**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки**

**Иркутский научный центр**

**Сибирского отделения Российской академии наук**

**(ИНЦ СО РАН**)

НАУЧНЫЙ ПРОЕКТ

на 2017-2020 гг.

**Применение методов NGS-BD (Next Generation Sequencing – Big Data) – для решения вопросов экологии**

**Приоритетное направление**

Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы:

Направление 4 – Научное обоснование охраны озера Байкал и социально-экономического развития Байкальской природной территории.

Интеграционная программа СО РАН

**Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей (2017-2020 гг.):**

Координатор программы: академик РАН И.В. Бычков

Руководитель направления \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_Грачёв М.А. академик, в.н.с.

Руководители проекта \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Лихошвай Е.В., Земская Т.И.

Исполнители проекта: ЛИН СО РАН, ИДСТУ СО РАН

г. Иркутск

2017 г.

|  |
| --- |
| **Ключевые слова**: четвертая парадигма, информационные технологии и системы, распределённые информационно-вычислительные ресурсы, междисциплинарные исследования, базы данных и знаний, водные экосистемы, охрана оз. Байкал, секвенирование нового поколения, микробиом, корреляционные сети. |
| Рубрикатор ГРНТИ: 20.23.21 – Информационно-поисковые системы. Базы данных, 20.23.25 – Информационные системы с базами данных, 50.05.13 – Технология программирования, 34.01.05 – Материалы, характеризующие биологию в целом и взаимосвязь ее с другими науками и областями деятельности, 34.01.11 – Современное состояние и перспективы развития биологии, 34.27.23 – Экология микроорганизмов, 34.35.25 – Биоценозы. Экосистемы, 34.35.33 – Гидробиология, 34.35.51 – Антропогенные воздействия на экосистемы |

**Аннотация проекта**

|  |
| --- |
| ***Объект исследования****:* Сообщества первичных продуцентов и бактерий, информационно-телекоммуникационные технологии и системы поддержки научных междисциплинарных исследований природопользования.  ***Приоритетные направления развития науки, технологий и техники в РФ***: Информационно-телекоммуникационные системы (3). Науки о жизни (4). Рациональное природопользование (6). |

**2. Обоснование необходимости проведения исследований (актуальность):**

|  |
| --- |
| Основой структурно-функциональной организации водных экосистем являются первичные продуценты и бактерии, они определяют биогеохимические циклы основных элементов и метаболические пути органических веществ. В настоящее время представление о полном таксономическом разнообразии одноклеточных эукариот и бактерий, генетической структуры сообществ и осуществляющихся в них метаболических процессах стало возможным получать благодаря внедрению методов секвенирования нового поколения и биоинформатических методов анализа «больших данных». Развитие программного обеспечения на основе статистики и теории сетей позволяет установить корреряционные связи между отдельными выявленными таксонами про- и эурариот, между каждым таксоном и изменяющимися факторами окружающей среды, в том числе в результате антропогенного воздействия. Этот системный подход начал внедряться в изучение морских водных экосистем с 2011 года (Karsenti et al. A Holistic Approach to Marine Eco-Systems Biology // PLoS Biol. 2011. Vol. 9. № 10. P. e1001177; Karsenti Towards an ‘Oceans Systems Biology’ // Mol. Syst. Biol. 2012. Vol. 8. P. 575) и используется в выполнении нескольких международных проектов (TARA Oceans, Global Ocean Survey, Hawaiian Ocean Time Series, Bermudan Ocean Time Series, the Long Term Ecological Research sites, NEON и расширяющийся проект the Earth Microbiome Project). Чтобы получать данные о состоянии озера Байкал и других пресноводных экосистем, необходимо строить исследования именно по такому же принципу. К настоящему времени для озера Байкал получено и проанализировано большое количество библиотек генов 16S и 18S рРНК, а также некоторых функциональных генов, позволяющих охарактеризовать разнообразие прокариотических и эукариотических сообществ и их способность осуществлять определенные биохимические процессы в водной толще и донных осадках озера Байкал. Накоплены большие массивы данных и требуется сведение их в унифицированную базу данных с удобным доступом поиска таксонов по заданным параметрам. Психрофильные байкальские микроорганизмы могут быть интересны не только для фундаментальной науки, но и для практических целей. Поэтому в настоящее время весьма актуально выделение и описание новых для науки видов микроорганизмов с необычными ферментными системами, обеспечивающих деструкцию или продуцирование разных субстратов. |

3. Цели и задачи проекта

|  |
| --- |
| **Цель проекта**. Характеристика микробиома озера Байкал методами секвенирования нового поколения и информационно-аналитических технологий для решения задач экологии.  **Задачи,обеспечивающие достижение цели**:  1. Создание технологии ИАС сбора, хранения, анализа и визуализации больших объёмов данных, получаемых в результате массового секвенирования (NGS).  2. Создание коллекции ДНК из водной толщи, донных осадков и отдельных видов для последующего использования.  3. Определение структуры метапопуляций в озере Байкал по данным анализа структур генов 16S и 18S рРНК в продуктивных зонах, на границах раздела фаз, включая места сброса стоков из очистных сооружений.  4. Выделение и описание новых видов бактерий из разных экотопов озера Байкал, перспективных для практического применения, определение их метаболического потенциала на основе анализ их геномов.  5.Апробация и отработка биоинформатических методов анализа прокариотических и эукариотических сообществ, создание унифицированной метагеномной базы данных как основы платформы «Микробиом Байкала» и решения вопросов экологии. |

**4. Основные подходы к реализации проекта**

|  |
| --- |
| **Этапы выполнения проекта:**  ***Этап 1. (2017 г.).***  1.Отработка метода выделения суммарной ДНК из разных источников (вода, донные отложения) для секвенирования ампликонов 16S (прокариоты) и 18S (эукариоты) с целью определения адекватной микроскопическим данным таксономической структуры сообществ.  2. Сбор проб воды фотического слоя из разных экотопов (не менее 100), выделение ДНК, секвенирование, таксономический анализ сообществ.  3. Отработать алгоритмы сборки и аналитические подходы последующего анализа метагеномов на примере образцов из Южного Байкала.  4. Создание базы данных на основе полученных и опубликованных последовательностей с возможностью целевого поиска по заданным таксонам или определенным параметрам среды обитания; разработка протокола доступа к ней через электронный доступ.  ***Этап 2. (2018 г.).***  1. Создание информационно-аналитической системы для визуализации распределения определенных таксонов и параметров среды.  2. Сбор проб воды фотического слоя из разных экотопов по всему Байкалу (не менее 200), выделение ДНК, секвенирование, таксономический анализ сообществ.  3. Отработать алгоритмы сборки и аналитические подходы последующего анализа метагеномов на примере образцов из Южного Байкала.  ***Этап 3. (2019 г.).***   1. Сбор проб воды осадков из разных горизонтов и локализаций (не менее 100), выделение ДНК, секвенирование, таксономический анализ сообществ. 2. Корреляционный анализ метасообществ на основе сетей взаимодействий между отдельными таксонами и определенными таксонами и факторами окружающей среды.   ***Этап 4. (2020 г.).***   1. Реконструкция полных геномов выделенных в культуры перспективных для практического применения штаммов бактерий. 2. Подготовить материалы для регистрации видов бактерий во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов (ВКМ) (г. Пущино) и немецкую коллекцию микроорганизмов и клеточных культур, г. Лейбниц, Германия (DSMZ). 3. Закончить создание унифицированной базы метагеномных данных по определенным районам озера Байкал для ее использования в фундаментальных и прикладных исследованиях и правила работы с ней. Оформить 1 свидетельство на созданную базу данных, 1 патент.   Подготовка публикаций и заключительного отчета по проекту. |

***5. Основные ожидаемые результаты реализации проекта и возможность их практического использования в Российской Федерации***

|  |
| --- |
| Будет создана материальная и методическая база и разработаны рекомендации для мониторинга водных экосистем с использованием NGS-BD. В результате выполнения проекта будут охарактеризованы сообщества первичных продуцентов и бактерий в различных экотопах, включая фотический слой, донные осадки и месста антропогенной нагрузки. Будут выделены в культуры штаммы бактерий, перспективные для практического использования и будет проведена их патентная оценка. Полученные в ходе выполнения результаты будут опубликованы в рецензируемых российских и зарубежных журналах (не менее 20 статей). |

***6. Имеющаяся материально-техническая база, ее соответствие поставленным задачам, использование приборов ЦКП и необходимость дополнительной закупки специализированного оборудования.***

Программно-аппаратный компонент ИДСТУ СО РАН. Мощность существующей инфраструктуры в значительной мере соответствует поставленным задачам. В процессе реализации проекта потребуется увеличение ресурса сети хранения данных. ЦКП «Электронная микроскопия» со всем необходимым для выполнения проекта оборудованием. Требуется приобретение кельвинатора на -800С для хранения образцов ДНК (ок. 700 тыс. руб.) и алмазного ножа для получения ультратонких срезов анализируемых образцов (ок. 460 тыс. руб.).

7. ***Качественный и количественный состав предполагаемых исполнителей.***

Всего 24 сотрудника, из них докторов наук – 2 и кандидатов наук ***–*** 18

***8. Руководитель направления, перечень его важнейших работ за последние 5 лет. -*** Грачёв М.А., академик, г.х.н. специалист в области биоорганической химии, физико-химической биологии. Грачёв М.А. автор 19 и соавтор 231 научных работ, в т.ч. пяти монографий (одна авторская), имеет 3 патента на изобретения.

***Перечень важнейших работ, опубликованных за последние с 2013 по 2016г:***

1. Annenkov V.V., Basharina T.N. Danilovtseva E.N. and Grachev M.A. Putative silicon transport vesicles in the cytoplasm of the diatom *Synedra acus* during surge uptake of silicon. // Protoplasma . 2013; 250:1147–1155.
2. Likhoshvay A., Khanaeva T., Gorshkov A., Zemskaya T., Grachev M. Do oil-degrading Rhodococci contribute to the genesis of deep water bitumen mounds in Lake Baikal? // Geomicrobiology Journal. 2013; 3(30):209-213.
3. Петрова Д.П., Хабудаев К.В., Марченков А.М., Галачьянц Ю.П., Калюжная Ол.В., Захарова Ю.Р., Лихошвай Е.В., академик Грачев М.А. Аквапоринподобный белок диатомеи Synedra Acus. // ДАН. 2013; 448(2):1-4.
4. Khabudaev K.V., Petrova D.P., Grachev M.A., Likhoshway Ye.V. A new subfamily LIP of the major intrinsic proteins. // BMC Genomics. 2014; 15(173):1-7.
5. Kudryavtsev A.S., Makas A.L., Troshkov M.L., Grachev M.А. Pod'yachev S.P. The method for on-site determination of trace concentrations of methyl mercaptan and dimethyl sulfide in air using a mobile mass spectrometer with atmospheric pressure chemical ionization, combined with a fast enrichment/separation system. // Talanta. 2014; 123:140-145.
6. Likhoshvay A., Lomakina A., Grachev M. The complete alk sequences of Rhodococcus erythropolis from Lake Baikal. // Springer Plus a SpringerOpen Journal. 2014; 3(621):1-5.
7. Хлыстов О.М., Нишио Ш., Манаков А.Ю., Сугияма Х., Хабуев А.В., Белоусов О.В., Грачев М.А. Опыт картирования кровли приповерхностных газовых гидратов озера Байкал и извлечение газа из них. // Геология и геофизика. 2014; 55(9):1415-1425.
8. Галачьянц Ю.П., Захарова Ю.Р., Петрова Д.П., Морозов А.А., Сидоров И.А., Марченков А.М., Логачева М.Д., Маркелов М.Л., Хабудаев К.В., Лихошвай Е.В., академик РАН Грачев М.А. Определение нуклеотидной последовательности полного генома бесшовной пеннатной диатомеи *Synedra acus subsp. Radians* из озера Байкал. // ДАН. 2015; 461(3):348-352.
9. Грачев М.А. Что грозит Байкалу? // В Мире науки. 2015; (1):4-15.
10. Михайлов И.С., Захарова Ю.Р., Галачьянц Ю.П., Усольцева М.В., Петрова Д.П., Сакирко М.В., Лихошвай Е.В., академик РАН Грачев М.А. Об однородности таксономического состава бактериальных сообществ фотического слоя трех котловин озера Байкал, различающихся по составу и обилию весеннего фитопланктона. // ДАН. 2015; 465(5):620-626.
11. Ханаев И. В., Дзюба Е.В., Кравцова Л.С., академик РАН Грачев М.А. Влияние массового развития зеленых нитчатых водорослей на воспроизводство желтокрылки *Cottocomephorus grewingkii* (Dybowski, 1874) (Cottidae) в условиях экологического кризиса озера Байкал. // ДАН. 2016; 467(1):119-121.
12. Грачев М.А. "Авоська и авось" Экологический кризис на Байкале: загадка века. // Наука из первых рук. 2016; 68(2):6-19.
13. Fedorova G.A., Korneva E. S., Belikova A.S., and Grachev M.A. Identifying N-terminal peptides by a combination of the edman procedures with a bromine isotope tag: Application to the silicateins // Protein Science. - 2016. - V.25, № 12. - P. 2277-2281.
14. Марченков А.М., Бондарь А.А., Петрова Д.П., Хабудаев К.В., Галачьянц Ю.П., Захарова Ю.Р., Волокитина Н.А., академик РАН Грачёв М.А. Необычная конфигурация генов белка транспорта кремния у пресноводной пеннатной диатомеи *Synedra acus* subsp. *radians* // ДАН. - 2016.- Т. 471, №2. - С. 238-240.

**Руководители проекта, перечень их важнейших работ 2013-2016.**

Лихошвай Е.В. – зав. отд. Ультраструктуры клетки ЛИН СО РАН

1. Генкал С. И., Поповская Г. И., Осипов Э. Ю., Онищук Н. А., Лихошвай Е. В. Диатомовые водоросли (Bacillariophyta) высокогорных водоемов Баргузинского хребта. // Биология внутренних вод. 2013; (3):4-8.
2. Zakharova Yu. R., Kurilkina M. I., Likhoshvay A. V., Shishlyannikov S. M., Kalyuzhnaya O. V., Petrova D.P., Likhoshway E. V. Effect of Bacteria from the Bottom Water Layer of Lake Baikal on Degradation of Diatoms. // Paleontological Journal (Палеонтологический журнал). 2013; 47(9):1030-1034.
3. Morozov A.A., Galachyants Yu. P., Likhoshway Ye. V. Inferring Phylogenetic Networks from Gene Order Data. // BioMed Research International (J. of Biomedicine and Biotechnology). 2013; Article ID 503193. 2013:1-7.
4. Zakharova Yu.R., Galachyants Yu. P., Kurilkina M. I., Likhoshvay A. V., Petrova D. P., Shishlyannikov S. M., Ravin N. V., Mardanov A. V., Beletsky A. B., Likhoshway Ye. V. The Structure of Microbial Community and Degradation of Diatoms in the Deep Near-Bottom Layer of Lake Baikal. // Plos One. 2013; 8(4):1-12.
5. Bessudova A.Yu., Sorokovikova L.M., Firsova A.D., Kuzmina A.Ye., Tomberg I.V., Likhoshway Ye.V. Changes in phytoplankton community composition along a salinity gradient from the lower Yenisei River to the Kara Sea, Russia // Botanica Marina. - 2014. - V. 57, № 3. - P. 225-239.
6. Khabudaev K.V., Petrova D.P. Grachev M.A. Likhoshway Ye.V. A new subfamily LIP of the major intrinsic proteins //BMC Genomics. - 2014. - V. 15. - P. 173.
7. Bashenkhaeva M.V., Zakharova Yu.R., Petrova D.P., Khanaev I.V., GalachyantsYu.P., Likhoshway Ye.V. Sub-ice Microalgal and Bacterial Communities in Freshwater Lake Baikal, Russia // Microb.Ecol. - 2015. - V. 70, № 3. -P. 751-765
8. Firsova A.D., Bessudova A.Yu., Sorokovikova L.M., Tomberg I.V., Likhoshway Ye.V. The Diversity of Chrysophycean Algae in an Arctic Zone of River and Sea Water Mixing, Russia // American Journal of Plant Sciences. - 2015, №6. - P. 2439-2452.
9. Kharitonenko K.V., Bedoshvili Ye.D., Likhoshway Ye.V. Changes in the micro- and nanostructure of siliceous frustule valves in the diatom Synedra acus under the effect of colchicine treatment at different stages of the cell cycle // Journal of Structural Biology. - 2015, № 190. - P. 73-80.
10. Naumova E.Yu., Zaidykov I.Yu., Tauson V.L.,Likhoshway Ye.V. Features of the Fine Structure and Si Content of the Mandibular Gnathobase of Four Freshwater Species of *Epischura* (Copepoda: Calanoida) // Journal of Crustacean Biology. - 2015. - V. 35, № 6.- P. 741-746
11. Галачьянц Ю.П., Захарова Ю.Р., Петрова Д.П., Морозов А.А., Сидоров И.А., Марченков А.М., Логачева М.Д., Маркелов М.Л., Хабудаев К.В., Лихошвай Е. В. академик РАН Грачев М. А. Определение нуклеотидной последовательности полного генома бесшовной пеннатной диатомеи *Synedra acus subsp. Radians* из озера Байкал // ДАН. - 2015. - Т. 461, №3. - С. 348-352.
12. Михайлов И.С., Захарова Ю.Р, Галачьянц Ю.П., Усольцева М.В., Петрова Д.П., Сакирко М.В., Лихошвай Е.В., академик РАН Грачев М.А. Об однородности таксономического состава бактериальных сообществ фотического слоя трех котловин озера Байкал, различающихся по составу и обилию весеннего фитопланктона // ДАН. -2015. -Т.465, № 5.- С. 1-7.
13. Popovskaya G.I., Genkal S.I., Likhoshway Ye.V. Diatoms of the Plankton of lake Baikal. Atlas and Key. Trifonova I.S., Grawford R.M. ed. - Novosibirsk: Nauka. - 2016. - 180 р.
14. Бессудова А.Ю., Фирсова А.Д., Сороковикова Л.М., Томберг И.В. Чешуйчатые золотистые водоросли бассейна Нижнего Енисея и заливов Карского моря с элементами аутэкологии. Под ред. Лихошвай Е.В. - Иркутск: изд-во Ин-та Географии им. В.Б. Сочавы СО РАН. - 2016. -110с.
15. Kurilkina M.I., Zakharova Yu.R., Galachyants Yu.P., Petrova D.P., Bukin Yu.S., Domysheva V.M., Blinov V.V., Likhoshway Ye.V. Bacterial community composition in the water column of the deepest freshwater Lake Baikal as determined by next-generation sequencing // FEMS Microbiology Ecology Advance. - 2016. - V. 92, № 7. - P.1-19.
16. Morozov A.A., Likhoshway Ye.V. Evolutionary history of the chitin synthases of eukaryotes // Glycobiology. - 2016. - V. 26, № 6. - P. 635-639.

Земская Т.И. зав. лаб. Микробиологии углеводородов ЛИН СО РАН

1. Kadnikov, V. V.; Lomakina, A. V.; Likhoshvai, A. V.; et al. [Composition of the microbial communities of bituminous constructions at natural oil seeps at the bottom of Lake Baikal](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=S2Sj3oAKsnzFyyqkSef&page=1&doc=1). 2013. Microbiology. 82(3):373-382.
2. Likhoshvay A., Khanaeva T., Gorshkov A., Tamara Zemskaya T., Grachev M. Do oil-degrading Rhodococci contribute to the genesis of deep water bitumen mounds in Lake Baikal?. 2013.Geomicrobiology Journal 30(3):209-213.
3. Pimenov N.V., Kalmychkov G.V., Veryasov M.B., Sigalevich P.A., Zemskaya T.I. Microbial Oxidation of Methane in the Sediments of Central and Southern Baikal // Microbiology; 2014; 83(6):773-781. DOI: 10.1134/S0026261714060149
4. Ломакина А. В. , Погодаева Т. В. , Морозов И. В. , Земская Т. И. Микробные сообщества зоны разгрузки газонефтесодержащих флюидов ультрапресного озера Байкал. 2014. Микробиология. 83(3):355-365.
5. Земская Т.И., Ситникова Т.Я., Хлыстов О.М. Исследование глубинных зон Байкала // Вестник Российской Академии наук; 2014; 84(6):500-505. DOI: 10.1134/S1019331614030125
6. Ситникова Т.Я., Земская Т.И., Черницына С.М., Лихошвай А.В., Клименков И.В., Наумова Т.В. Структура биоценозов битумных построек глубоководной зоны оз. Байкал // Экология; 2015; (3):229-236 DOI: 10.7868/S0367059715030117
7. Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Shubenkova O.V., Pogodaeva T.V., Morozov I.V., Chernitsina S.M., Sitnikova T.Ya., Khlystov O.M., Egorov A.V. Jelly-like Microbial Mats over Subsurface Fields of Gas Hydrates at the St.Petersburg Methane Seep (Central Baikal) // Geomicrobiology Journal; 2015; 32(1):89-100. DOI: 10.1080/01400451.2014.910572
8. Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Mamaeva E.V., Zakharenko A.S., Pogodaeva T.V., Petrova D.P., Galachyants Yu.P. Bacterial communities in sediments of Lake Baikal from areas with oil and gas discharge // Aquatic Microbial Ecology; 2015; 76:95-109 DOI: 10.3354/ame01773
9. Захаренко А.С., Пименов Н.В., Иванов М.Г., Земская Т.И. Окисление метана в водной толще районов газо-и нефтепроявлений Среднего и Южного Байкала // Микробиология. - 2015. - Т. 84, №1. - С. 98-106.
10. Pavlova O.N., Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Shubenkova O.V., Manakov A.Y., Moskvin V.I., Morozov I.V., Bukin S.V., Khlystov O.M. Transformation of Organic Matter by Microbial Community in Sediments of Lake Baikal under Experimental Thermobaric Conditions of Protocatagenesis // Geomicrobiology Journal; 2016; 33(7):599-606. DOI 10.1080/01490451.2015.1069910
11. Bukin S.V., Pavlova O.N., Manako, A.Y., Kostreva E.A., Chernitsyna S.M., Mamaeva E.V., Pogodaeva T.V., Zemskaya T.I. The Ability of Microbial Community of lake Baikal Bottom Sediments Associated with Gas Discharge to Carry out the Transformation of Organic Matter under Thermobaric Conditions // Frontiers in Microbiology; 2016; 7(690):1-18 DOI: 10.3389/fmicb.2016.00690
12. Черницына С.М., Хальзов И.А., Ханаева Т.А., Морозов И.В., Клименков И.В., Пименов Н.В., Земская Т.И.  Микробное сообщество, ассоциированное с чехлами *Thioploca* sp., обитающей в районе метанового сипа Посольская Банка, Южный Байкал // Микробиология. 2016. Т. 85 № 5. С. 522-530. // Микробиология; 2016; 85(5):522-530.

**Предполагаемые объёмы финансирования на первый год (2017 г.)**

|  |  |
| --- | --- |
| Статья расходов | Сумма,  тыс. руб. |
|
| Заработная плата с начислениями (по фактическому расчёту) | **2000** |
| Приобретение предметов снабжения и расходных материалов (~16%) | **800** |
| Спецоборудование для научных (экспериментальных) работ (~26%) | **1300** |
| Транспортные расходы (~3%) | **150** |
| Всего планируемых прямых затрат | **4250** |
| Прочие работы и услуги (затраты, непосредственно связанные с выполнением проекта) **15 % от общей суммы по проекту** | **750** |
| Итого затрат | **5000** |

На 2018г. – 5 млн руб., на 2019 г. - 5 млн руб., на 2020 г. - 5 млн руб.