

Метабаркодинг в экологических исследованиях

ЦКП “Геномика” , ИХБФМ СО РАН

рук. ЦКП, к.б.н. Кабилов Марсель Расимович
Новосибирск, 7 апреля



Экология/Таксономия

Экология изучает взаимодействие живых организмов между собой и с их средой обитания. Но изучение таких взаимодействий, как правило, начинается с идентификации участников биома и понимания их таксономического положения.

Карл Линней, 1735 г., *Systema Naturae*



Первоначально в основе систематики живого лежало использование фенотипических признаков.

Конвергентная эволюция

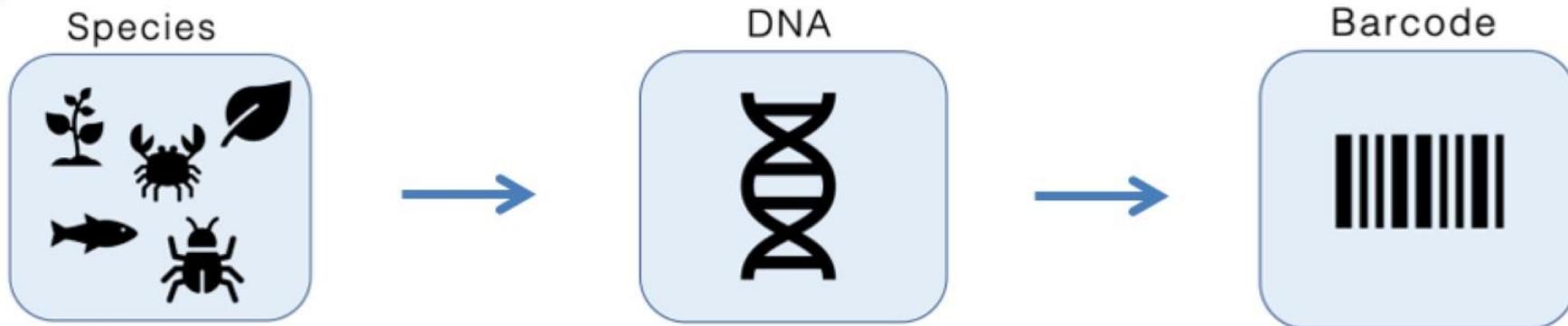


Однако, выяснилось, что близкие фенотипы могут реализоваться у эволюционно далеких друг от друга таксонов в результате конвергентной эволюции.

Выходом стал переход от фенотипа к генотипу



ДНК-баркодинг



Species name

sp. 1	[DNA barcode]
sp. 2	[DNA barcode]
sp. 3	[DNA barcode]
sp. 4	[DNA barcode]
sp. 5	[DNA barcode]
sp. 6	[DNA barcode]
sp. 7	[DNA barcode]
sp. 8	[DNA barcode]
sp. 9	[DNA barcode]

База данных по ДНК-баркодам



Примеры использования ДНК-баркодинга

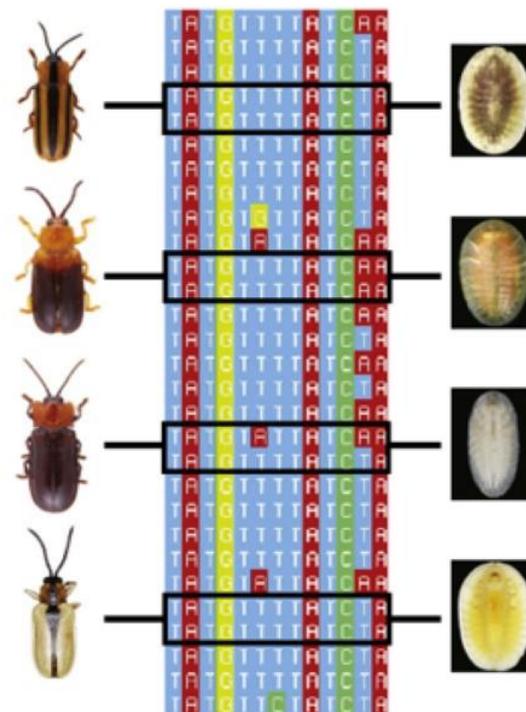
Скрытое разнообразие



Lepidoptera: Hesperidae

Для бабочки вида *Astraptes fulgerator*, выделенного по морфологическим признакам, баркодинг показал наличие 10 различных видов.

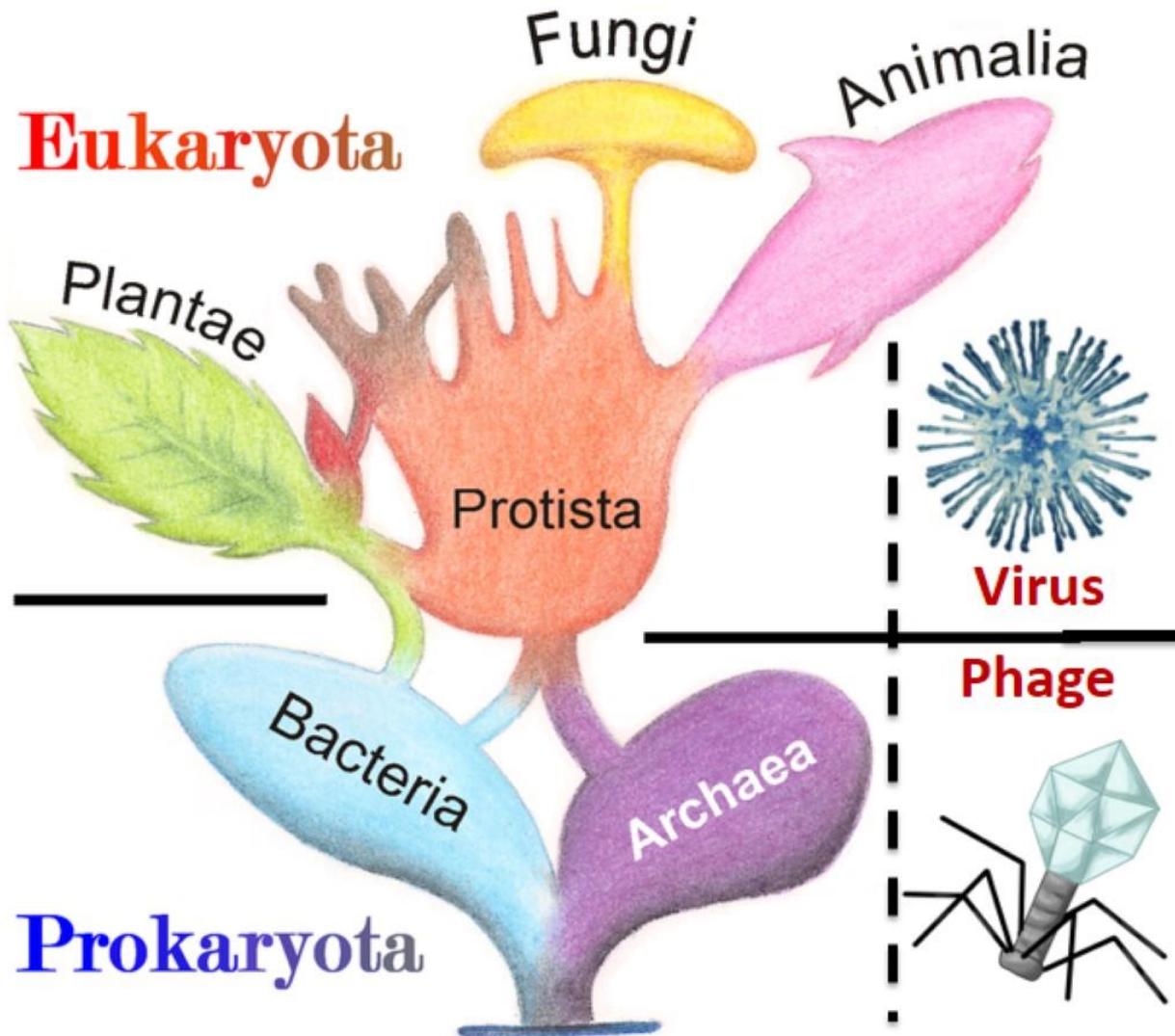
Изучение жизненного цикла



Баркодинг взрослых особей позволяет проводить идентификацию на стадии личинки или яйца, на которых морфологические отличия минимальны.



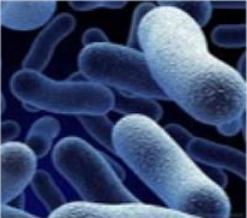
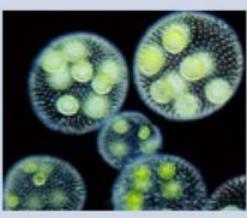
Древо жизни



Данные ДНК-баркодинга позволили построить современное эволюционное дерево



Маркеры для ДНК-баркодинга

Тип		Маркеры	База данных
Грибы		ITS	UNITE / RDP Warcup
Наземные растения		rbcl ITS	NCBI UNITE
Прокариоты		16S rRNA	RDP / SILVA
Животные		COI	MIDORI- UNIQUE
Микро-водоросли		18S rRNA	SILVA

Идеальный
маркер высоко-
консервативен
внутри
популяции
одного вида
при
значительных
межвидовых
отличиях



Макрообъекты

Вирусы

Прокариоты

Эукариоты

Одноклеточные

Многokлеточные

Крупные
многokлеточные

Стандартный ДНК-баркодинг используется для изучения крупных многоклеточных грибов/животных/растений.

Однако, он не всегда применим к вирусам, одноклеточным и мелким многоклеточным организмам.





Микрообъекты

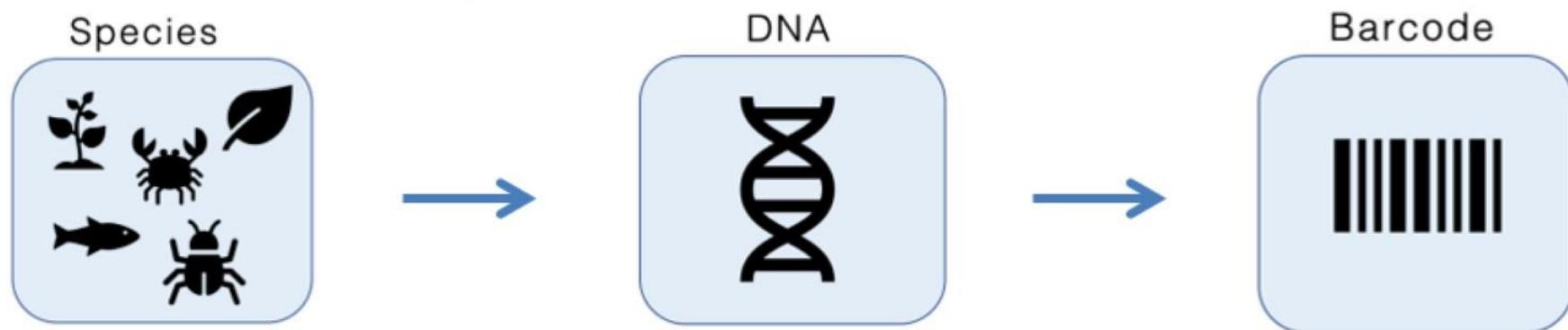


Одним из выходов может являться культивирование микроорганизма, однако далеко не всё растет в искусственных условиях. Если же наработать биомассу удалось, то применяется стандартный ДНК-баркодинг



Метабаркодинг

Подход предполагает выделение тотальной ДНК из всего образца и секвенирование маркерного гена для всех видов одновременно. Метабаркодинг не возможен без предварительного этапа создания базы данных по анализам индивидуальных организмов.



Метабаркодинг – идентификация по одному маркерному гену.

Метагеномика – идентификация/анализ всех генов.

Для одноклеточных чаще используется термин **16S/ITS** **метагеномика**, для многоклеточных **метабаркодинг**.



Приборный парк ЦКП "Геномика"

ABI 3130xl



Капиллярные
секвенаторы



ДНК-баркодинг

MiSeq



Геномные
секвенаторы



Метабаркодинг
(длина vs качество)

MinIon





География контактов ЦКП

Более 15 городов России и других стран

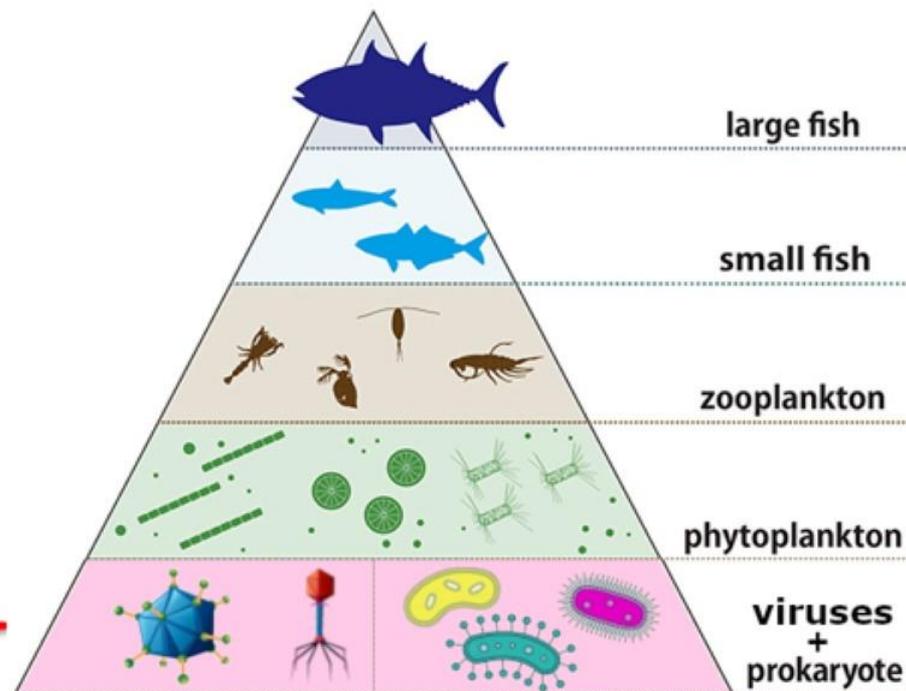
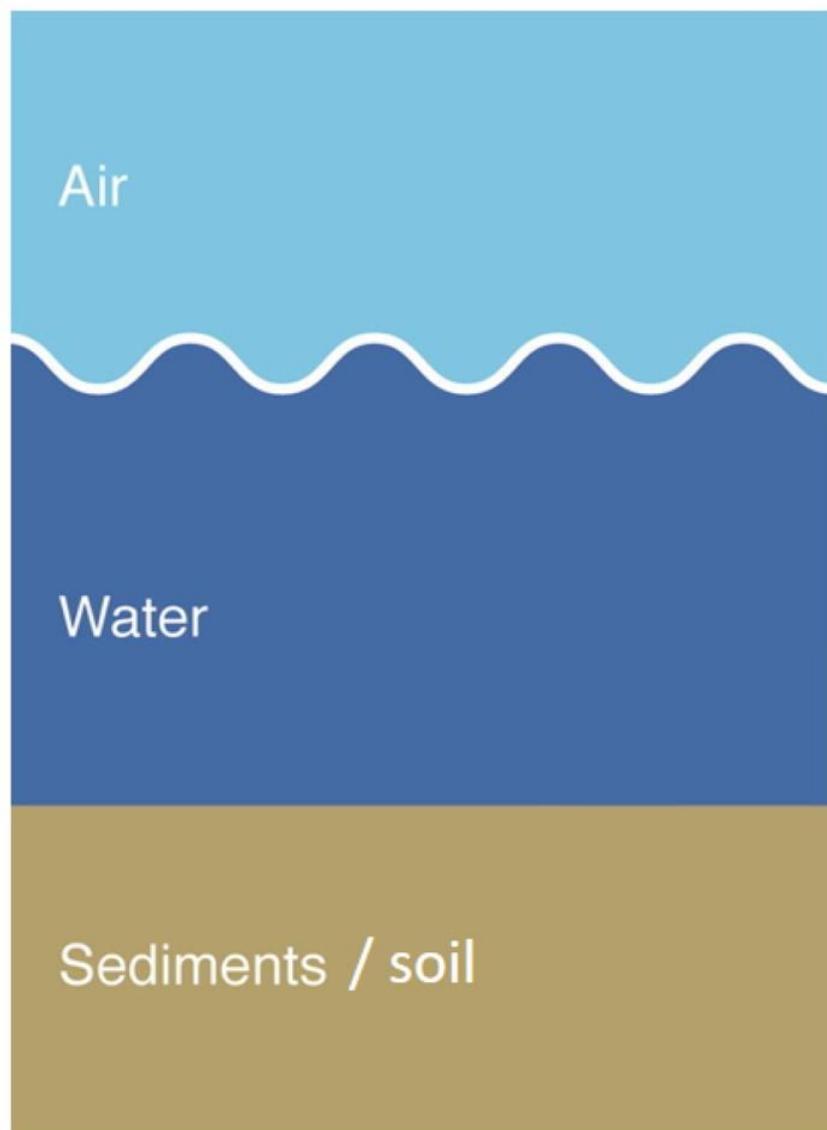


- Новосибирск
- Москва
- С.- Петербург
- Казань
- Томск
- Красноярск
- Иркутск
- Улан-Уде
- Чита
- Якутск
- Хабаровск
- Владивосток
- Сингапур
- Астана

Более 15 городов России и других стран



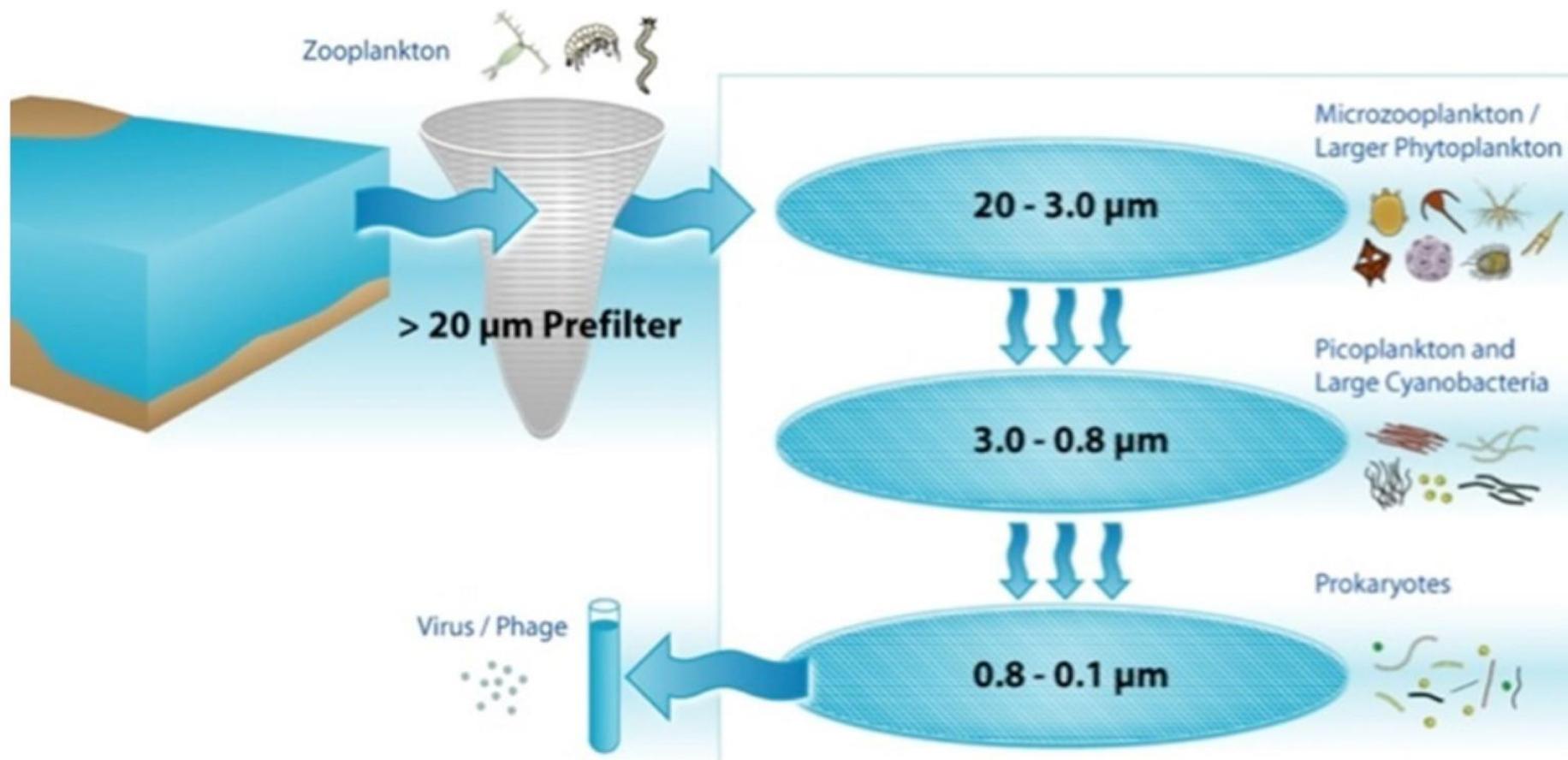
Водные экосистемы



При исследовании биоразнообразия в водных биомах, в зависимости от поставленных задач, как правило, требуется проведение поэтапной фильтрации

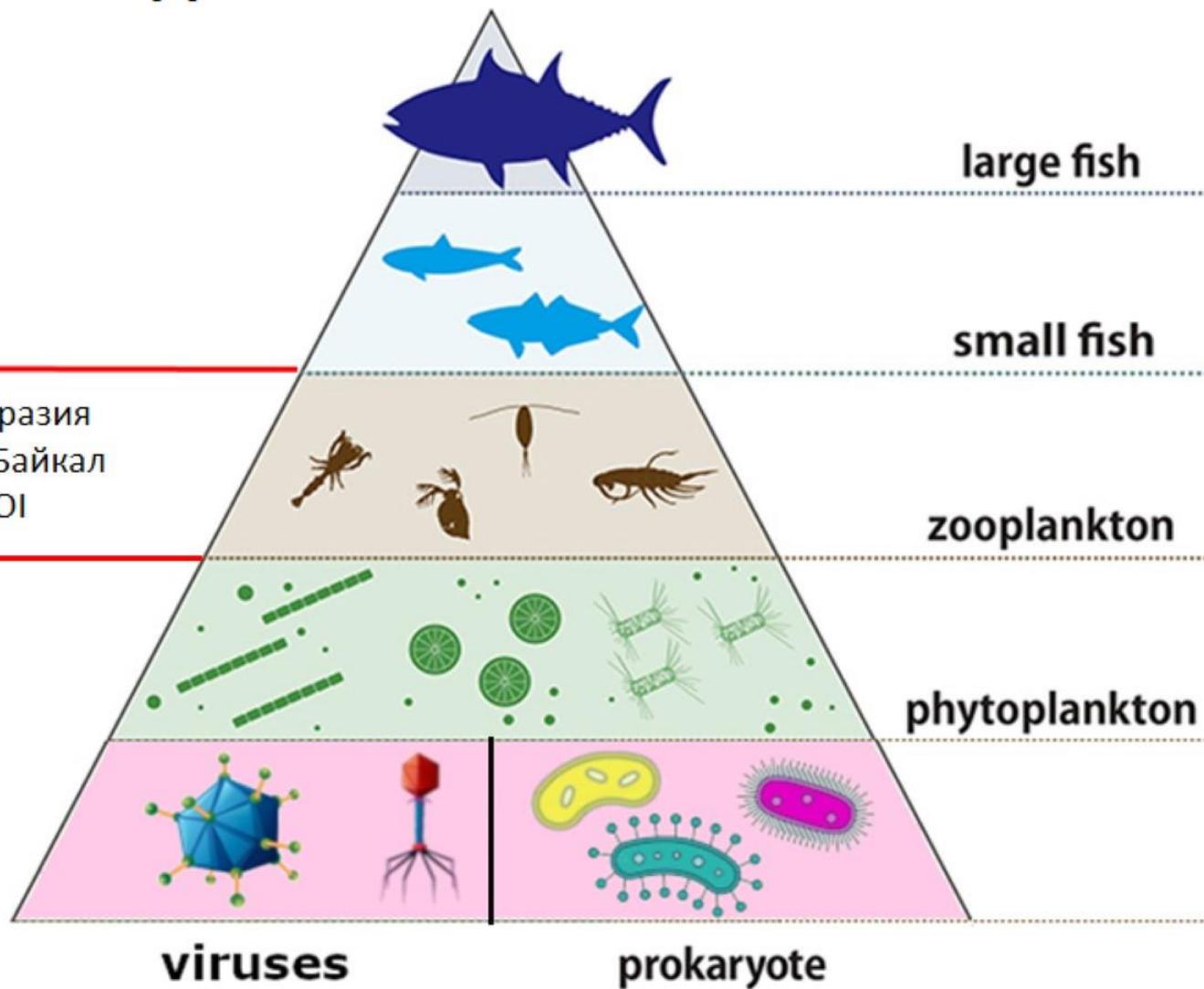


Водные экосистемы





Водные экосистемы



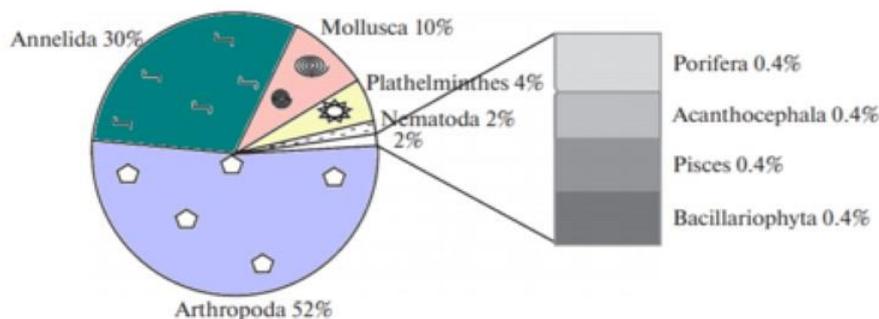
Исследование разнообразия
макробентоса в озере Байкал
метабаркодингом по COI



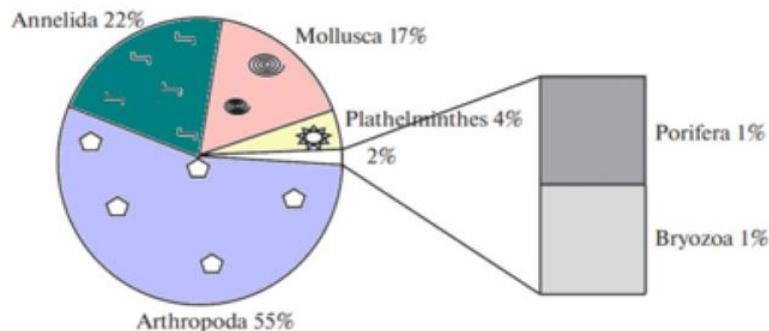
Биоразнообразие гидробионтов по COI

Лиственничный залив оз. Байкал (совместно с **ЛИН СО РАН** и **Байкальским музеем**)

Метабаркодинг



Результаты метабаркодинга
согласуются с анализом
биоразнообразия, проведенным
классическими методами

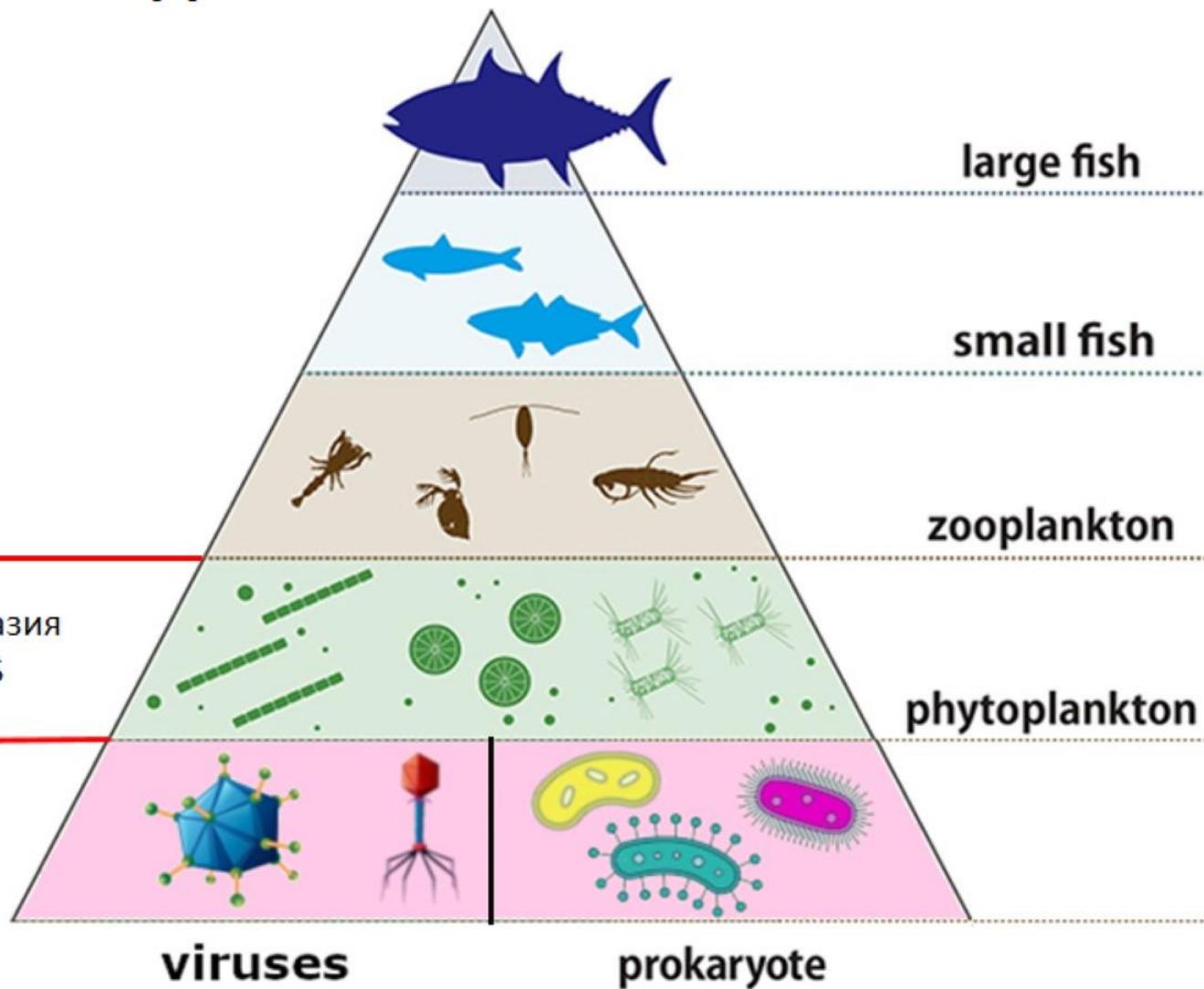


Классические морфологические методы

Кравцова Л.С., Перетолчина Т.Е., Трибой Т.И., Небесных И.А., Купчинский А.Б., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р. Исследование разнообразия гидробионтов лиственничного залива озера Байкал с использованием ДНК-метабаркодинга // Генетика, 2021, Т. 57, № 4, С. 445-453, <https://doi.org/10.31857/S0016675821040056>



Водные экосистемы

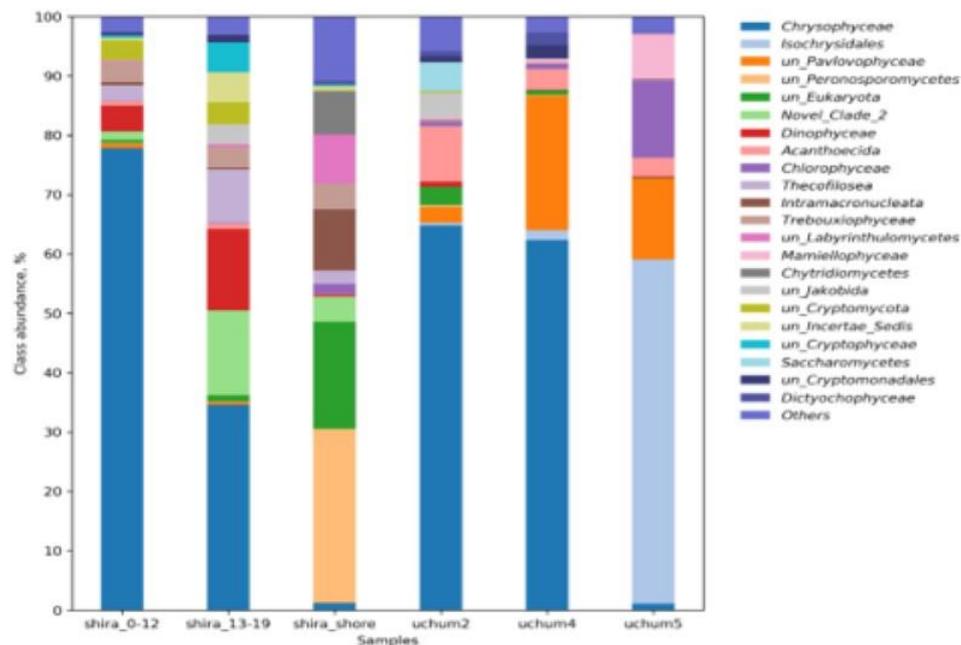


Исследование разнообразия
микроводорослей по 18S



Биоразнообразие фитопланктона по 18S

Соленые меромиктические озера Северо-Минусинской котловины
(совместно с ИБФ СО РАН, СФУ, ИГМ СО РАН)

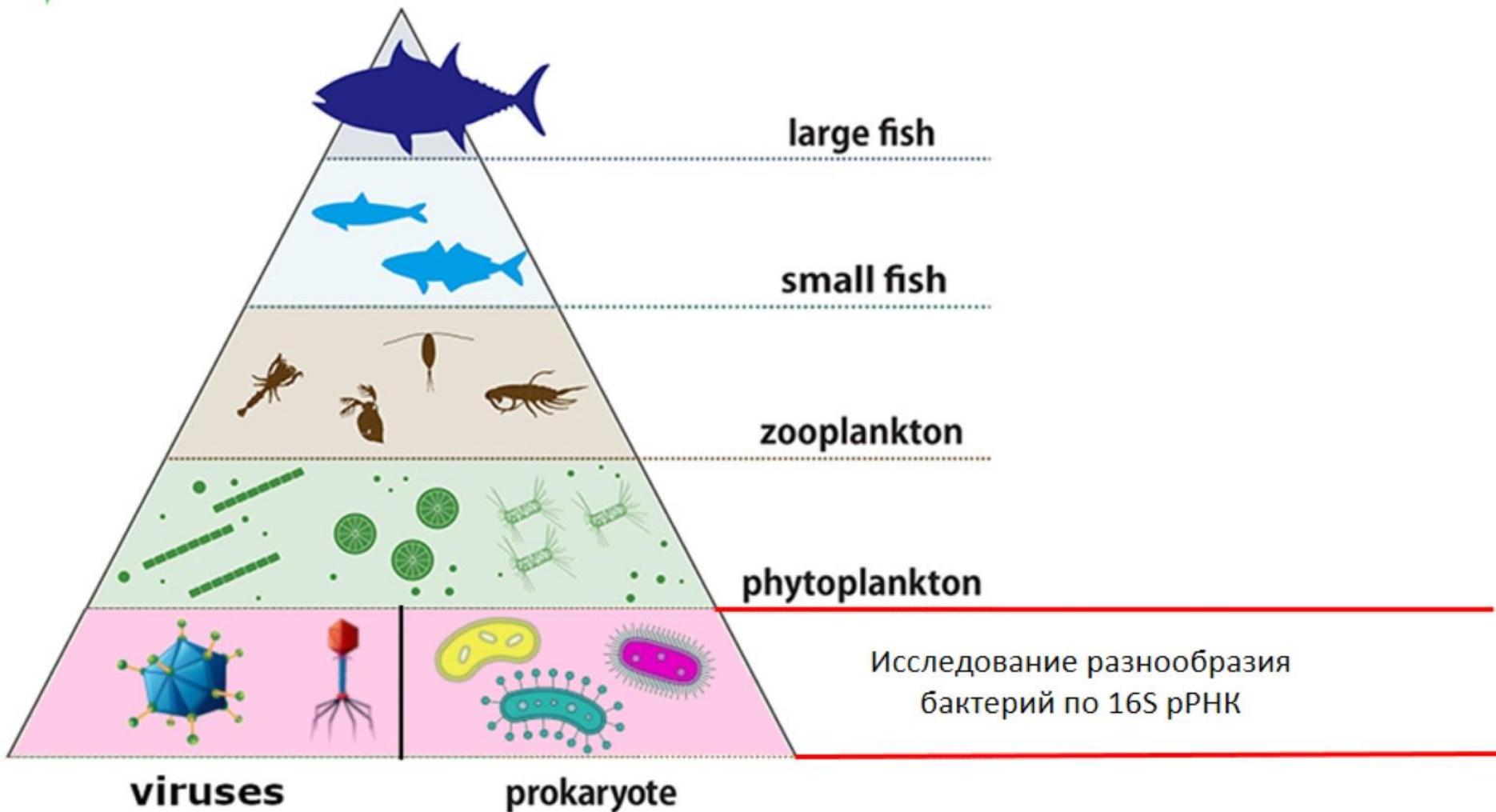


Несмотря на то, что основной целью данной работы были поиск гаптофитовых водорослей (*Isochrysidales*), общее разнообразие также было оценено.

Рогозин Д.Ю., Бульхин А.О., Зыков В.В., Иванова Е.А., Дарьин А.В., Калугин И.А., Батурина О.А., Кабилов М.Р. Длинноцепочечные алкеноны в соленых меромиктических озерах Северо-Минусинской котловины (юг Сибири): первые сведения и возможная связь с динамикой уровня. Сибирский экологический журнал. 2020 № 6. с. 768-782



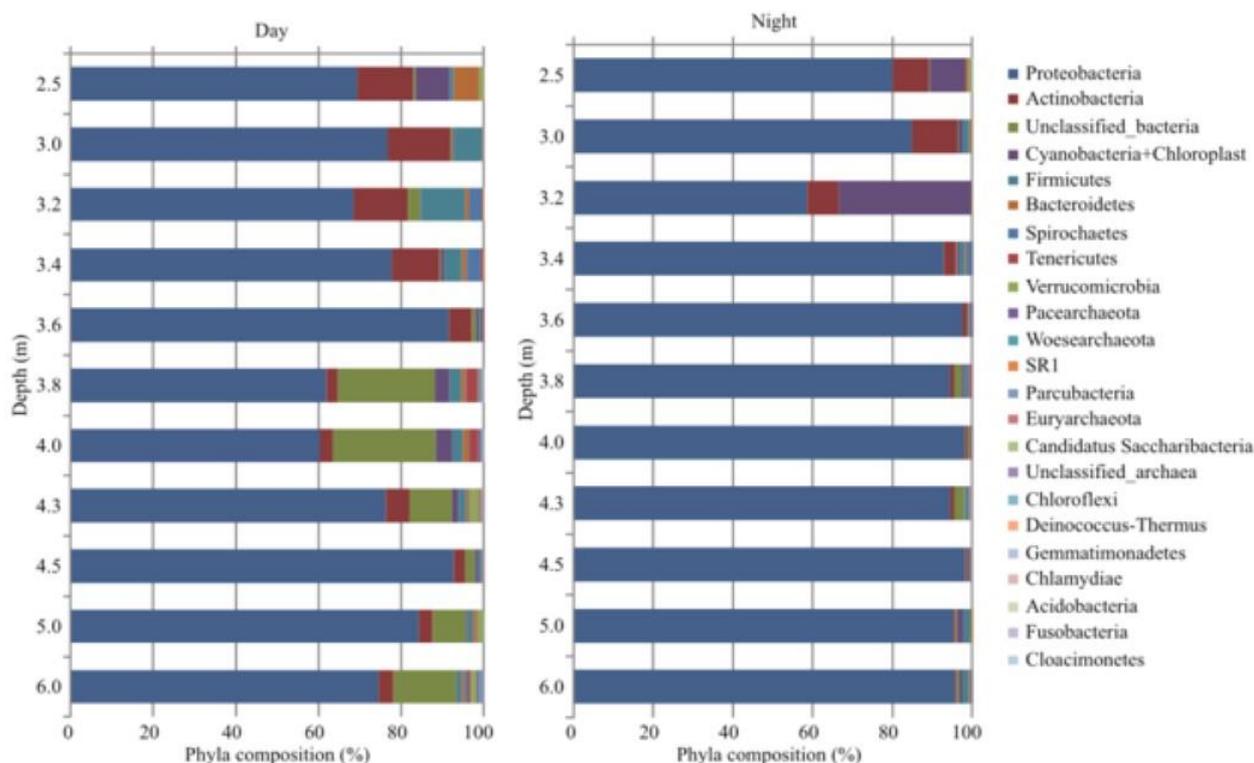
Водные экосистемы





Бактериальное разнообразие по 16S

Содовое меромиктическое озеро Доронинское
(совместно с ИПРЭК СО РАН, ЛИИ СО РАН)

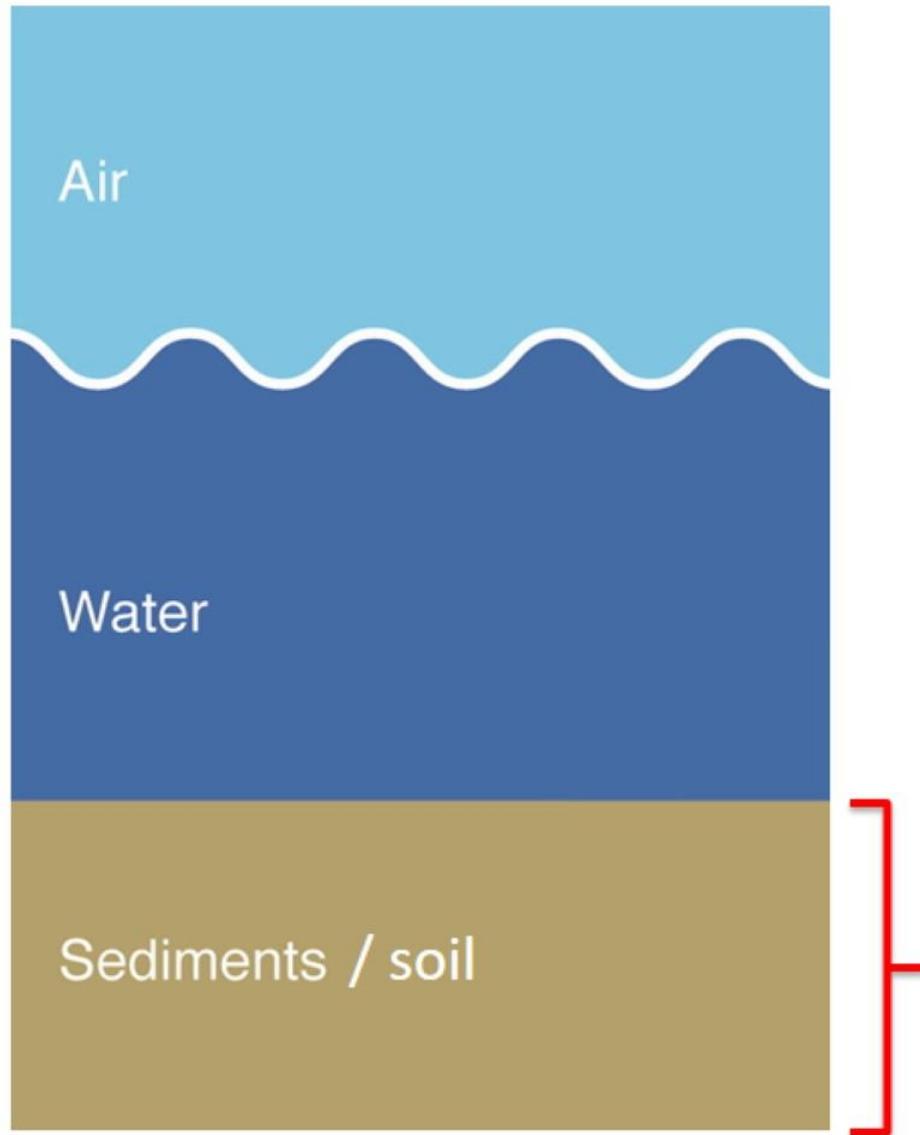


Изучена динамика
изменения
бактериального
состава днем и ночью
в зависимости от
глубины

Matyugina E., Belkova N., Borzenko S., Lukyanov P., Kabilov M.R., Baturina O.A., Martynova-Van Kley., Nalian A., Ptitsyn A. Structure and diversity dynamics of microbial communities at day and night: investigation of meromictic Lake Doroninskoe, Transbaikalia, Russia // Journal of Oceanology and Limnology, 2018, V. 36, N 6, P. 1978–1992, <https://doi.org/10.1007/s00343-018-7332-1>



Почва и донные отложения

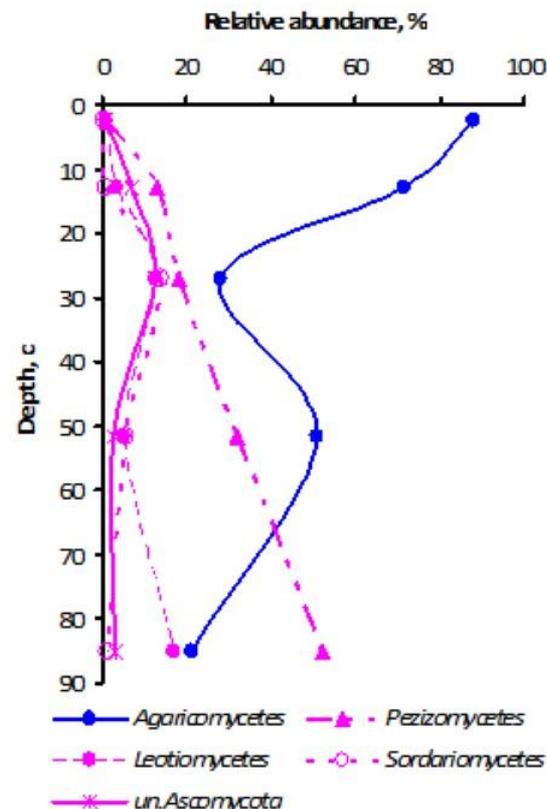
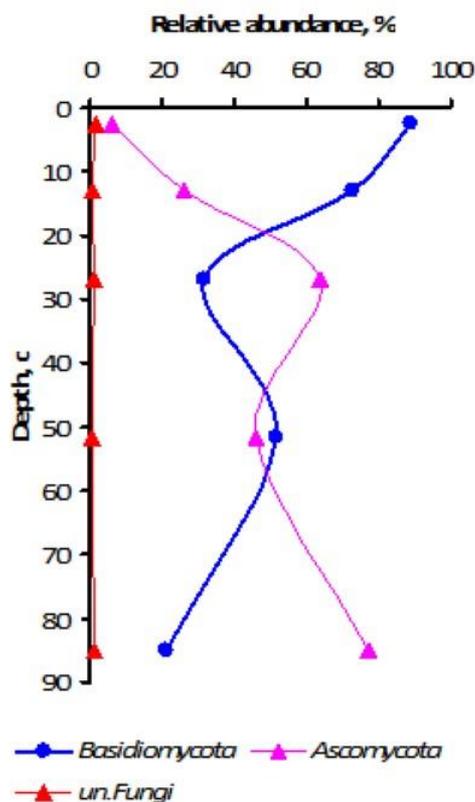
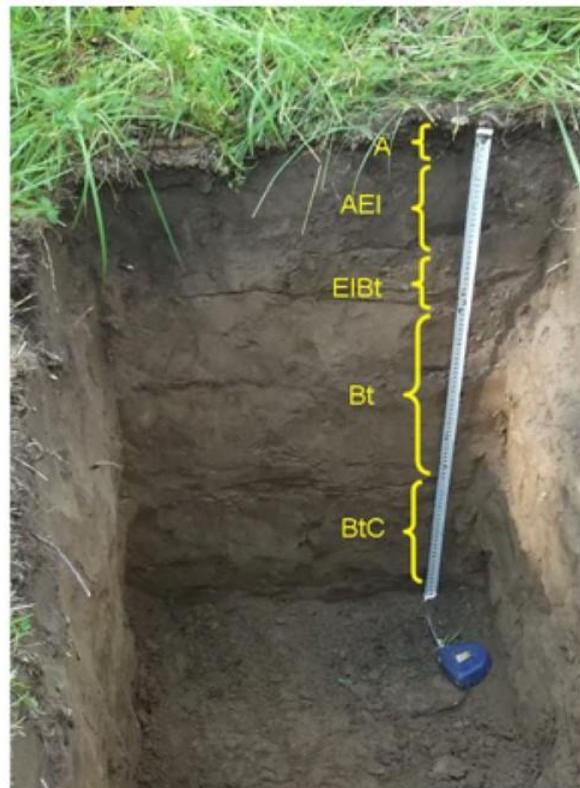


Почва является наиболее богатой по разнообразию бактериальных и грибных компонент



Биоразнообразие почвенных грибов по ITS

Серая ненарушенная почва под березовым лесом (совместно с ИПА СО РАН)

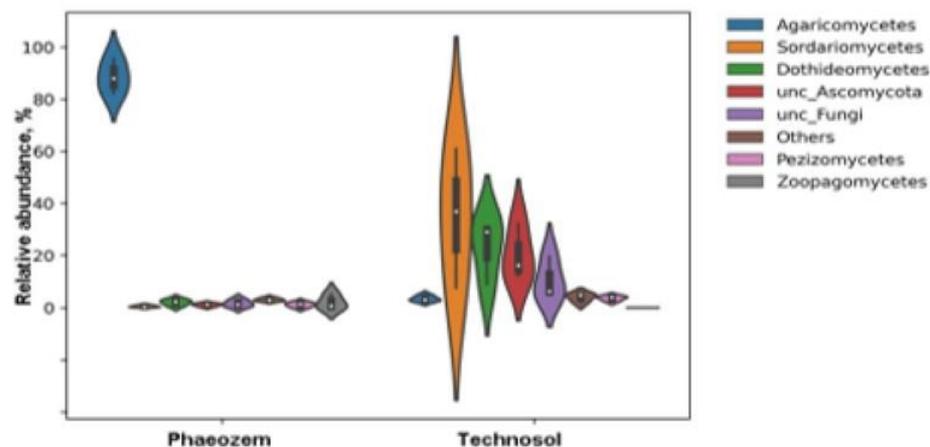


Naumova, N.; Belanov, I.; Alikina, T.; Kabilov, M. Microbiome in soil genetic horizons under the undisturbed birch forest in West Siberia . *Soil Syst.* **2021**, 5(1), 14;
<https://doi.org/10.3390/soilsystems501001425>



Биоразнообразие почвенных грибов по ITS

Самозарастающий в течение 9-лет золоотвал (совместно с ИПА СО РАН)

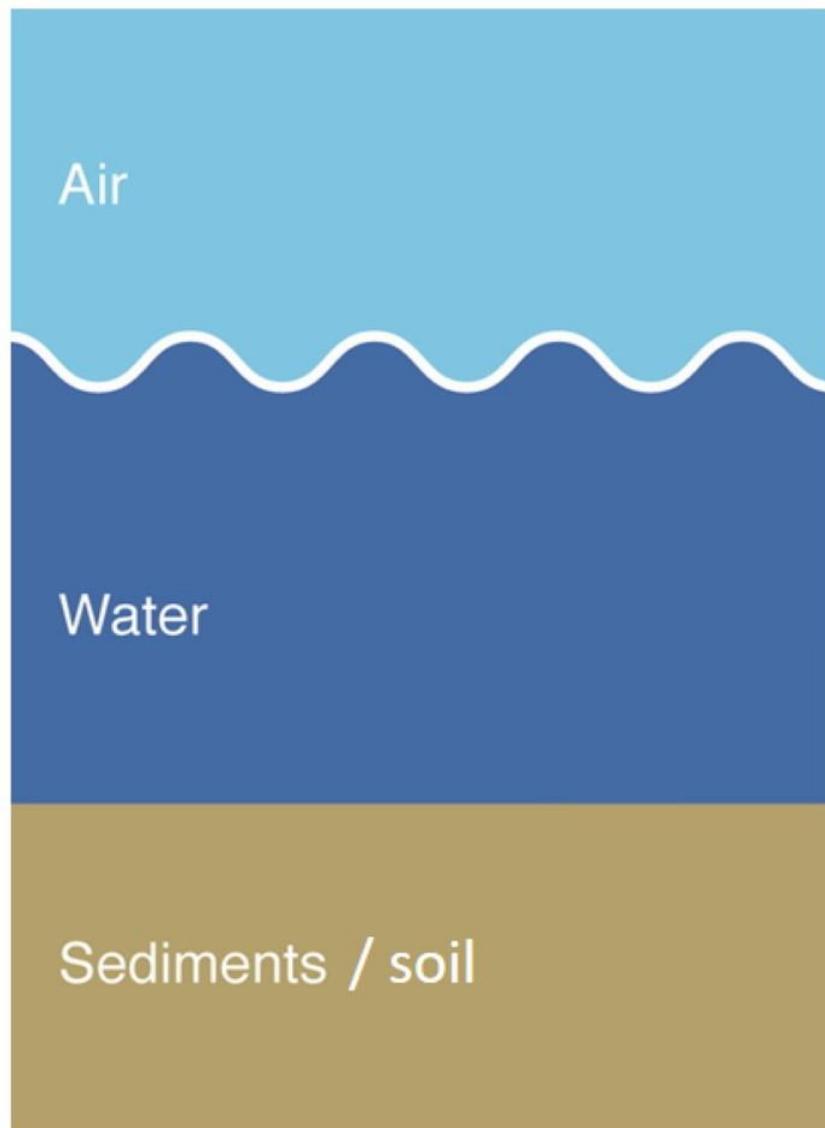


Индекс	Серая почва	Технозем	P
Видовое богатство	244	143	0.02
Као-1	287	146	0.01
Доминирование (D)	0.51	0.17	0.15
Симпсона (1-D)	0.49	0.83	0.15
Бергер-Паркера	0.63	0.28	0.12
Равномерность	0.25	0.50	0.05
Шеннон	1.4	2.5	0.09

Naumova, N.; Belanov, I.; Alikina, T.; Kabilov, M. Soil Microbiome after Nine Years of Fly Ash Dump Spontaneous Revegetation. *Soil Research* 2021, (in press)



Атмосфера



В воздухе повсеместно встречаются биоаэрозоли, которые относятся к частицам микробного, растительного, животного и вирусного происхождения и включает широкий спектр антигенных соединений, микробных токсинов и вирусов.



Биоразнообразие в воздухе

Анализ биогенных и антропогенных компонент атмосферных аэрозолей в Новосибирске (совместно с ГНЦ Вектор, ИХКГ СО РАН)

Воздухоотбор выполняется дважды в месяц синхронно в 4 точках Новосибирска (Академгородок, Кольцово, НСО, Город) 12 часов днем и 12 часов ночью. К настоящему моменту собрано и проанализировано 48 образцов

Воздух



Фильтрация



Тефлоновая мембрана



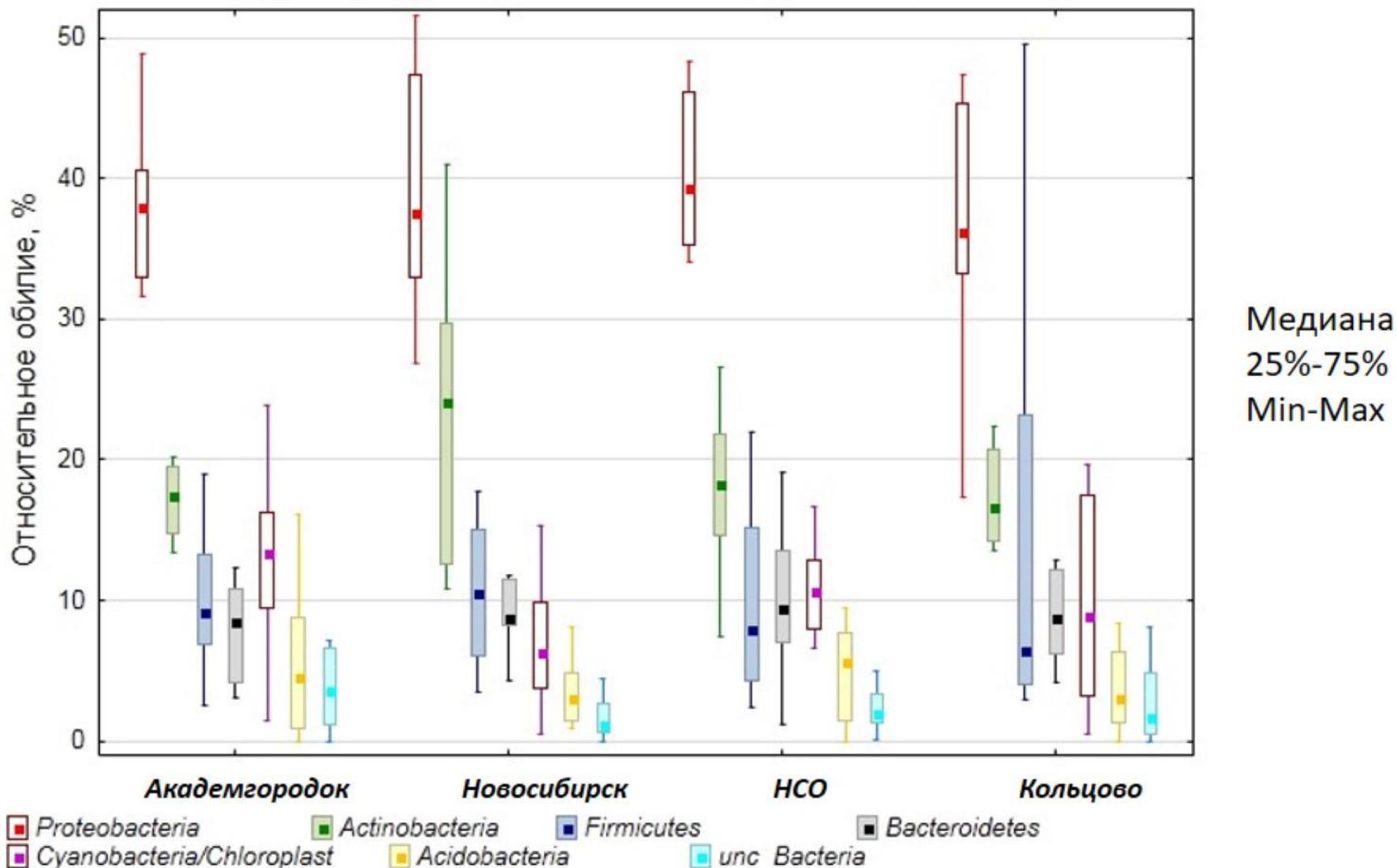
Выделение ДНК



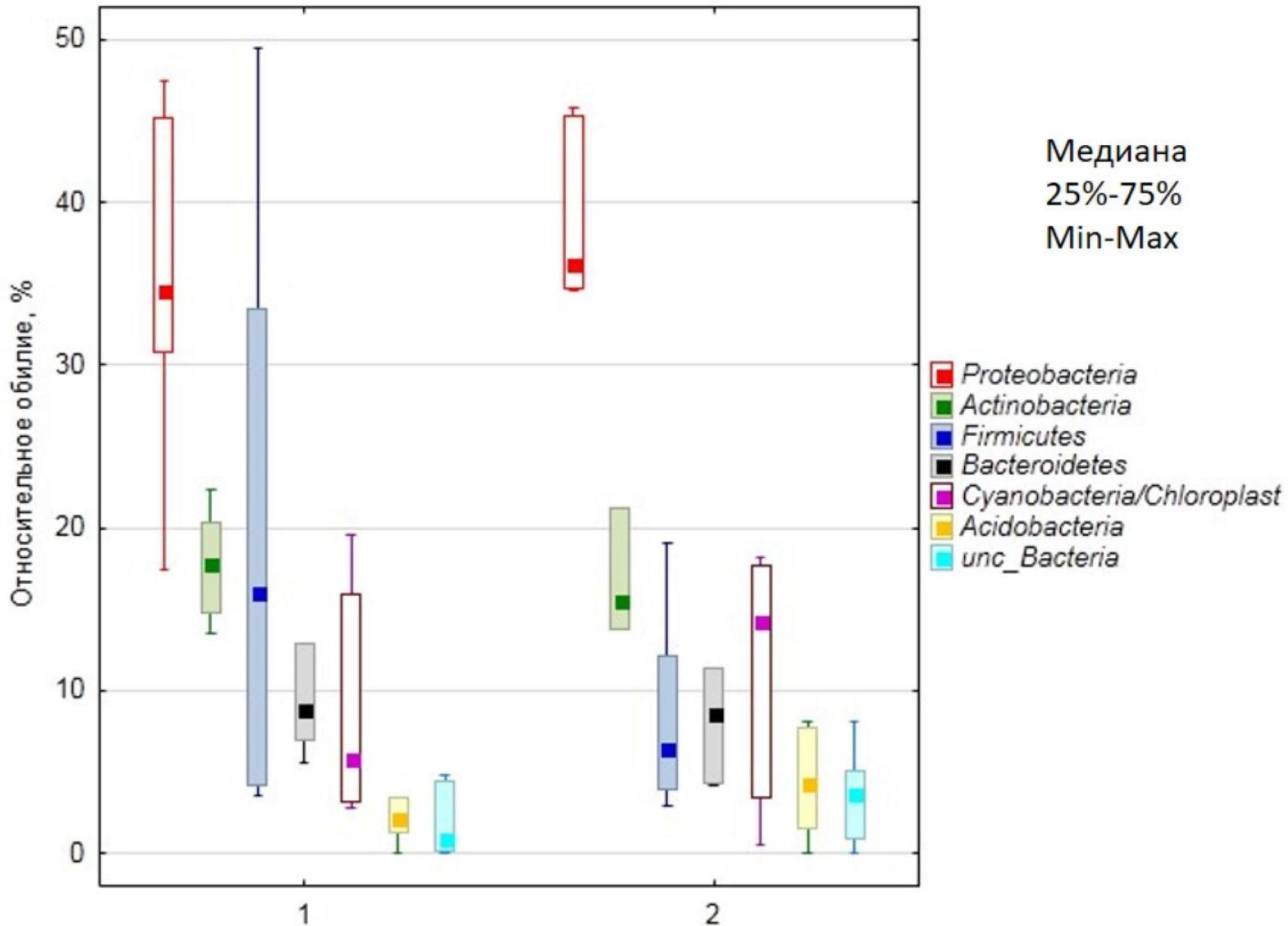
Метабаркодирование по 16S и ITS
+
Метагеномика



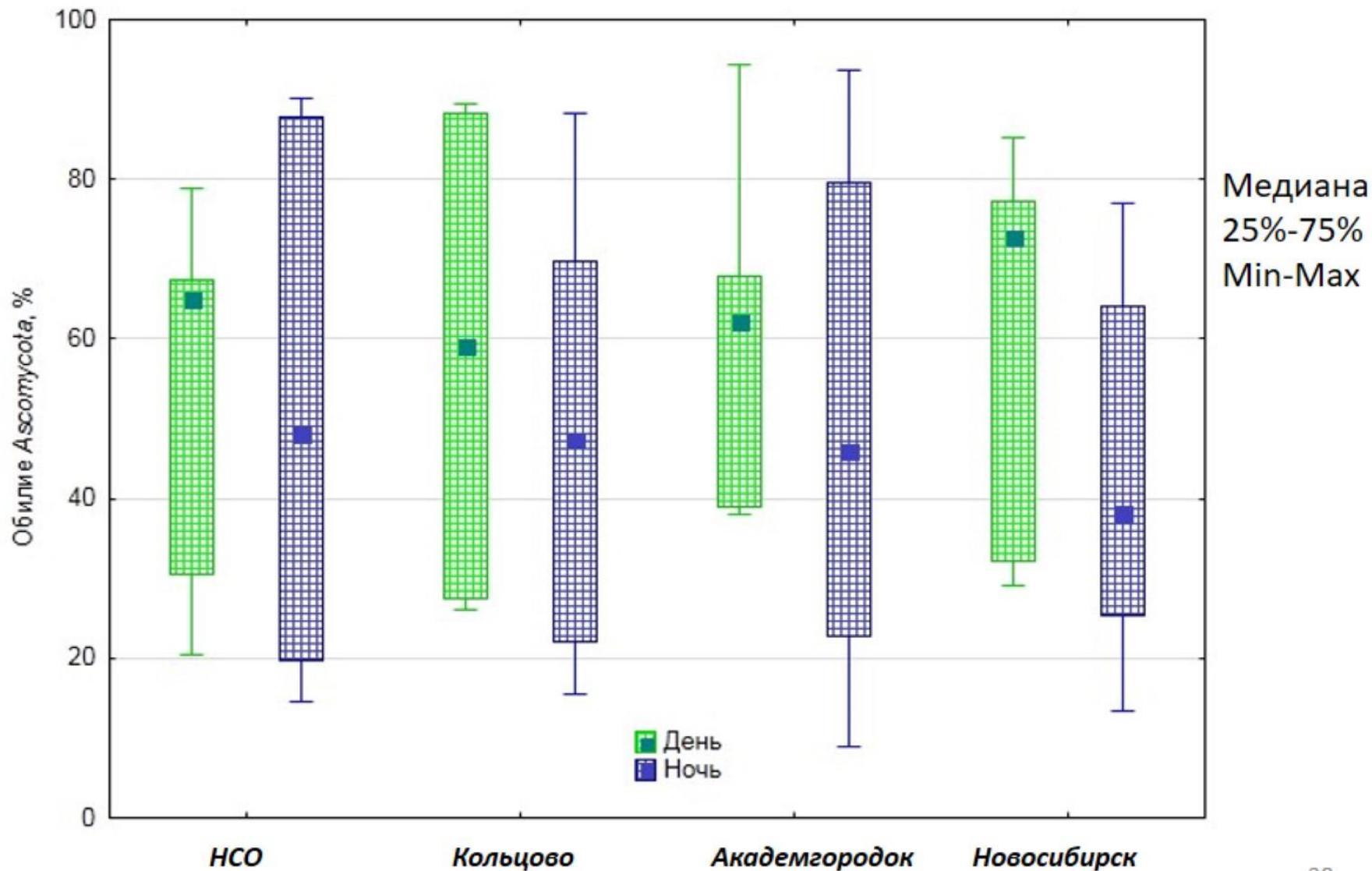
Относительное содержание доминантных типов бактерий
 (по разнообразию последовательностей генов 16S рРНК)
 в воздухе урбанизированных и полурурбанизированных мест НСО



Относительное содержание типов бактерий в воздухе днем и ночью (Кольцово)

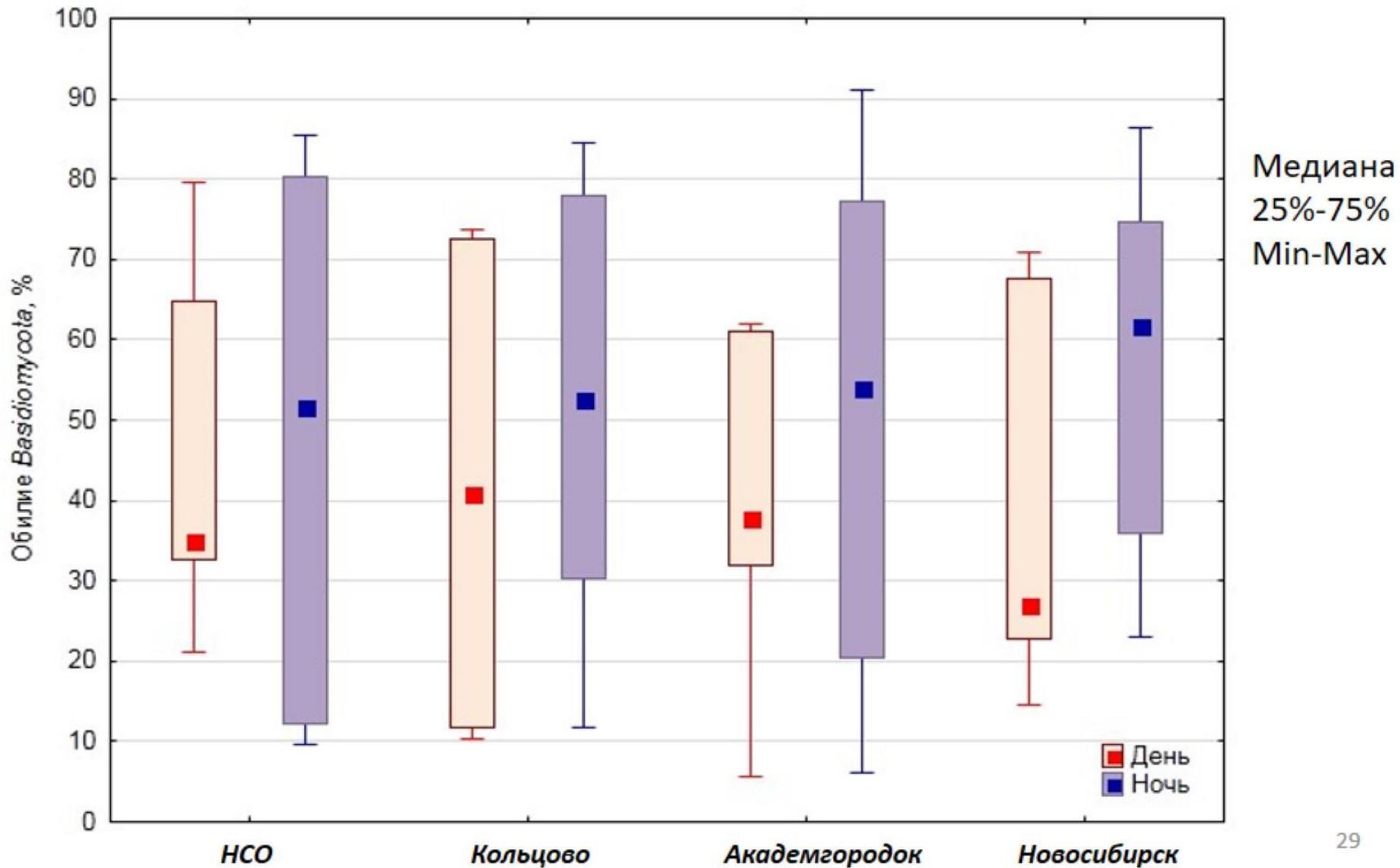


Относительное содержание аскомицетов
(по разнообразию последовательностей ITS фрагментов)
в воздухе урбанизированных и полурурбанизированных мест НСО



Относительное содержание базидиомицетов

в воздухе урбанизированных и полурурбанизированных мест НСО





Метагеномика окружающей среды

содовые озера



японское море



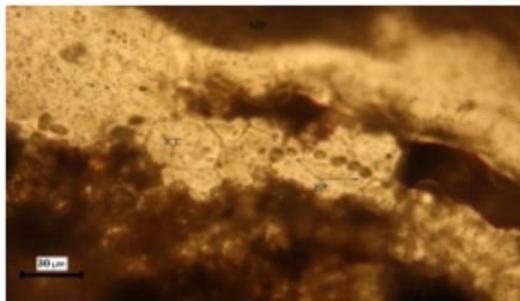
черное море



ризосфера кедра



пермофросты



горячие источники



совместно с ЦСБС СО РАН, ИОЭБ СО РАН, ИЛ СО РАН, МГУ, ДВФУ, ИнБЮМ и др.



Метагеномика животных и человека

клещи



колорадский жук пчелиная огневка непарный шелкопряд



карп



цыплята



свиньи



мамонт



желчекаменная
болезнь



рассеянный
склероз



пробиотики



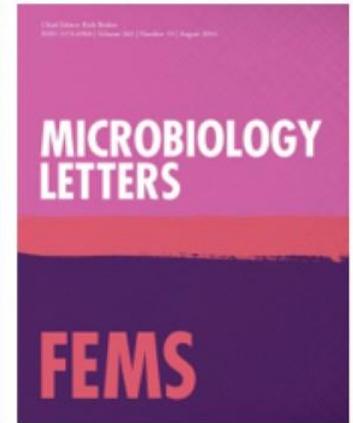
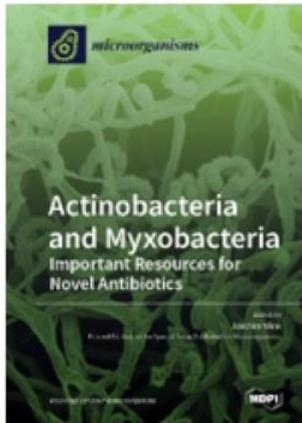
глаукома





Научные публикации по метабаркодингу и метагеномике

В 2015-2021 гг. было опубликовано более 40 совместных статей в научных журналах



life

