

В рамках реализации проекта 15.БРК.21.0004 по теме: «Развитие биоресурсной коллекции «Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН» для реализации Федеральной программы в области генетических технологий» за отчетный период с 01.01.2022 г. по 31.12.2022 г. были получены следующие результаты:

Осуществлена проверка на жизнеспособность 200 штаммов бактерий и 32 штаммов грибов из коллекции в соответствии с СОП-ми. Выделены из экспедиционных образцов штаммы и проведена оценка их основных культурально-морфологических, физиолого-биохимических, молекулярно-генетических и фенотипических характеристик в соответствии с СОП-ми. В каталог коллекции добавлена информация о 101 штамме (80 бактериальных и 21 грибном штаммах), на которые подготовлены паспорта штаммов. Выделена геномная ДНК из 140 штаммов морских микроорганизмов. Проведено генотипирование 100 штаммов бактерий на основе гена 16S рНК и 40 штаммов грибов на основе участков 18S рНК/ITS. Выполнено секвенирование и геномный анализ 5-ти бактериальных штаммов-кандидатов на новые таксоны. Проведена сборка, аннотирование и анализ геномов морских микроорганизмов. Применен полифазный подход для описания новых видов родов *Paracoccus*, *Bizionia*, *Pseudoalteromonas* и нового рода семейства *Weeksellaceae*. Проведен сравнительный геномный анализ и поиск генов биотехнологически ценных ферментов и путей биосинтеза метаболитов с использованием открытых аннотационных платформ KEGG, RAST, AntiSMASH, CAZy, PAZy и др. Разработаны генетические конструкции и штаммы-продуценты рекомбинантных ферментов альфа-галактозидаз, альфа-N-ацетилгалактозаминидаз бактерий рода *Zobellia*, а также сульфотрансфераз, сульфат-пермеаз, сульфатаз, протеаз и щелочных фосфатаз бактерий рода *Cobetia*.

Разработаны праймеры и проведено мультилокусное сиквенс-типирование 22 штаммов бактерий рода *Vibrio*, в том числе выделенных из мукуса ловчей сети морской полихеты *Chaetopterus variopedatus*. Выполнено секвенирование 2-х геномов штаммов-кандидатов на новые виды рода *Vibrio*. Проведена сборка, аннотирование и анализ геномов. Проведен подбор условий выделения генетического материала из биологических образцов и получены библиотеки ампликонов гена участка V3-V4 16S рНК. Проведено секвенирование и анализ микробиомов 3-х образцов мукуса ловчей сети и 3-х образцов кишечника морской полихеты *Chaetopterus variopedatus*.

Проведен комплекс мероприятий по поддержанию материально-технической базы объекта инфраструктуры – биоресурсной коллекции «Коллекция морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН», включающий ремонт помещений лаборатории морской биохимии для проведения молекулярно-генетических исследований (инфраструктурный объект), а также помещений, непосредственно связанных с осуществлением проекта (лаборатория химии микробных метаболитов); приобретение лабораторного оборудования (ламинарные боксы, вытяжные шкафы, термостаты, стерилизаторы воздушный и паровой и др.).

Интернет – сайт биоресурсной коллекции введен в промышленную эксплуатацию. Разработана эксплуатационная документация на Информационную систему «КММ ТИБОХ ДВО РАН» и введена в эксплуатацию ее промышленная версия. Основному исполнителю переданы права по администрированию Информационной системы и организовано ее начальное сопровождение (соисполнитель ООО «Бюротика»).

Получены данные о генетическом разнообразии грибов-ассоциантов дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*, морского ежа *Scaphechinus mirabilis* и бурой водоросли *Sargassum miyabei* Yendo. Выделены и проведен анализ биотехнологического потенциала метаболитов некоторых грибов-ассоциантов.

Определено таксономическое положение штамма *Pseudoalteromonas* sp. 16-SW-7 методами полифазного анализа, включая анализ геномных данных. Штамм 16-SW-7 идентифицирован как *Pseudoalteromonas distincta*, является продуцентом уникальной  $\alpha$ -галактозидазы, способной превращать эритроциты III группы (B) крови в эритроциты I группы крови (0). Штамм 16-SW-7 депонирован в коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН (КММ 701), а также в КСТС (КСТС 52772) и ВКМ (VKM B-2135 D). Результаты имеют значение для развития медицинской биотехнологии (трансфузионной медицины и трансплантологии). Методами сравнительной геномики проведена реклассификация *Pseudoalteromonas paragorgicola* как *Pseudoalteromonas distincta*.

Проведен скрининг антимикробной активности 113 бактериальных штаммов, выделенных из образцов донных осадков, отобранных в районе хребта Ломоносова (Восточно-Сибирское море). Для 22 штаммов обнаружена антимикробная активность против 2-х и более стандартных культур. Активные антимикробные фракции получены для 4-х бактериальных культур.

Проведен анализ и поиск в геноме *Vibrio* sp. CB1-14, выделенной из морской полихеты *Chaetopterus variopedatus*, биосинтетических генных кластеров полисахаридов. Выделены и установлена структура капсулярного сульфатированного полисахарида. Описан состав генетического кластера, предсказаны сульфо- и гликозилтрансферазы.

Изучены аллелопатические взаимоотношения грибов-микромикетов. Отобраны штаммы-продуценты. Выделены индивидуальные метаболиты, установлена их структура и изучена их биологическая активность.

Получены обогащенные фракции и выделены 12 индивидуальных метаболитов из экстрактов морских грибов *Penicillium dimorphosporum* и *Asteromyces cruciatus* (соисполнитель ДВФУ).

Совместно с ДВФУ осуществлены мероприятия по популяризации науки и развитию кадрового потенциала. Проведена Всероссийская научная молодежная конференция «Геномика и биотехнология микроорганизмов», представленная 70 участниками из 12 университетов и 8 научных организаций, доля молодых участников (до 39 лет) - 77%. По договорам ГПХ для обучения и выполнения молекулярно-генетических и биоорганических работ привлечено более 15 студентов ДВФУ.

Клонированы гены хитинолитического комплекса и установлена их структура, в том числе кодирующих эндо- и экзохитиназы, хитобиазы и др. Получены и биохимически охарактеризованы рекомбинантные хитинолитические ферменты (соисполнитель ООО «АРНИКА»).

Выполнено секвенирование геномов 16-ти штаммов морских бактерий с хитинолитической активностью, проведен биоинформатический анализ полученных геномов и осуществлен поиск генов хитинолитического комплекса, а также биосинтетических кластеров ценных вторичных метаболитов (соисполнитель ООО «АРНИКА»).

Таким образом, задачи, поставленные на 2-ом этапе работ по проекту 15.БРК.21.0004, согласно Плану-графику (Приложение 9 Соглашения № 075-15-2021-1052 от 29.09.2021 г.), выполнены в полном объеме и представлены на сайте ТИБОХ ДВО РАН (<http://www.piboc.dvo.ru/structure/ckp/ckp3.php>). Полученные фундаментальные результаты характеризуются оригинальностью, научной новизной и имеют высокий инновационный потенциал в областях биотехнологии и биомедицины.