

Сведения о выполненных работах и
полученных научных результатах
в 2024 году

по проекту «**Культивирование, характеристика физиологии и геохимической активности трудно культивируемых экстремофильных Bacteria**»,
поддержанному Российским научным фондом

Соглашение № 24-14-0039

Руководитель: д-р биол. наук Карначук Ольга Викторовна

Проект посвящен культивированию, изучению физиологии и геохимической активности трудно культивируемых экстремофильных Bacteria и включает две основных задачи: (1) характеристику анаэробных трудно культивируемых экстремофилов, полученных ранее в нашей лаборатории и изучение биогеохимических реакций, осуществляемых ими в чистой культуре и природных биотопах, а также (2) получение лабораторных культур бактерий, ранее определяемых как «некультивируемые» из исследованных ранее реперных биотопов, для которых известны геномные данные.

Для получения накопительных культур трудно культивируемых Bacteria в 2024 году проведен отбор проб, из биотопов, ранее охарактеризованных молекулярными методами, включая: (1) глубинную термальную скважину в поселке Белый Яр; (2) хвостохранилища добычи золота в поселках Комсомольский и Центральный, Мариинская тайга, Кемеровская область; (3) горящих отходов добычи бурого угля в поселке Чаган-Узун, республика Алтай. Параллельно с отбором проб для культивирования и определения скорости микробных процессов с радиоактивными изотопами, определены физико-химические характеристики биотопов, включая температуру, pH, Eh, концентрацию ионов и элементный анализ.

Одной из целевых групп исследования являются представители класса Limnochordia. Выделенные ранее в нашей лаборатории представители этого класса в 2024 году описаны как два новых рода нового семейства класса, Geochordaceae. (Статья Karnachuk O.V, Lukina A.P, Avakyan M.R, Kadnikov V.V, Begmatov S, Beletsky A.V, Vlasova K.G, Novikov A.A, Shcherbakova V.A, Mardanov A.V, Ravin N.V. Novel thermophilic genera Geochorda gen. nov. and Carboxydochorda gen. nov. from the deep terrestrial subsurface reveal the ecophysiological diversity in the class Limnochordia опубликована в журнала Frontiers in Microbiology (<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2024.1441865/full>). Для выделения новых представителей этого класса проанализированы геномные данные образцов сельскохозяйственных животных, хранящихся в Биобанке лаборатории и получены накопительные культуры из образцов, содержащих флотипы Limnochordia. Использование целевого культивирования позволило не только культивировать, но и досрочно выделить чистые культуры, что было запланировано на 2025 год по плану выполнения проекта. Анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что полученные чистые культуры

представляют новый вид рода *Geochorda*. Выделение представителей семейства *Geochordaceae* будет продолжено в 2025 году из отобранных в 2024 году проб горящих отходов добычи угля в Чаган-Узуне, где представители рода *Carboxydochorda* обнаружены при анализе метагеномных данных. Представители класса *Limnochordia* известны как один из основных компонентов консорциумов для разложения лигноцеллюлозы и полученные штаммы возможно найдут применение в технологических процессах.

В 2024 также изучены чистые культуры представителей семейства ‘*Desulforudaceae*’, выделенные ранее в нашей лаборатории. Определение полногеномной последовательности штамма “*Desulforudis audaxviator*” ВУА показало, что культура не является чистой, а содержит как минимум две, и возможно, три различные бактерии. Для подтверждения гипотезы эволюционного стазиса из проб воды из скважины в поселке Белый Яр получены новые накопительные культуры, содержащие “*Desulforudis audaxviator*” в качестве доминирующего компонента. Секвенирование последовательности гена 16S рРНК нового штамма, обозначенного 1828, показало, что возможны различия в двух нуклеотидах с последовательностью гена 16S рРНК выделенного ранее “*Desulforudis audaxviator*” штамм ВУФ. Полногеномный анализ штамма 1828, запланированный на 2025 год, позволит подтвердить или опровергнуть гипотезу эволюционного стазиса этого организма.

Получен ряд новых накопительных культур анаэробных термофилов из проб исследованных биотопов, чье профилирование по гену 16S рРНК, запланированное на 2025 год, позволит определить присутствие целевых фило типов.

Для исследования бимодальной активности термофильных сульфидогенов, способных метаболизировать не только в условиях диапазона температур роста, но и при более низких температурах за счет прорастания спор в персистирующих вегетативные клетки (Karnachuk et al., 2023), были измерены скорости сульфатредукции в мезофильных отходах добычи золота в Мариинской тайге. Были зафиксированы скорости сульфидогенеза одного порядка как в условиях *in situ*, так и при повышенной температуре. Из отобранных ранее отходов добычи металлов на месторождении Бом-Горхон в республике Бурятия, где ранее был зафиксирован термофильный процесс, выделены термофильные *Desulfotomaculum* spp. и *Desulfofundulus* spp., чьи гены *dsrAB* были обнаружены путем метагеномного анализ в этом биотопе.

В 2024 году результаты исследований по проекту представлены на Российском форуме биотехнологий OpenBio (<https://openbio.ru/>) в виде установочной лекции «Использование методов биоинформатики для получения новых ранее некультивируемых прокариот». Также результаты исследований представлены в виде приглашенного доклада «Целевое выделение чистых культур ранее некультивируемых бактерий», устных докладов «Выделение чистой культуры нового представителя *Nitratidesulfovibrio*, из воды радонового источника в селе Чистоводное, Приморского края» и «Определение скоростей микробных процессов сульфатредукции, ассимиляции углекислоты, продукции и окисления метана

радиоизотопным методом, из воды радонового источника в селе Чистоводное, Приморского края» и постерного сообщения «Целевое культивирование “*Candidatus Ozemobacter sibiricus*” из вод глубинной термальной скважины в Томской области» на Всероссийской научной школе-конференции «Генетические технологии в исследованиях природных соединений» 23-28 октября, 2024, г. Владивосток.