**Материалы и протоколы для выезда на Кольский полуостров**

**Материалы, которые нужно взять с собой**

* + Насос перистальтический с набором шлангов – 1 шт
  + Фильтры Sterivex 0.2 мкм – 35 шт
  + Шприц – 10 шт (backup для насоса)
  + Зип-пакеты – 120 шт
  + Этикетки – 300 шт
  + Чашки Петри – 30 шт
  + Скальпель – 10 шт
  + Эппендорфы на 2 мл – 1 упаковка (1000 шт) – для образцов грунта и изоляции микробной фракции центрифугированием
  + Маркер – 2 шт

**Протоколы**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Стадия работы** | **Процесс** | **Оборудование и материалы** |
| Сбор и фильтрация морской воды для анализа микробиома.  **3 реплики** из каждой локации. | 1) Морскую воду (~1-5 литров) профильтровать (можно использовать перистальтический насос или шприцы с разъемом люер), используя фильтры Sterivex.  2) В максимально короткий срок после фильтрации фильтр положить в индивидуальный зип-пакет вместе с этикеткой и заморозить на -20С.  3) На этикетке указать индивидуальный номер пробы, номер локации, номер повторности.  4) Фильтрованную морскую воду можно собрать и использовать в дальнейшем для промывки беспов. | * Насос перистальтический * Морская вода 1-5 л * Фильтры Sterivex 0.2 мкм, Фальконы Шприц, зип-пакеты, этикетки |
| Сбор морской воды для физ-хим анализа.  **3 реплики** из каждой локации. | 1) Собрать морскую воду (~1.5 литра).  2) Емкость с водой надежно этикетировать и заморозить на -20С.  3) На этикетке указать индивидуальный номер пробы, номер локации, номер повторности. | * Морская вода ~1.5 л * Этикетки |
| Сбор донного грунта.  **3 реплики** из каждой локации для анализа микробиома. | 1) Образец донного грунта собрать в эппендорф (2 мл). Максимальное возможное количество грунта, помещающееся в эппендорф. Указать индивидуальный номер пробы, номер локации и номер повторности.  2) Поместить эппендорф с образцом в коробку и заморозить на -20С. | * Эппендорфы 2 мл, маркер, коробка для эппендорфов |
| Сбор донного грунта.  **3 реплики** из каждой локации для физ-хим анализа. | 1) Образец донного грунта собрать в фалькон (50 мл). Максимальное возможное количество грунта, помещающееся в фалькон. Указать индивидуальный номер пробы, номер локации и номер повторности.  2) Поместить фалькон с образцом в коробку и заморозить на -20С. | * Фальконы 50 мл, маркер, пакет для фальконов |
| Сбор мидий, определение, промывка, препарирование.  **5-15 реплик** из каждой локации. | 1) Собрать крупных мидий (достаточно крупных для препарирования кишечника).  2) Промыть от грязи и обрастателей фильтрованной морской водой.  3) Отпрепарировать кишечник, извлечь содержимое.  4) Поместить содержимое кишечника в эппендорф (2 мл). Указать индивидуальный номер пробы, номер локации, номер повторности, таксономию организма из которого был изолирован микробиом.  5) Поместить эппендорф в коробку и заморозить на -20С. | * Эппендорфы 2 мл, Чашки Петри, Скальпель, Маркер * Коробка для эппендорфов |

Суммарное расчетное количество образцов – **200**, из них:

Фильтратов воды – **30** (3 повторности \* 10 локаций)

Образцов грунта – **30** (3 повторности \* 10 локаций)

Образцов мидий – **140** (14 \* 10 локаций)

Ориентировочной количество локаций – **10** (т.е., например, 5 локаций с *M. edulus* и 5 локаций с *M. trossulus*). Количество локаций можно менять по обстоятельствам, но с каждой локации обязательны образцы грунта и воды. Для грунта и воды также будет проведен анализ микробиома для дальнейшего сравнения разнообразия с микробиомом кишечным. Количество материалов дается с запасом до 300 образцов.

Физ-хим анализ воды и грунта нужно будет провести в Питере у подрядчиков ЦМИ МГУ (через Ольгу Коновалову, тел. +7 926 903 9684).

Замороженные фильтры, образцы грунта и содержимое кишечников мидий для микробиомного анализа нужно будет отправить с температурным контролем в Москву для выделения ДНК и секвенирования.