковые продукты, кодируемые 2100 генами микроорганизмов, относящихся к 203 видам бактерий и грибов. Обнаружено повышение количества белков, ассоциированных с грибами класса Ascomycota, особенно выраженное у самок. Найдены белки патогенных видов риккетсий и боррелий. Для увеличения охвата идентифицируемых белков при подготовке проб к масс-спектрометрическому измерению использовали две концентрации трипсина. Полученные результаты позволяют перейти от таксономического метагеномного описания к функциональному анализу роли микробного консорциума в физиологии клеща-переносчика инфекций, в том числе с учетом обнаруженных нами различий микробиоты в зависимости от пола клеща.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА таежный клещ *Ixodes persulcatus*, микробиом, метапротеом, риккетсии, боррелии, масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Глобальные климатические изменения приводят к расширению ареалов обитания многих животных, включая членистоногих, вместе с которыми распространяются и новые для этих территорий патогены [1]. Мировая фауна иксодовых клещей (Acari: Ixodida) насчитывает около 900 видов, относящихся к семействам Argasidae, Ixodidae и Nuttalliellidae [2]. В настоящий момент эти клещи обнаруживаются в различных природных зонах (от степей до арктических пустынь) и на разных животных – от рептилий и птиц до млекопитающих [3].

Иксодовые клещи (Ixodidae) являются ключевыми резервуарами и переносчиками (организмами-векторами) патогенов человека и животных (клещевой вирусный энцефалит, крымская геморрагическая лихорадка, боррелиозы, пироплазмозы и др.) [4]. С помощью современных методов секвенирования идентифицированы ассоциированные с клещами патогенные вирусы, бактерии и грибы.

С использованием метагеномного секвенирования в Европе выявлены новые патогенные вирусы [5]. В широкопрофильных исследованиях микробиома иксодовых клещей найдены новые бактерии рода *Rickettsia* [6, 7].

Метапротеомика дополняет исследование генетического профиля (метагеномный анализ) характеристик метаболически активных таксонов микроорганизмов. Риккетсии (*Rickettsia* sp.) и боррелии (*Borrelia* sp.) идентифицированы как ключевые патогены человека, переносимые клещами, обитающими в парках Нью-Йорка [8]. Обнаружены различия между метагеномным и метапротеомным профилями клещей рода *Ixodes* в Северной Америке и Западной Европе [8]. Метапротеомные исследования таежного клеща *I. persulcatus*, широко распространенного на территории России и Азии, ранее не проводились.

В данной работе сделана попытка охарактеризовать биологические процессы микробиома таежного клеща методами метапротеомики.

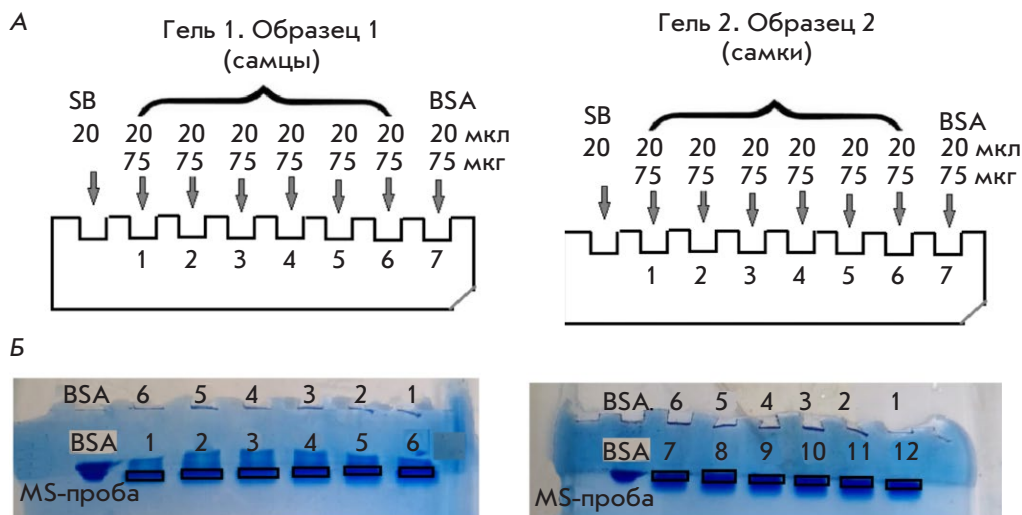


Рис. 1. Нанесение экстрактов белков из образцов клещей *Ixodes persulcatus* на 1DE-гель. А – SB, буфер для электрофореза, бромфеноловый синий. Б – электрофореграммы белковых экстрактов клещей. MS-проба – нумерация технических повторов. BSA – бычий сывороточный альбумин, стандарт

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы клещей *Ixodes persulcatus*

Таежных клещей *I. persulcatus* собирали в районе биостанции Тюменского государственного университета на озере Кучак в весенний период 2024 года (апрель–май) на часто посещаемых природных тропах. Использовали белый флаг (плотная белая ткань, прикрепленная к древку) размером 1 м². Оказавшихся на флаге клещей собирали пинцетом и переносили в пробирки. После определения видовой принадлежности по морфологическим критериям отобрали по три голодных особи самцов и самок. Вес трех самцов (15 мг) незначительно отличался от веса самок (13 мг). Для протеомного исследования образцы хранили и транспортировали в жидком азоте.

Подготовка образцов для протеомного профилирования

Использовали два пулированных образца: в образце (1) объединили три экземпляра самцов, а в образце (2) – три экземпляра самок таежного клеща. Тела клещей (без конечностей), замороженные при –80°C, растирали фарфоровым пестиком в фарфоровой ступке с последующей обработкой ультразвуком (BANDELIN Sonopuls HD 2070, Берлин, Германия) в ледяной ванне в течение двух циклов по 50 с каждый с интервалом 25 с для уменьшения перегрева и солюбилизации в присутствии буфера на основе 2% додецилсульфата натрия (SDS).

Влияние SDS на подавление ферментативной активности трипсина снижали, удаляя детергент с помощью процедуры 1DE-гель концентрирования (SDS-PAGE без фракционирования в разделяющем геле [9]). Схема нанесения образцов на гель представлена на рис. 1А. На рис. 1Б показаны результирующие электрофореграммы.

Из каждого геля вырезали по три наиболее интенсивные полосы с содержанием белка примерно 50 мкг. Гидролиз в геле проводили по стандартной методике [10]. Смесь триптических пептидов использовали для масс-спектрометрического анализа. Масс-спектры каждой из трех вырезанных из гелей полос снимали в трех технических повторах. Каждый из двух образцов (самцы и самки) соответствовал девяти пробам.

Масс-спектрометрия

Пептиды разделяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ, Ultimate 3000 Nano LC System, Thermo Scientific, США) на колонке C18 длиной 15 см, внутренний диаметр 75 мкм (Acclaim PepMap RSLC, Thermo Fisher Scientific). Пептиды элюировали градиентом буфера Б (80% ацетонитрила, 0.1% муравьиной кислоты) со скоростью потока 0.3 мкл/мин. Общее время хроматографии составило 90 мин. Измерения проводили на приборе Q Exactive HF-X Hybrid Quadrupole-Orbitrap (Thermo Fisher Scientific).

Идентификация белков

Из базы данных UniProtKB отобрали аминокислотные последовательности белков, характерных для классов микроорганизмов, наиболее представленных в микробных сообществах иксодовых клещей. Были сформированы четыре базы данных для классов Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Bacillii и Ascomycota по 36, 125, 56 и 35 тысяч верифицированных белок-кодирующих генов соответственно.

Идентификацию пептидов/белков осуществляли с использованием программы IdentiPROT (v. 3.2) и поискового алгоритма IdentiPy [11]. Основные параметры идентификации: расщепляющий фер-

мент – трипсин; точность совпадения теоретической и экспериментальной массы пептида ± 5 долей на миллион; фрагментарных ионов ± 0.01 ; значение зарядового состояния ионов пептида – «2+, 3+, 4+»; количество возможных пропущенных участков расщепления трипсином – не более одного.

Методические детали пробоподготовки, режимы проведения ВЭЖХ-МС/МС и параметры идентификации белков приведены в описании архива Figshare по адресу <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.29469527>. По этой же ссылке на вкладке [Downloads] размещены файлы формата «tsv» с результатами идентификации метапротеома.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация белков метапротеома таежного клеща

Общее количество уникальных белков (белковых групп) у микроорганизмов составило совокупно по всем классам 1843 по данным для образцов самок и самцов. Если за нормировочный фактор взять более 276 тысяч записей в UniProtKB, что означает суммарное число известных у потенциально ожидаемых представителей бактерий и грибов, то покрытие метагенома на метапротеомном уровне составило порядка 0.01% [8, 12].

В среднем количество идентифицированных белков микроорганизмов клеща *I. persulcatus* в группах проб не превышало 1100 (количество обработанных масс-спектров $n = 9$). Для соотношения трипсин : белок $\approx 1 : 40$ образец 1 (самцы) содержал: 482 ± 97 белковых идентификаций; образец 2 (самки) – 1019 ± 47 , для соотношения трипсин : белок $\approx 1 : 100$, образец 1: 782 ± 88 ; образец 2: 1002 ± 55 . При соотношении трипсин : белок $\approx 1 : 40$ количество идентифицированных белков в образцах самок клещей *I. persulcatus* оказалось в 2 раза больше, чем в экстрактах белков самцов клещей. В то же время при соотношении трипсин : белок $\approx 1 : 100$ количество идентификаций у самок и самцов существенно не отличалось, в SDS-экстрактах клещей самцов выявлено всего в 1.3 раза меньше белков бактерий и грибов, чем в SDS-экстрактах самок. В образцах самцов *I. persulcatus* при добавлении меньшего количества трипсина к фрагменту геля, содержащему примерно 50–60 мкг белка (соотношение трипсин : белок $\approx 1 : 100$), количество выявленных белков микробиома было в 1.6 раза больше, чем при соотношении трипсин : белок $\approx 1 : 40$. В случае образцов самок *I. persulcatus* такой разницы в количестве идентифицированных в микробиоме белков при варьировании соотношения трипсин : белок не обнаружено.

Таблица 1. Количество белков микроорганизмов, идентифицированных протеомной поисковой машиной IdentifiPROT по девяти масс-спектрам пептидных фрагментов (3 техповтора на каждый из трех срезов геля) в белковом экстракте таежного клеща *I. persulcatus*

Образец	Соотношение трипсин : белок	Количество идентификаций		
		PSM*	пептиды	белки
№ 1, самцы	1 : 40	27709	1855	1272
	1 : 100	37892	2225	1427
№ 2, самки	1 : 40	46753	2509	1634
	1 : 100	48896	2603	1597

*PSM – Peptide Spectra Match, количество экспериментальных МС/МС масс-спектров, статистически значимо совпадающих с теоретическим спектром фрагментации пептида.

Рассмотрим результаты идентификации белков микробиома таежного клеща по девяти пробам, которые представляли собой по три масс-спектрометрических повтора с каждого из трех срезов геля на один образец. По данным *табл. 1* количество идентификаций распределено в зависимости от пола клещей *I. persulcatus* и от соотношения трипсин : белок. Наибольшее количество идентификаций получено для образцов самок при меньшей концентрации трипсина (1 : 100). Интерпретация фрагментных спектров 7008 пептидов позволила найти всего 1504 микробных белка, то есть на один белок в среднем приходилось по 4.65 пептида. Такой показатель хорошо соотносится с рекомендациями по оценке качества идентификации белков путем масс-спектрометрического анализа пептидных продуктов гидролиза [13]. В *табл. 1* наименьшее количество идентификаций (772) соответствует соотношению содержания белок : трипсин = 1 : 40, в образце 1, где белковую фракцию выделяли из самцов. Несмотря на меньшее количество идентификаций, качество данных сопоставимо с вышеописанной пробой (самки, 1 : 100), поскольку соотношение количества пептидов на белок составляло 4.31.

На *рис. 2* представлены диаграммы зависимости количества идентифицированных белков микроорганизмов, обитающих в клещах *I. persulcatus*, от пола и соотношения трипсин : белок. Доля белков, общих для вариантов соотношения трипсин : белок, в составе метапротеомов составила: у самцов 52% от общего количества идентификаций и 69% у самок. Отметим, что при одном и том же соотношении трипсин : белок количество белков метапротеома, общих у самцов и самок, было меньше 50%. То есть использование двух концентраций до-

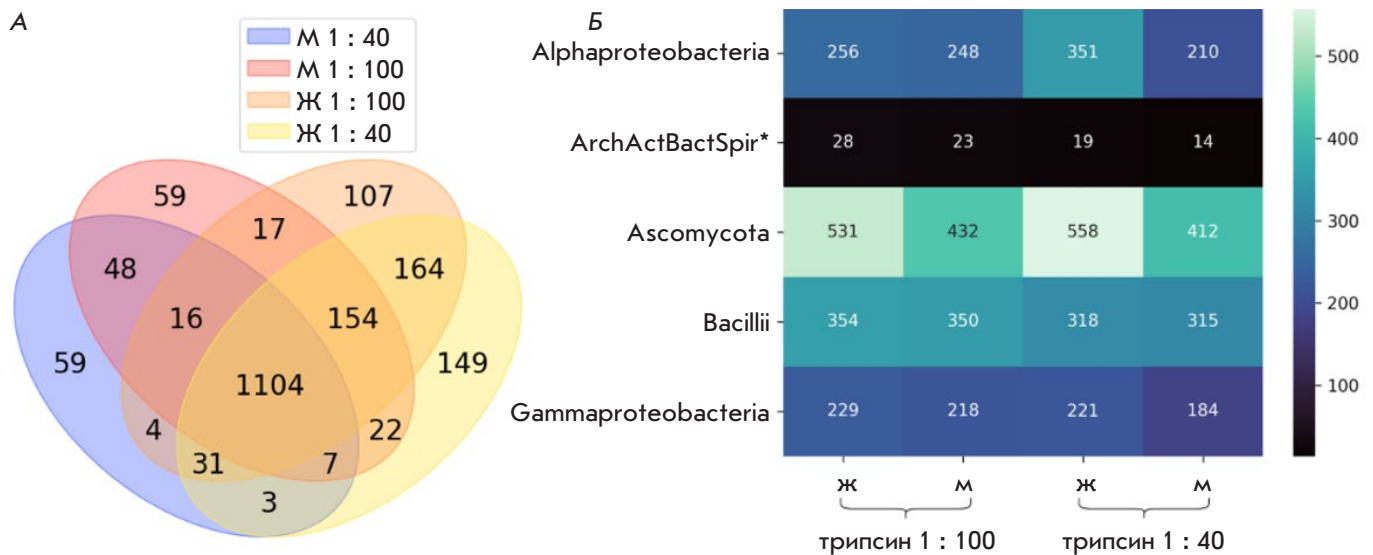


Рис. 2. Общие сведения о метапротеоме голодных самцов (М) и самок (Ж) таежного клеща *I. persulcatus*. Идентификацию проводили программой *Identifrot* по базам данных основных классов бактерий и грибов с использованием в качестве критерия один и более пептидов на белок при двух вариантах соотношения концентраций белок : трипсин: 1 : 100 и 1 : 40. **А** – пересечение множеств идентифицированных белков в зависимости от пола клеща и от концентрации трипсина. **Б** – тепловая карта распределения количества идентифицированных белков по классам микроорганизмов. ArchActBactSpir* – объединение классов Archaea, Actinobacteria, Bacteroidia и Spirochaeta

бавляемого трипсина позволило расширить профиль идентифицируемых белков микроорганизмов таежного клеща.

На *рис. 2Б* при помощи тепловой карты проиллюстрировано количественное распределение уникальных белков, идентифицированных в метапротеомах самок (Ж) и самцов (М) клещей *I. persulcatus* при различных условиях ферментативного гидролиза с использованием трипсина в соотношениях 1 : 100 и 1 : 40. Отображены белки, характерные для пяти таксономических классов микроорганизмов (Alphaproteobacteria, ArchActBactSpir – объединенная категория Archaea, Actinobacteria, Bacteroidia и Spirochaeta, а также Ascomycota, Bacillii, Gammaaproteobacteria). Наибольшее количество белков, специфичных для класса, выявлено у представителей Ascomycota при применении двух протоколов протеолиза, особенно у самок. Несмотря на небольшое количество выявленных белков актиномицетов, те из них, которые были идентифицированы масс-спектрометрически, присутствовали в значимых концентрациях. Это подтверждается большим количеством выявленных пептидов на белок и в высоких значениях индексов полуколичественной оценки NSAF.

Микроорганизмы в метапротеоме таежного клеща

Анализ метапротеома таежного клеща выявил доминирование белков грибов – аскомицеты состави-

ли 61% всех идентифицированных белков микроорганизмов (*рис. 3А–Г*). Примечательно, что белки грибов показали исключительно высокую надежность идентификации (более 8 пептидов на белок), в то время как бактериальные белки идентифицировались с существенно меньшим количеством пептидов (менее 7, *рис. 3Д,Е*). Этот контраст особенно интересен в свете данных [12], согласно которым в метапротеоме других видов иксодовых клещей преобладали патогенные бактерии.

Мы обнаружили, что изменение концентрации трипсина не повлияло на представленность белков грибов, что может свидетельствовать об их особой устойчивости к протеолизу или о высоком исходном содержании. Наиболее представленными оказались белки одноклеточных грибов видов *Neurospora crassa*, *Schizosaccharomyces pombe* и *Yarrowia lipolytica*. Отметим, что полуколичественный показатель NSAF не показал значимых различий между бактериями и грибами, несмотря на разницу в количестве идентифицированных пептидов.

Интересно, что бактериальный профиль, по-видимому, связан с половым диморфизмом: спектр бактерий у самцов значительно шире и включает представителей родов *Rhizobium*, *Agrobacterium* и *Brucella* (*рис. 3*). Риккетсии обнаружены у особей обоих полов, что согласуется с данными [12]. Можно предположить, что грибной компонент микробиома, возможно, играет более значительную роль в фи-

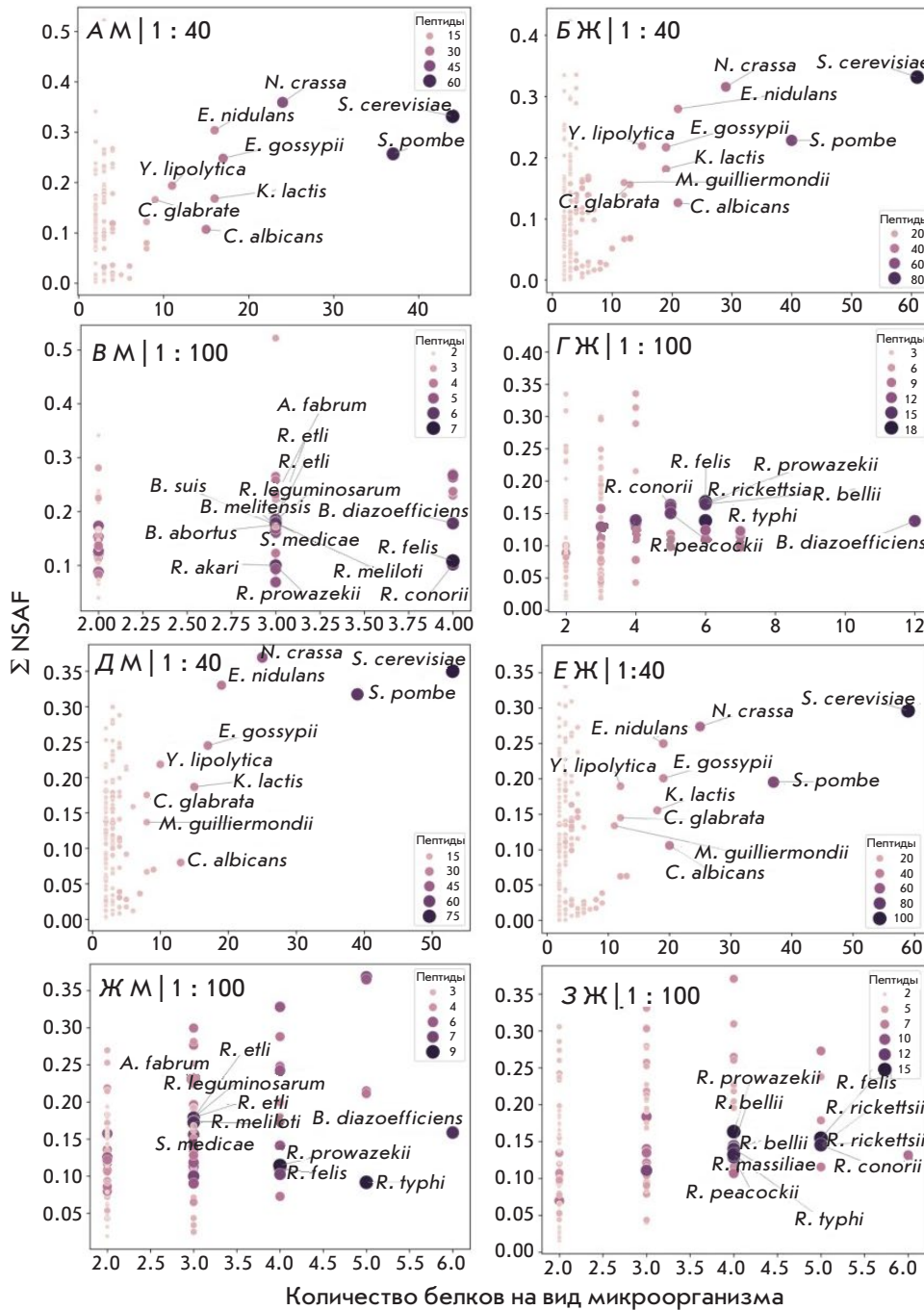


Рис. 3. Виды микроорганизмов, представленные в метапротеоме таежного клеща. А, Б, Д, Е – соотношение белок : трипсин = 1 : 40. В, Г, Ж, З – соотношение белок : трипсин = 1 : 100. А–Г – с учетом представителей класса аскомицет. Д–З – без класса аскомицет. М – образец 1, самцы, Ж – образец 2, самки. Σ NSAF – сумма полуколичественных масс-спектрометрических оценок для белков, относящихся к определенному микроорганизму согласно аннотациям базы данных UniProtKB

зиологии таежного клеща, чем считалось ранее. Превалирование белков аскомицет можно рассматривать как фактор адаптации к жизни на поверхности тела клеща, тогда как бактерии представлены в основном эндосимбионтами.

Полуколичественный состав метапротеома таежного клеща

На рис. 4 приведены гистограммы распределения значений индекса NSAF, являющегося относительной оценкой содержания белка в образцах

(рис. 4А,Б). Значения индекса экспоненциально убывают в диапазоне от 0.01 до максимального количества белков. Распределение приобрело более равномерный характер при исключении белков представителей класса Ascomycota: пропал наблюдавшийся на рис. 4А,Б выраженный пик в районе низких значений интенсивностей полуколичественной характеристики (рис. 4В,Г).

На врезках (рис. 4А,Б) показано распределение количества пептидов на один идентифицированный белок. Уточним, что стандарты масс-

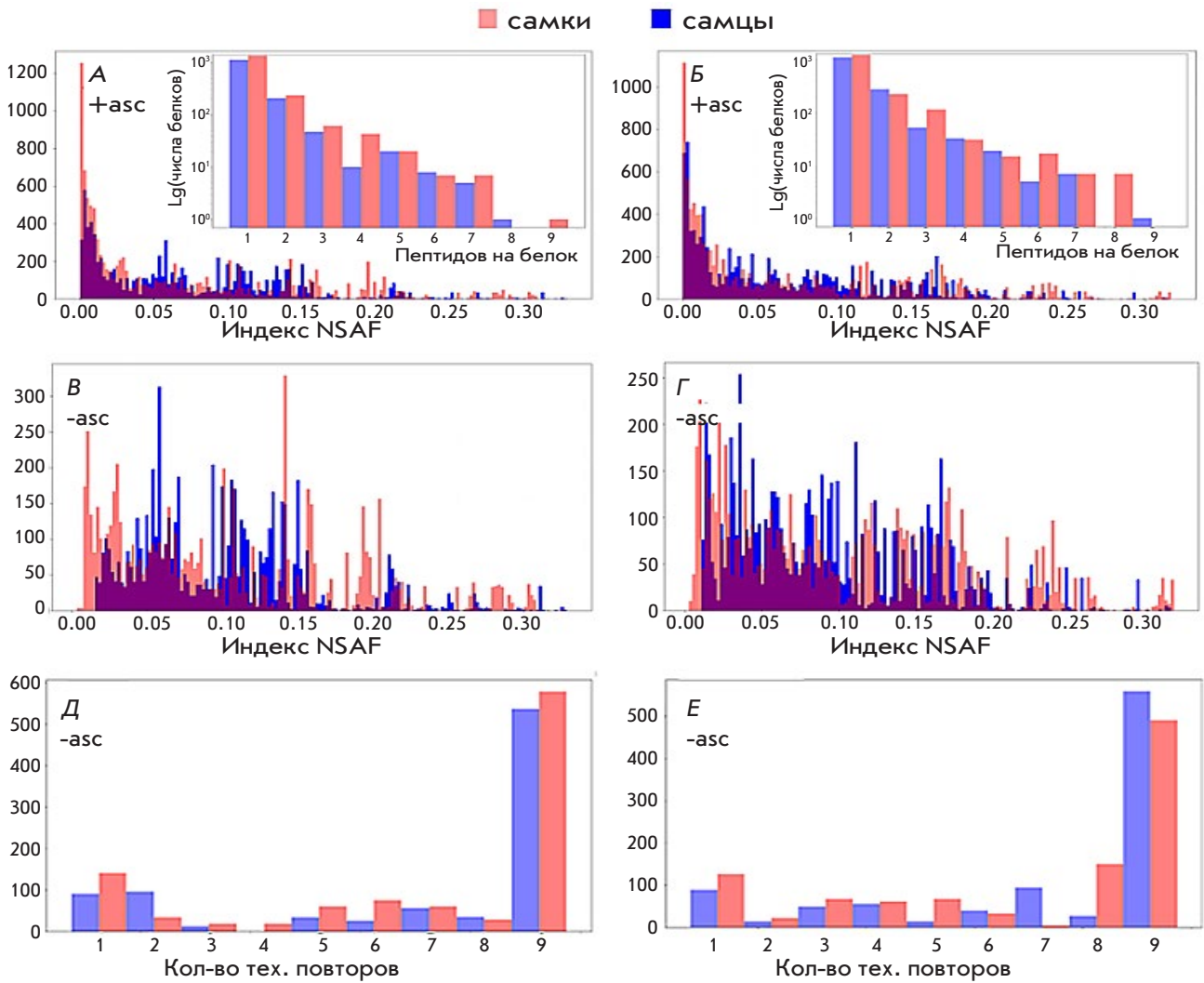


Рис. 4. Белковый состав метапротеома таежного клеща. +/- asc – аскомицеты, включали/выключали из анализа. Соотношение белок : трипсин = 1 : 40 (A, B); B, Г – 1 : 100. A, Б – распределение полуколичественной оценки содержания белков в образцах по индексу NSAF. B, Г – количество обнаруженных масс-спектрометром пептидов, на основании которых констатировали идентификацию белка. Д, Е – «скважность», то есть, насколько часто идентификация белка по одному и более пептидам повторялась в серии из технических повторов (из анализа исключали представителей класса Ascomycota, обозначено -asc)

спектрометрической идентификации, выработанные в проекте «Протеом человека», предписывают наличие не менее двух пептидов [13]. Однако наибольшее количество белков определено по одному пептиду; эти пептиды однозначно определяли последовательности выявленных белков.

Повторяемость результатов в методических повторах при разделении с помощью одномерного гель-электрофореза и в технических репликах хромато-масс-спектрометрических измерений отображена на рис. 4Д,Е для соотношений белок : трипсин = 1 : 40 и 1 : 100 соответственно. Видно, что во всех девяти экспериментальных повторах

как у самцов, так и у самок идентифицировано примерно 500 белков. Оцененное число идентификаций у самцов и самок клещей при варьировании количества добавляемого гидролитического агента составляет >1800 белковых продуктов. Порядка четверти из них характеризуются высокой повторяемостью идентификации в эксперименте, включающем $9 \times 2 = 18$ технических повторов. Информация о таких надежно идентифицированных белках представлена в табл. 2.

В табл. 2 представлены белки, идентифицированные в девяти технических повторах (по три запуска ВЭЖХ-МС для каждого из трех фрагментов

Таблица 2. Высокопредставленные бактериальные белки в составе метапротеомов самцов и самок таежного клеща*

№	Белок	Микроорганизм	Среднее NSAF**±SD		Мол. масса, кДа
			самки	самцы	
1.	АТФ-синтаза, альфа-субъединица	<i>Saccharophagus degradans</i> , <i>Teredinibacter turnerae</i> , <i>Dichelobacter nodosus</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Pseudomonas putida</i> и др.	0.22 ± 0.04	0.18 ± 0.05	~55
2.	АТФ-синтаза, бета-субъединица	<i>Phocaeicola vulgatus</i> , <i>Bacillus cytotoxicus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. anthracis</i> и др.	0.21 ± 0.06	0.24 ± 0.04	~52
3.	Малатдегидрогеназа	<i>Glaesserella parasuis</i>	n/a	0.21 ± 0.05	~55
4.	Шаперон DnaK	<i>Thermosipho africanus</i> , <i>Bartonella henselae</i> , <i>Bartonella tribocorum</i> , <i>Azorhizobium caulinodans</i>	0.18 ± 0.03	0.15 ± 0.05	~65
5.	Шаперон HtpG	<i>Buchnera aphidicola</i> , <i>Rickettsia felis</i> , <i>R. bellii</i> , <i>Rickettsia typhi</i>	0.12 ± 0.04	0.12 ± 0.08	51–72
6.	NADP-зависимая изоцитратдегидрогеназа	<i>Sphingobium yanoikuyae</i>	0.07 ± 0.01	0.04 ± 0.01	~45
7.	Шаперон GroEL	<i>R. rickettsii</i> , <i>R. prowazekii</i> , <i>R. bellii</i> , <i>R. typhi</i>	n/a	0.08 ± 0.02	~52

*Соотношение общего содержания белка и гидролитического фермента, трипсина – 1 : 100, взятых в миллимолярных концентрациях.

**NSAF – индекс, показывающий количество белкового анализа, определенное по результатам суммирования масс-спектрометрических сигналов в отсутствие меченого изотопом пептидного стандарта (Normalized Spectral Abundance Factor). n/a – нет данных, SD – отклонение от среднего значения индекса NSAF.

геля) у самцов и у самок. В результате анализа метапротеома в каждом из девяти запусков прибора было идентифицировано семь белков «домашнего хозяйства». Ядро составили ферменты энергетического метаболизма (АТФ-синтаза, малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа) и стресс-индуцируемые шапероны (DnaK, HtpG, GroEL).

Интересно, что уровень синтеза малатдегидрогеназы и шаперона GroEL был стабильно выше у самок. Особенно заметной была роль АТФ-синтазы, обнаруженной у 39 видов бактерий, субъединицы АТФ-синтазы составляли более 60% воспроизводимых масс-спектрометрических идентификаций. Полуколичественная оценка (NSAF) подтвердила представленность АТФ-синтазы (NSAF > 0.20) при минимальных значениях для шаперона GroEL (NSAF = 0.08). Повышенная представленность шаперонов у самок может отражать адаптивную стратегию микробиома для поддержания белкового гомеостаза и обеспечения выживаемости как комменсальных, так и патогенных микроорганизмов в условиях физиологического стресса [14]. Для таких патогенов, как *Borrelia* spp., особенно важно сохранять жизнеспособность при смене хозяина, то есть при переходе от клеща к теплокровному хозяину.

На рис. 5 представлены результаты функциональной классификации белков метапротеома микробиома самцов и самок клеща *I. persulcatus*. Кольцевые диаграммы отражают относительную

представленность белков, участвующих в биологических процессах (Gene Ontology : Biological Process, GO : BP) в метапротеомном профиле (рис. 5А – самцы, рис. 5Б – самки). Проведенный анализ выявил существенные половые различия в функциональном профиле микробиома *I. persulcatus*. У самцов доминируют процессы клеточного деления (15.0%) и синтеза АТФ (12.1%), что свидетельствует об ориентации микробиоты на поддержание энергозависимых функций и пролиферативную активность. У самок преобладают белки, связанные с рефолдингом (22.9%) и клеточным делением (18.6%), что связано с усиленным контролем качества белков и пролиферативной активностью. Наши данные согласуются с результатами [12], которые подчеркивают повышенный уровень биосинтеза белков «домашнего хозяйства» в метапротеоме самок клещей другого вида – *I. ricinus*.

На дендрограмме (рис. 5В) наблюдается функциональная близость биологических процессов. В структуре дендрограммы кластеры, объединяющие энергетический обмен и регуляторные механизмы (гликолиз, одноуглеродный метаболизм, регуляция экспрессии генов), а также процессы поддержания белкового гомеостаза (рефолдинг белков и трансляция). Отдельный кластер обобщает пути катаболизма и клеточное деление, сопряженные с циклом трикарбоновых кислот, что отражает, по видимому, координацию энергетического метаболизма и пролиферативных процессов.

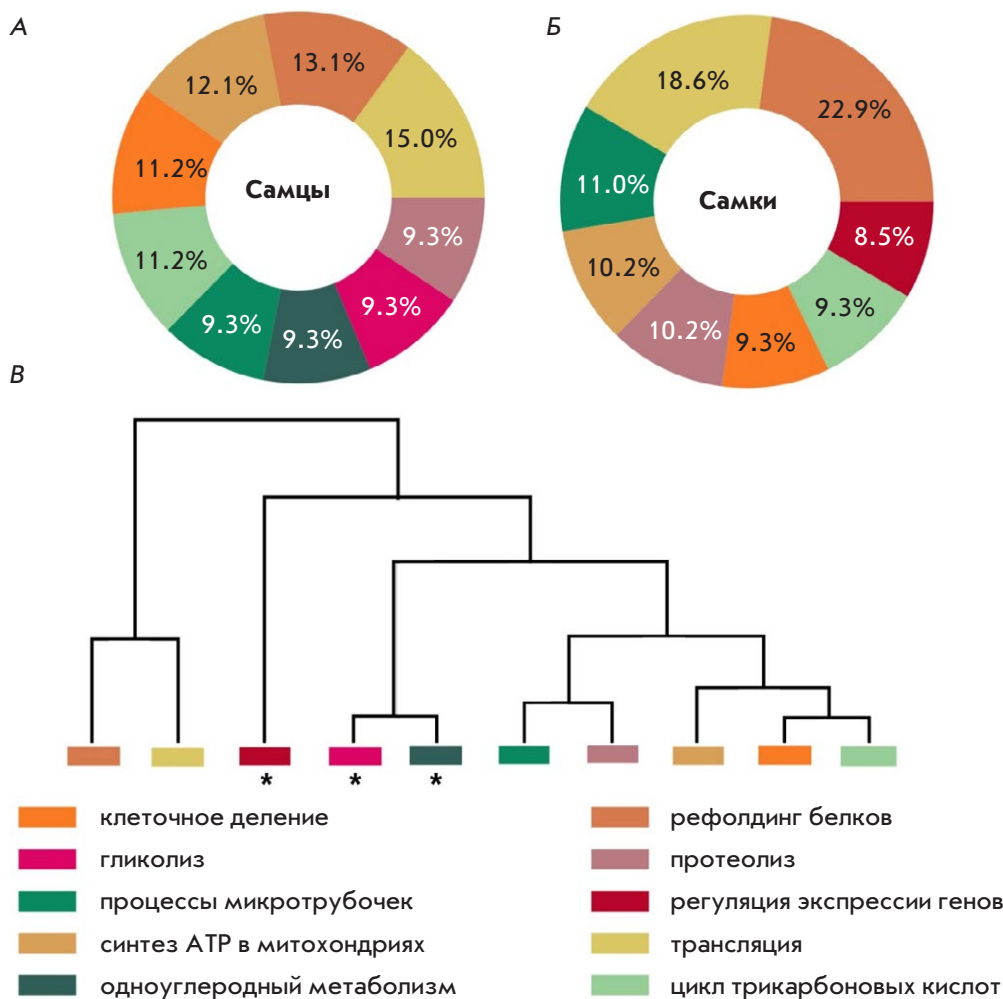


Рис. 5. Распределение белков в метапротеоме микробиома голодных самцов (А) и самок (Б) клещей *Ixodes persulcatus* по категориям биологических процессов (Gene Ontology: Biological Process). В – кластеризация метаболических процессов. Символом * отмечены группы белков, содержание которых значительно различается в метапротеомах микробиомов самцов и самок

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием метапротеомного подхода изучали метапротеом *I. persulcatus* – переносчика клещевого энцефалита и боррелиоза на территории Евразии. Анализ метапротеомов таежного клеща *I. persulcatus* потребовал оптимизации методики подготовки проб, что выразилось в увеличении на 19% количества идентифицируемых белков при использовании комбинированного подхода с очисткой от детергента. Функционально охарактеризован протеомный состав микробиома клеща. Мы перешли от известных по метагеномным данным таксономических списков к оценке биохимической активности микробного консорциума. В метапротеоме обнаружено повышенное содержание белков, ассоциированных с грибами класса Ascomycota, что особенно выражено у самок. Выявленный профиль метапротеома, в котором преобладают белки грибов, отличается от данных, полученных ранее для других видов клещей (например, *I. scapularis* [8]). В метапротеоме наблюдали белки патогенных бактерий, риккетсий

и боррелий. Всего идентифицировано 2100 микроб-специфичных белков, что свидетельствует о высоком разнообразии микробиоты кровососущих клещей.

Необходимо учитывать, что низкая глубина покрытия микробного протеома на фоне доминирующего пула белков клеща-хозяина характерна для подхода обзорной метапротеомики сложных образцов. Неизбежна недооценка доли низкопредставленных, но, возможно, критически важных патогенов. Для их детекции требуется предварительная сепарация микробных клеток с помощью микрофлюидики в сочетании с целевыми протеомными подходами [15].

Таким образом, нами обозначены биохимические процессы в микробиоте таежного клеща *I. persulcatus* (рис. 5). Полученные данные содержат как бактериальный, так и грибковые генные продукты. Полученные данные о метапротеоме микробиоты клеща важны для формирования мультиомиксного понимания процессов жизнедеятельности *I. persulcatus*. ●

Благодарности

Авторы благодарят Д.В. Смутина (ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО») и А.Х. Тальдаева (ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет») за предоставление метаданных по микроорганизмам иксодидных клещей. Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили с использованием оборудования ЦКП «Протеом человека» ИБМХ им. В.Н. Ореховича. Расчеты произведены на базе ЦКП

высокопроизводительных вычислений Тюменского государственного университета.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Соглашения № 075-15-2024-563 от 24 апреля 2024 г.

«Эмерджентные биологические угрозы для сельского хозяйства России и стран СНГ в условиях глобальных изменений: выявление патогенов с применением мультиомиксного скрининга в ключевых векторах и окружающей среде».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Montero E, González LM, Chaparro A, et al. First record of Babesia sp. in Antarctic penguins. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2016;7(3):498-501. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.02.006
2. Horak IG, Camicas JL, Keirans JE. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): A World List of Valid Tick Names. *Exp Appl Acarol.* 2002;28(1-4):27-54. doi: 10.1023/A:1025381712339
3. Beati L, Klompen H. Phylogeography of Ticks (Acari: Ixodida). *Annu Rev Entomol.* 2019;64(1):379-397. doi: 10.1146/annurev-ento-020117-043027
4. ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Цапко НВ. СПИСОК ВИДОВ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ (ACARI: IXODIDAE) РОССИИ. *Паразитология.* 2020;54(4):341-352. doi: 10.31857/S1234567806040069
5. Ergunay K, Golubiani G, Kirkitadze G, et al. Ongoing circulation of emerging tick-borne viruses in Poland, Eastern Europe. Stevenson B, ed. *PLoS One.* 2025;20(9):e0330544. doi: 10.1371/journal.pone.0330544
6. Polsomboon Nelson S, Ergunay K, Bourke BP, et al. Nanopore-based metagenomics reveal a new Rickettsia in Europe. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2024;15(2):102305. doi: 10.1016/j.ttbdis.2023.102305
7. Ergunay K, Boldbaatar B, Bourke BP, et al. Metagenomic Nanopore Sequencing of Tickborne Pathogens, Mongolia. *Emerg Infect Dis.* 2024;30(14). doi: 10.3201/eid3014.240128
8. Smith HR, Canessa EH, Roy R, Spathis R, Pour MS, Hauthout Y. A single tick screening for infectious pathogens using targeted mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2022;414(13):3791-3802. doi: 10.1007/s00216-022-04054-y
9. Shkrigunov T, Pogodin P, Zgoda V, et al. Protocol for Increasing the Sensitivity of MS-Based Protein Detection in Human Chorionic Villi. *Curr Issues Mol Biol.* 2022;44(5):2069-2088. doi: 10.3390/cimb44050140
10. Shevchenko A, Wilm M, Vorm O, Mann M. Mass Spectrometric Sequencing of Proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. *Anal Chem.* 1996;68(5):850-858. doi: 10.1021/ac950914h
11. Levitsky LI, Ivanov MV, Lobas AA, et al. Identipy: An Extensible Search Engine for Protein Identification in Shotgun Proteomics. *J Proteome Res.* 2018;17(7):2249-2255. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00640
12. Kamburov A, Cavill R, Ebbels TMD, Herwig R, Keun HC. Integrated pathway-level analysis of transcriptomics and metabolomics data with IMPaLA. *Bioinformatics.* 2011;27(20):2917-2918. doi: 10.1093/bioinformatics/btr499
13. Paik YK, Omenn GS, Uhlen M, et al. Standard Guidelines for the Chromosome-Centric Human Proteome Project. *J Proteome Res.* 2012;11(4):2005-2013. doi: 10.1021/pr200824a
14. Henderson B, Allan E, Coates ARM. Stress Wars: the Direct Role of Host and Bacterial Molecular Chaperones in Bacterial Infection. *Infect Immun.* 2006;74(7):3693-3706. doi: 10.1128/IAI.01882-05
15. Terekhov SS, Smirnov IV, Malakhova MV, et al. Ultrahigh-throughput functional profiling of microbiota communities. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2018;115(38):9551-9556. doi: 10.1073/pnas.1811250115