

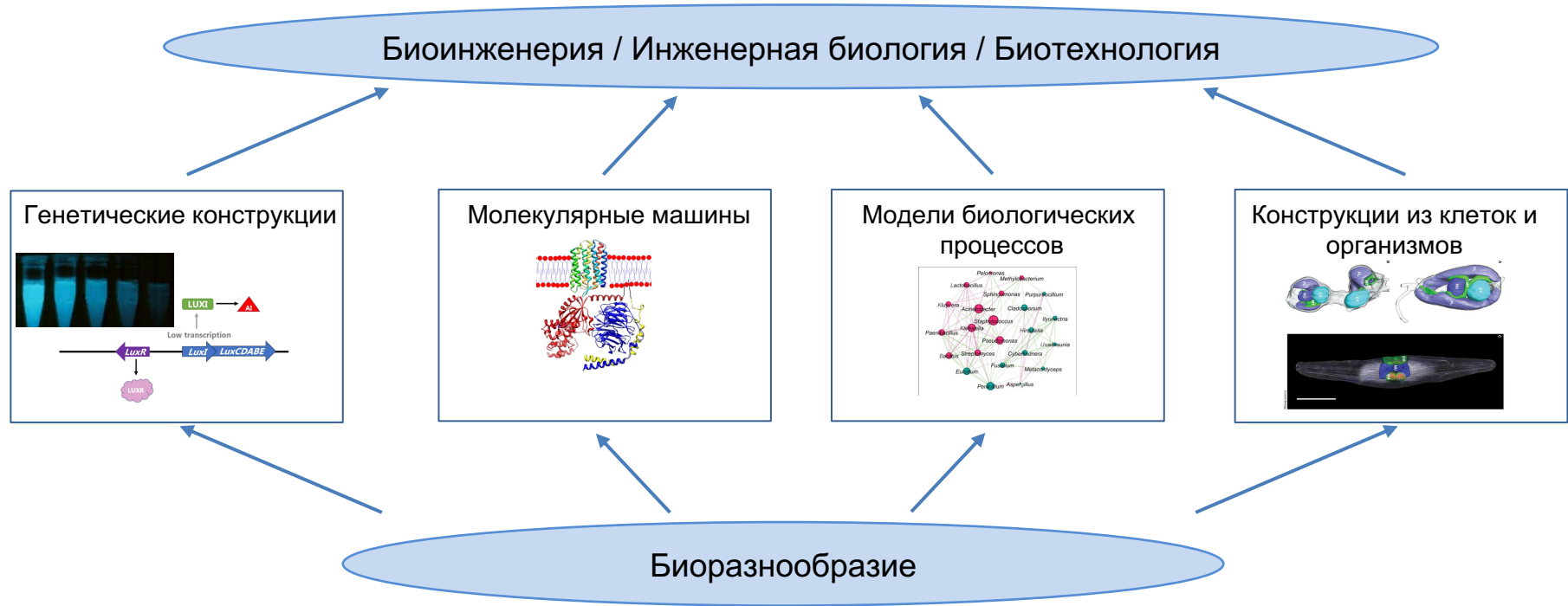


In situ метагеномика длинных чтений для функционально-метагеномной оценки синцианозов окрестностей ББС имени Н.А. Перцова

Докладчик:

к.б.н., старш. преподаватель
каф. биотехнологии
Зайцев Пётр Андреевич

Связь биоинженерии, природных экосистем и биотехнологии



Экологическая биоинженерия — это междисциплинарное направление, занимающееся изучением природных экосистем и конструированием на основе них новых живых систем.

Поиск микроорганизмов с биоинженерным и биотехнологическим потенциалом



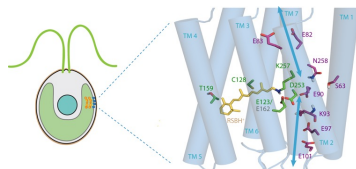
Люминесцентные бактерии
в беспозвоночных и
позвоночных животных



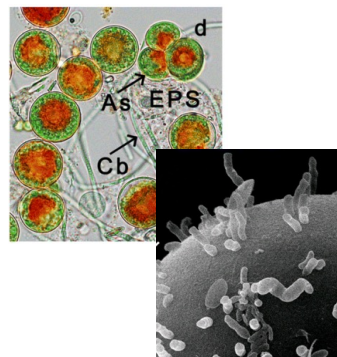
Новые системы
биолюминесценции для
биосенсоров и геной
инженерии



Одноклеточные эукариотические
микроорганизмы с выраженным
фототропизмом



Новые типы канальных
белков для оптогенетики



Сообщества и биопленки
ОФМ с бактериями



Эффективные продуценты
пигментов, жирных кислот,
фотопротекторных
соединений



Сожительства и симбиозы
ОФМ с другими
организмами



Источники соединений и
знаний о механизмах
конструирования новых
живых систем

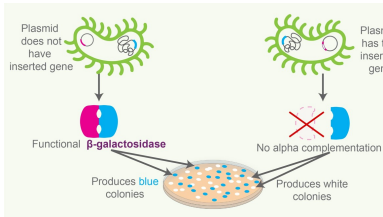
Поиск микроорганизмов в природе = изучение сообществ в условиях биостанции → расширение биоразнообразия

Сбор материала



Молекулярно-генетические методы

Клонирование

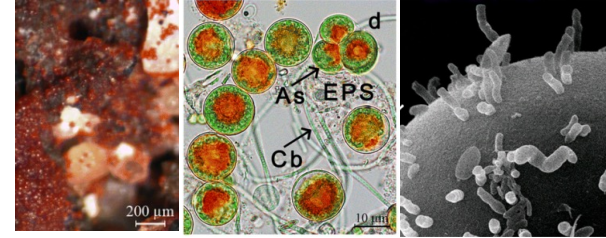


Секвенирование



Морфоструктурные методы

Световое поле



Стереомикроскопия

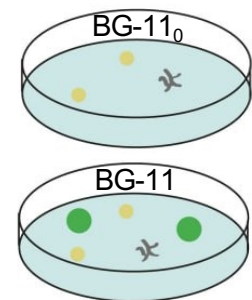
СЭМ

Физиологические методы

РАМ-флуориметрия



Микробиологические посевы

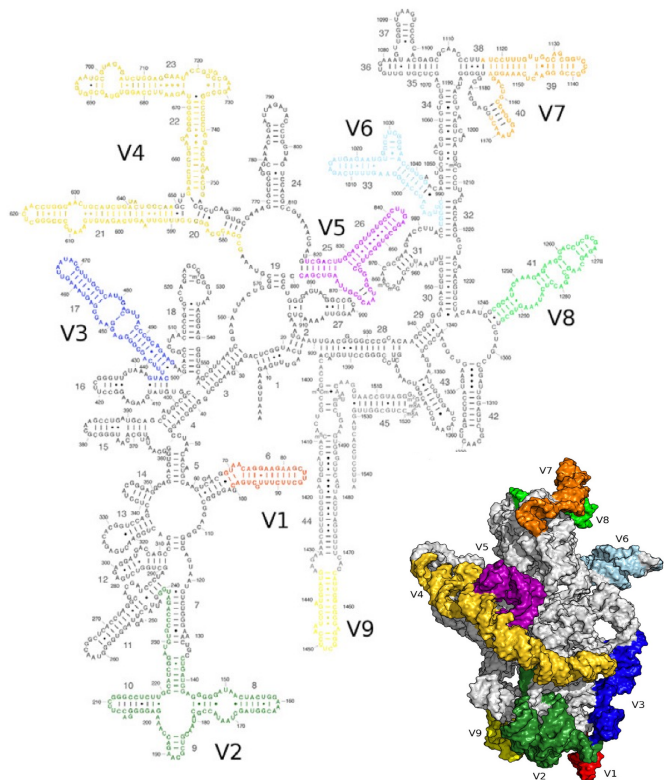


Охват проанализированных образцов ОФМ в 2022-2026 гг.

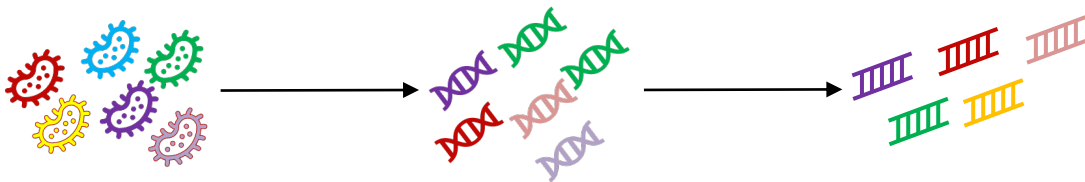


Метагеномное профилирование с использованием гена 16S рРНК

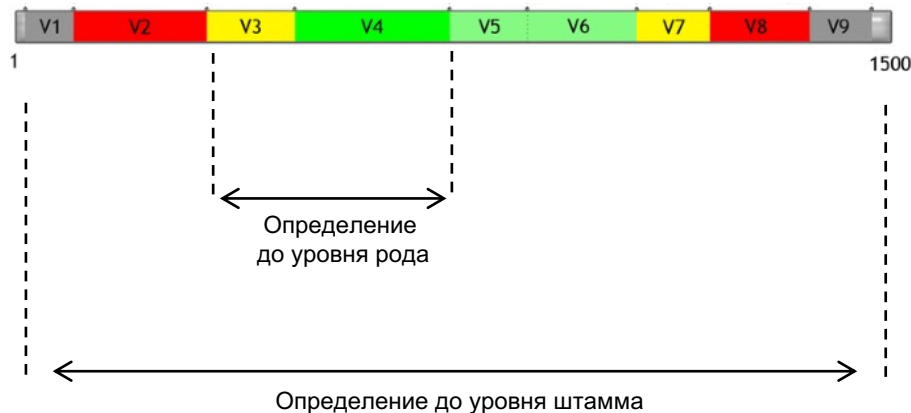
Особенности структуры 16S рРНК



Принцип профилирования сообществ по гену 16S рРНК



Ген 16S рРНК



NGS

основан на методе синтеза

- + Высокая производительность
- + Возможность делать парные чтения
- + Адаптированные алгоритмы работы с чтениями
- **Сложность пробоподготовки в полевых условиях (=> в ЦКП)**
- Короткие считываемые фрагменты (150-300 п.н.)
- Несколько этапов ПЦР



Oxford Nanopore (ONT)

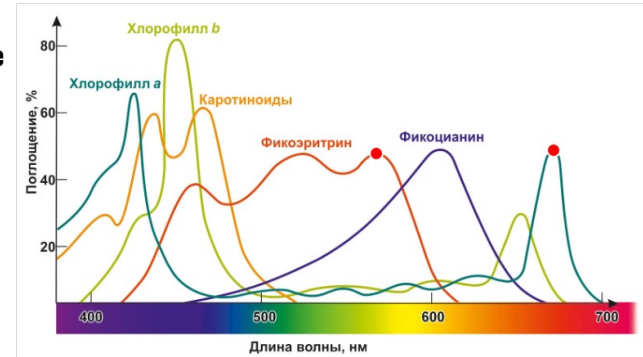
прямое считывание

- + **Секвенирование *in situ* в полевых условиях**
- + Длинные чтения ~10 тыс.п.н.
- + Нативность: эпигенетические метки и несмещённый количественный анализ
- Качество препарата ДНК
- Возникают инделы при чтении



Анализ сообществ цианобактерий в окрестностях ББС им. Н.А.Перцова

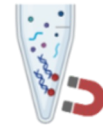
→ Мхи



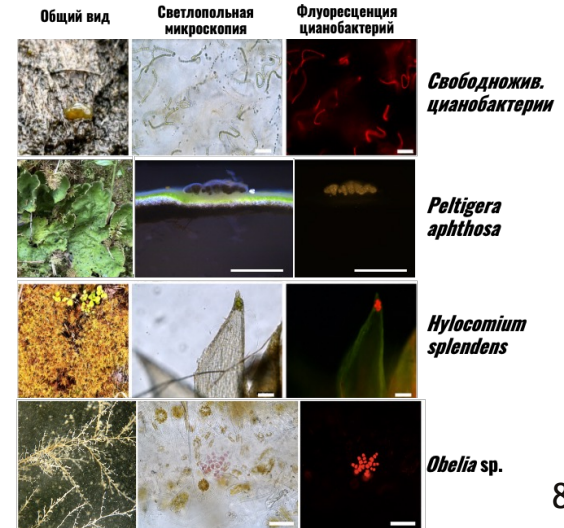
→ Трехкомпонентные лишайники



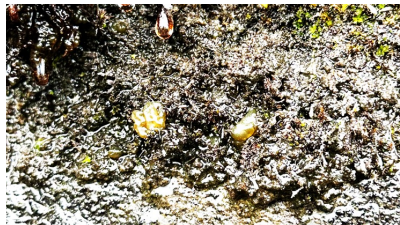
Выделение
метагеномной
ДНК/РНК



Жидкий азот
Гомогенизация
PVP30
CTAB

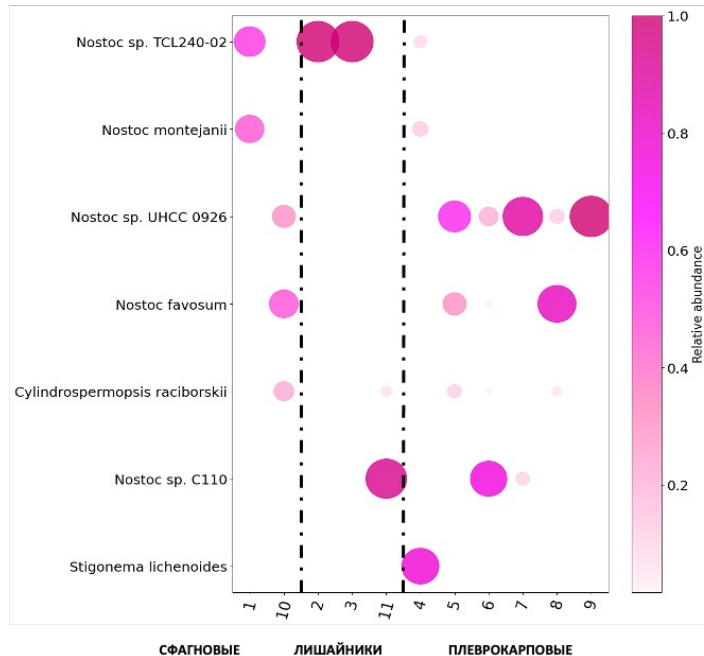


→ Колонии свободноживущих цианобактерий

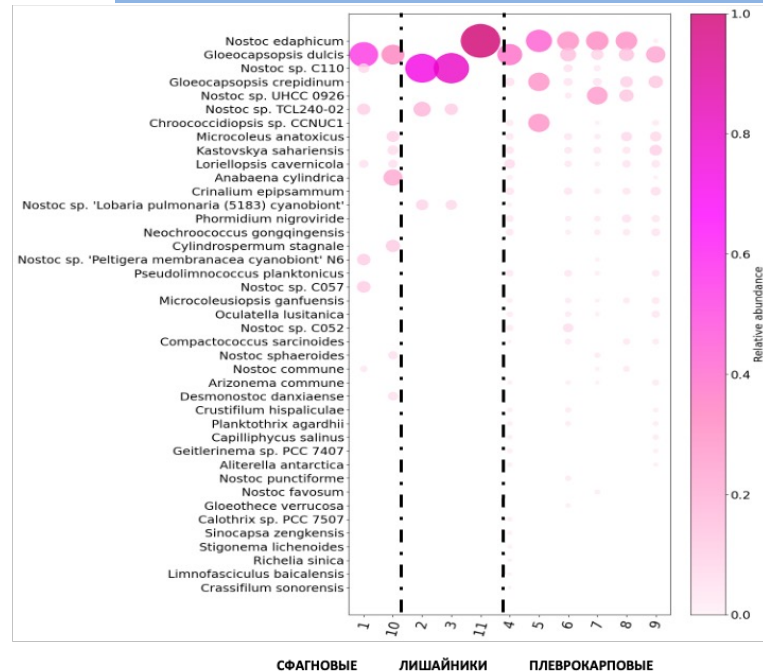


Сравнение NGS и ONT для профилирования сообществ цианобактерий

NGS (V3-V4 16S рННК): 7 видов



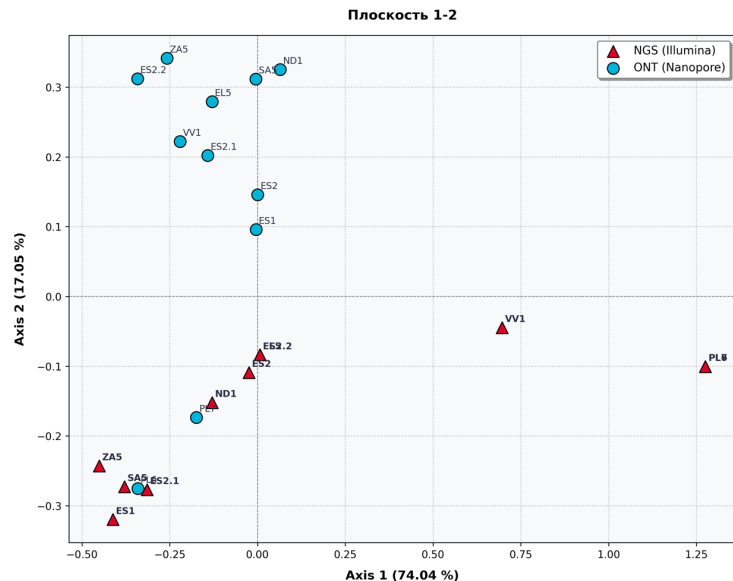
ONT (полный ген 16S рННК): 203 видов



- Профилирование на ONT позволяет глубже оценить биоразнообразие сообществ, в т.ч. обнаружить ранее не описанные в окрестностях ББС им. Н.А. Перцова виды цианобактерий.

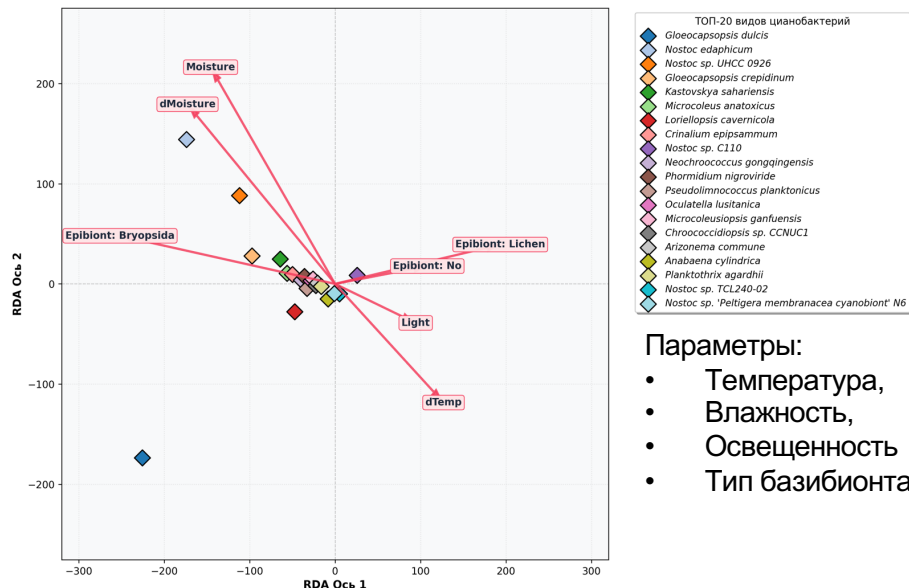
Увеличение таксономического разрешения – путь к поиску новых неописанных на ББС видов цианобактерий

PCA-сравнение NGS и ONT



- Данные ONT значительно отличаются от профилирования на NGS, т.к. свободно от ПЦР-артефактов возникающих при методе синтеза.

Анализ избыточности (RDA) микробиома по данным ONT



Параметры:

- Температура,
- Влажность,
- Освещенность
- Тип биобионта

- Глубокая оценка биоразнообразия и возможность проводить исследование *in situ*, дает возможность оценивать взаимосвязь состава сообществ с факторами среды

Практические результаты практик

- Значительно расширена коллекция ОФМ за счет найденных штаммов микроводорослей и цианобактерий с биотехнологическим потенциалом (продуценты астаксантина и β -каротина, микоспорин-подобных аминокислот, и др.);
- Выявлены новые, ранее не описанные в окрестностях ББС имени Н.А.Перцова штаммы микроводорослей и цианобактерий;
- Получена динамика биоразнообразия свободноживущих ОФМ и в сожительстве с другими эукариотическими и прокариотическими организмами за 2022–2026 гг.;
- По материалам практик публикуются статьи в научных журналах и тезисы конференций, в том числе с участием студентов.



Публикации по результатам практики

В научных журналах:

- E. S. Lobakova, A. A. Zaytseva, K. A. Shibzukhova, G. B. Butaeva, and O. A. Gorelova. Localization of cyanobacteria in cohabitations with moss *Hylocomium splendens* and lichen *Nephroma arcticum* of the karelian coast of the white sea and their phylogenetic relationship. Russian Journal of Plant Physiology, 73(1):42, 2026.
- E. S. Lobakova, A. A. Zaytseva, K. A. Shibzukhova, S. G. Vasilieva, G. B. Butaeva, and O. A. Gorelova. Cyanobacteria of moss symbioses from white sea coast: ultrastructural characteristics and taxonomic diversity. Symbiosis, 2025.
- O. V. Karpova, E. N. Vinogradova, A. M. Moisenovich, O. B. Pustovit, A. A. Ramonova, D. V. Abramochkin, and E. S. Lobakova. Functional analysis of the channelrhodopsin genes from the green algae of the white sea basin. Biochemistry (Moscow), 89(8):1392–1401, 2024.
- O. Burtseva, O. Baulina, A. Zaytseva, T. Fedorenko, K. Chekanov, and E. Lobakova. In vitro biofilm formation by bioluminescent bacteria isolated from the marine fish gut. Microbial Ecology, 2021.
- K. Chekanov, T. Федоренко, A. Kublanovskaya, D. Litvinov, and E. Lobakova. Diversity of carotenogenic microalgae in the white sea polar region. FEMS Microbiology Ecology, 96(1):fiz183, 2020.

Тезисы конференций:

- П. А. Зайцев, В. А. Родин, А. А. Зайцева, С. В. Васильченко, П. Д. Олейников, Е. М. Пивоваров, А. Е. Сидорова, М. Э. Зверева, and Е. С. Лобакова. In situ МЕТАГЕНОМИКА ДЛИННЫХ ЧТЕНИЙ ДЛЯ АНАЛИЗА СООБЩЕСТВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ БЕЛОГО МОРЯ. In Всероссийская школа-конференция Инженерия живых систем — достижения и перспективы, посвященная 25-летию кафедры биоинженерии, page 60, Москва, 2025
- Е. С. Лобакова, П. А. Зайцев, В. А. Родин, А. А. Зайцева, С. В. Васильченко, П. Д. Олейников, Е. М. Пивоваров, А. Е. Сидорова, and М. Э. Зверева. In situ МЕТАГЕНОМИКА ДЛИННЫХ ЧТЕНИЙ ДЛЯ АНАЛИЗА СООБЩЕСТВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ БЕЛОГО МОРЯ. In Пятая всероссийская молодёжная научная школа-конференция с международным участием Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах, pages 30–31, Оренбург, 2025.

Благодарности

Кафедра биоинженерии:

- Лобакова Е.С.
- Федоренко Т.А
- Шурыгин Б.М.
- Армеев Г.А.
- Магистры кафедры



Сотрудники ББС имени Н.А. Перцова:

- Ворцепнева Е.В.
- Лавров А.И.
- Большаков Ф.В.
- Грум-Гржимайло О.А.
- Неретина Т.В.



Каф. зоологии беспозвочных

- Косевич И.А.

Кафедра ХПС химического факультета МГУ:

- Зверева М.Э.
- Родин В.А.



Российский
научный фонд

НОШ МГУ

