



МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ГЕОТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ (О. КУНАШИР) С НИЗКИМ И НЕЙТРАЛЬНЫМ pH

Выполнил: Коржук А.В., 2 курс магистратуры
Научный руководитель: к.б.н. Розанов А.С.
Институт цитологии и генетики СО РАН
Лаборатория молекулярных биотехнологий

Экстремофилы и места их обитаний



Рис. 1. Экстремальные среды:

А - Большой призматический источник, США (фото: Andrea Romano, 2017);

Б - р. Рио-Тинто, Испания (фото: Carol Stoker, 2002);

В – отток кислотных вод из шахты недалеко от Питтсбурга, США (фото: Brandon Curtis, 2009);

Г - Грифон Иванова, Россия (фото: Денис Будьков, 2011)

Метагеномный анализ

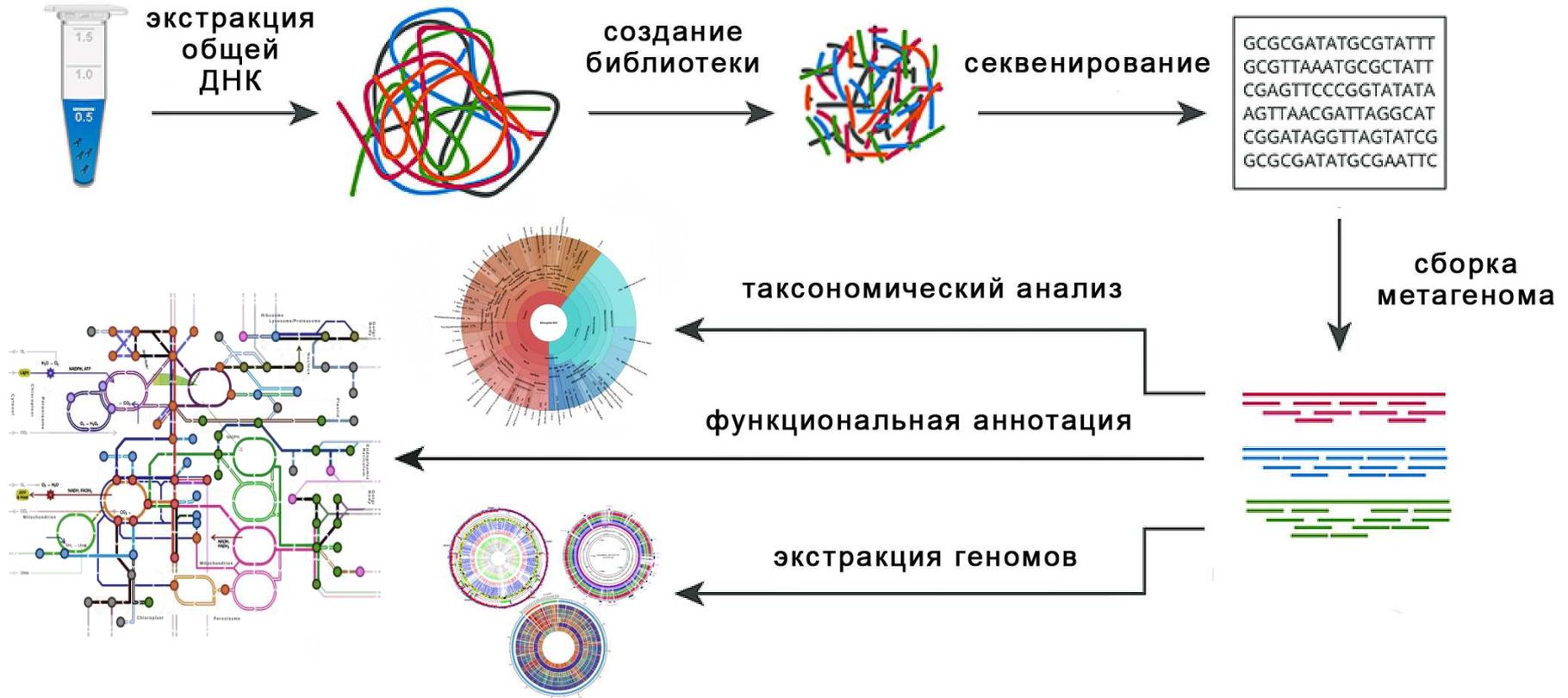


Рис. 2. Упрощенная схема метагеномного анализа.

Цели и задачи

Целью данной работы является изучение таксономического разнообразия и метаболических свойств микроорганизмов кислого и нейтрального геотермальных источников острова Кунашир.

Для достижения данной цели были поставлены **следующие задачи:**

1. Секвенирование микробных сообществ геотермальных источников острова Кунашир и сборка прочтений в протяженные последовательности;
2. Извлечение геномов из метагеномных данных;
3. Восстановление последовательностей 16/18S рРНК;
4. Таксономический анализ микробных сообществ озера Фауста и Третьяковского источника;
5. Сравнение таксономических составов исследуемых сообществ с микробными сообществами других геотермальных источников;
6. Метаболический анализ микробного сообществ озера Фауста и Третьяковского источника;

Объект исследования



Рис. 3. Карта о. Кунашир с расположением геотермальных источников.



Координаты:
44°0'11"N,
145°46'43"E

Температура: 48°C
pH: 2.0

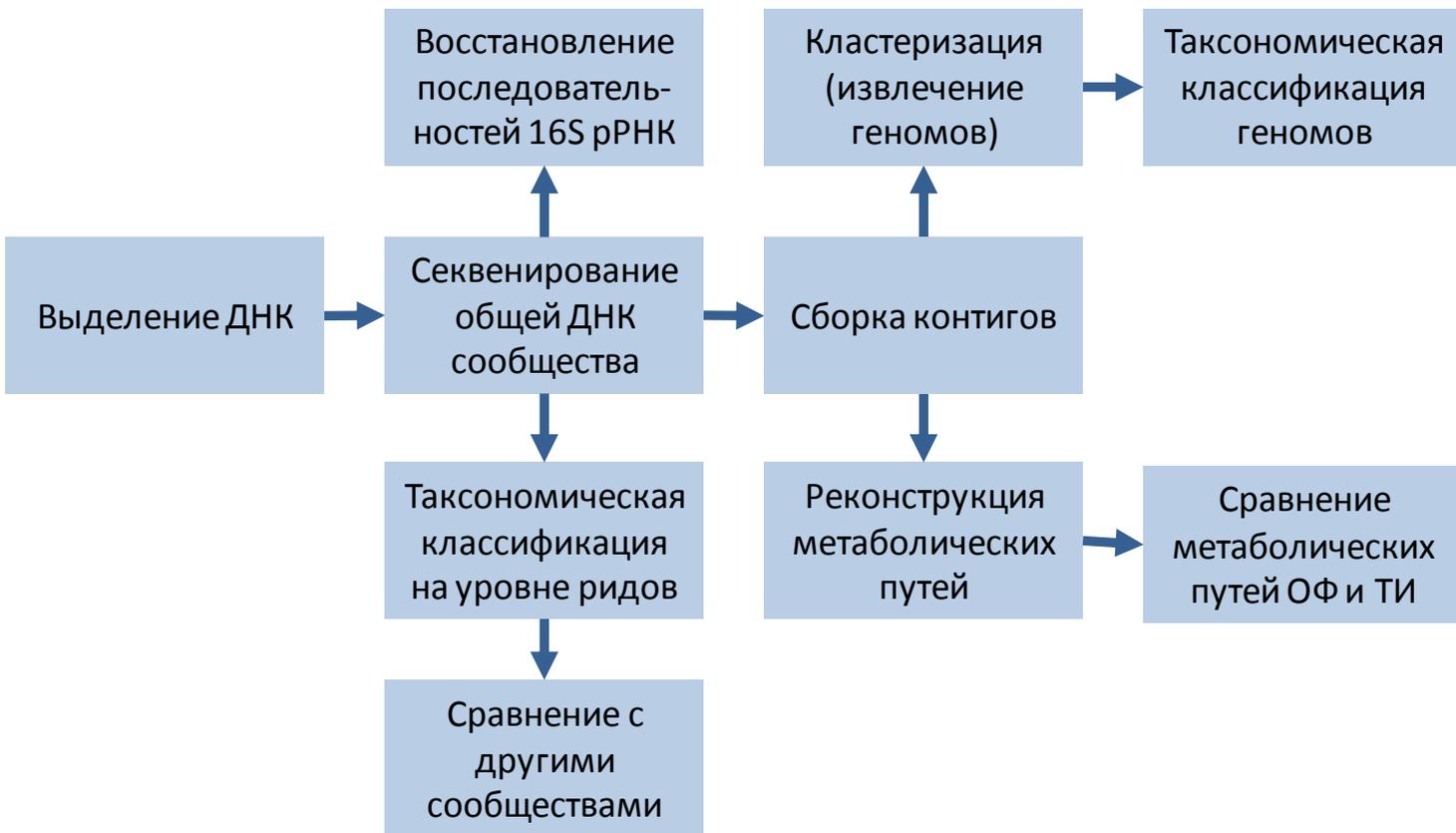


Координаты:
43°59'18.1"N,
145°39'05.1"E

Температура: 52°C
pH: 6.0

Рис. 4. Исследуемые источники: А – оз. Фауста, Б – Третьяковский источник. Фото: Розанов А. С., 2017.

Алгоритм работы



Инструменты:

FastQC v0.11.7
Trimmomatic v0.36
metaSPAdes v3.11.1
metaQUAST v4.6.2
VizBin
MetaWRAP 1.2.2
(MaxBin v2.2.4,
metaBAT v2.12.1,
CONCOCT v1, SPAdes
v3.13.0, QUAST
v5.0.2, Salmon v1,
CheckM v1.0.12)
FragGenScan v1.30
HMMer v3.1b1
MEGA v10.0.5
PhyloFlash v3.3b1
Prokka v1.12
GhostKOALA v2.2
bowtie2 v2.4.1
samtools v1.9

Рис. 5. Упрощенная блок-схема анализа.

Кластеризация, восстановление геномов

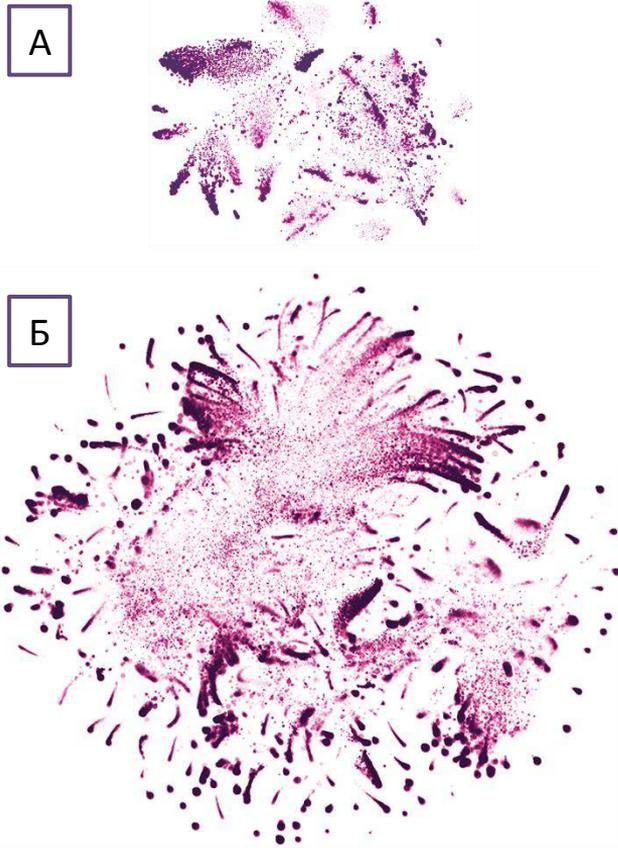


Рис. 6. Визуализация кластеризации:
А – озеро Фауста, Б – Третьяковский источник

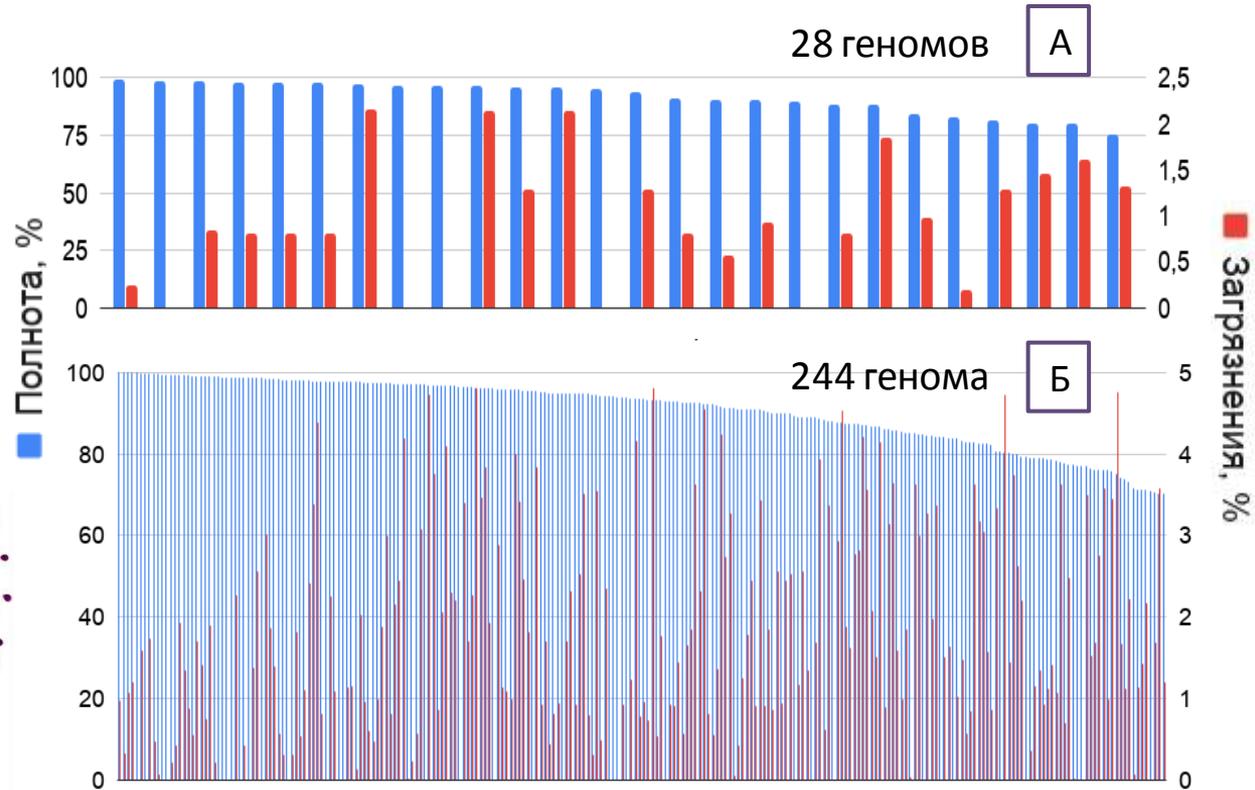
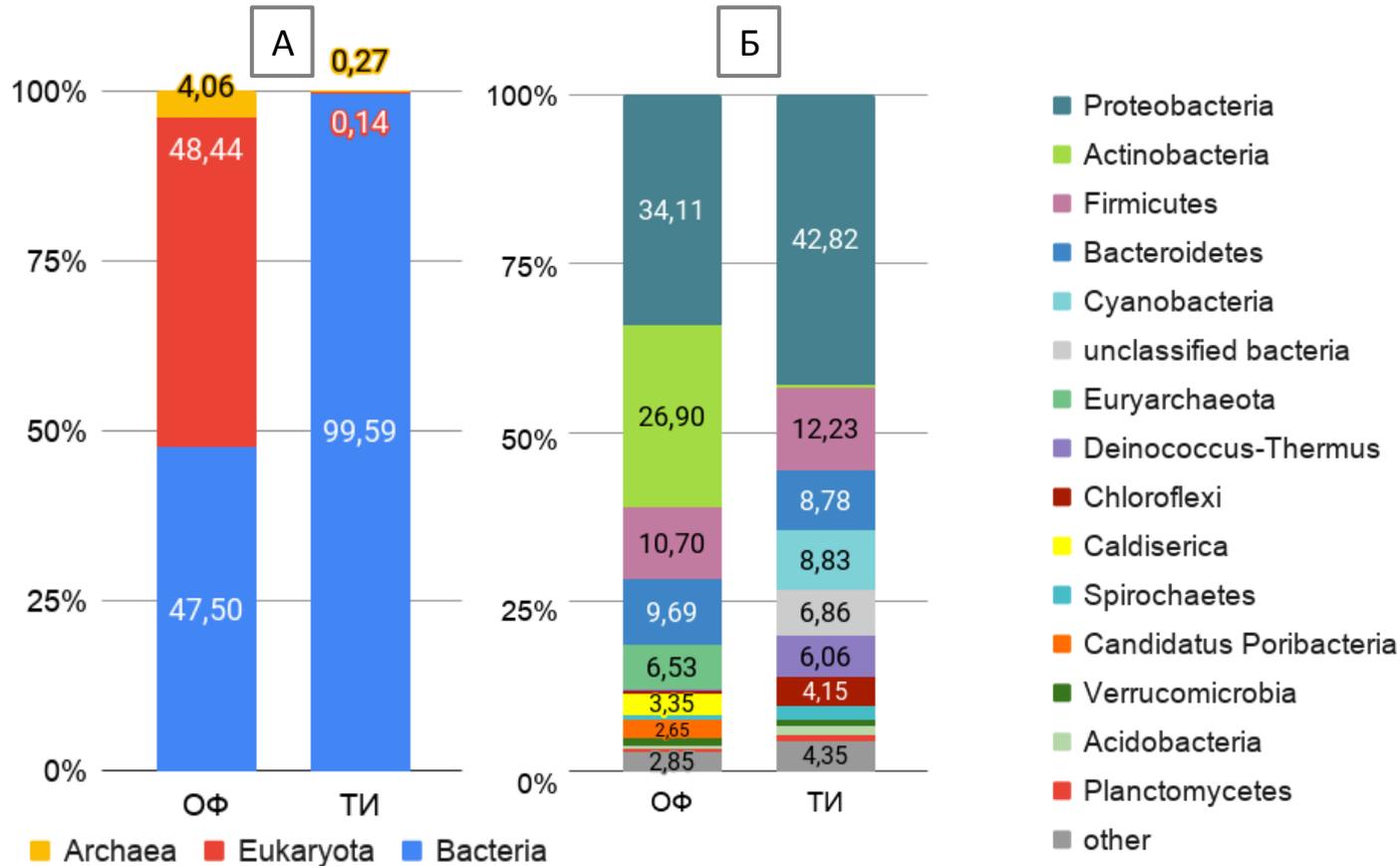


Рис. 7. Диаграммы распределения полноты и загрязнения восстановленных геномов:
А – озеро Фауста, Б – Третьяковский источник

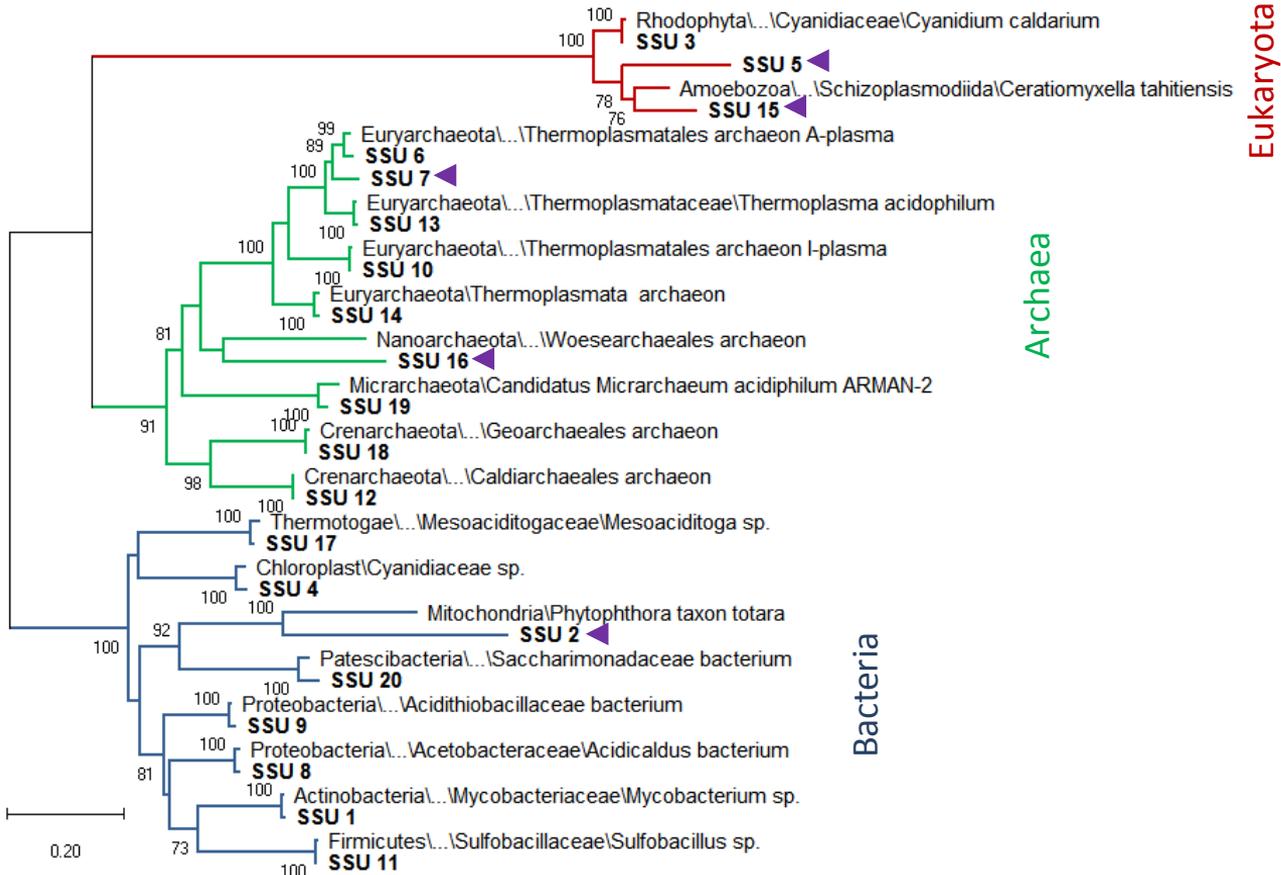
Таксономический анализ



Индекс Шеннона
(α -разнообразие):
ОФ – 1.7
ТИ – 4.4

Рис. 8. Таксономические составы: А - на уровне доменов, Б - на уровне типов (прокариоты). ОФ - озеро Фауста, ТИ - Третьяковский источник.

Восстановление последовательностей 16/18S рНК



Третьяковский источник
104 последовательности гена
16/18S рНК:

- 20 *Proteobacteria*,
- 12 *Chloroflexi*,
- 11 *Bacteroidetes*,
- 10 *Firmicutes*,
- 4 *Cyanobacteria*,
- 5 *Planctomycetes*,
- 5 *Acidobacteria*,
- 4 *Verrucomicrobia*,
- 4 *Spirochaetes*,
- 3 *Deinococcus-Thermus*,
- 2 *Synergistetes*,
- 2 *Discosea*,
- 2 *Armatimonadetes*,
- 2 *Aquificae*,
- и 18 других

Рис. 9. Филогенетическое дерево генов 16/18S рНК из метаженома оз. Фауста.

Метод: ML; модель: K2+G; 500 бутстреп репликаций

Сравнительная таксономия

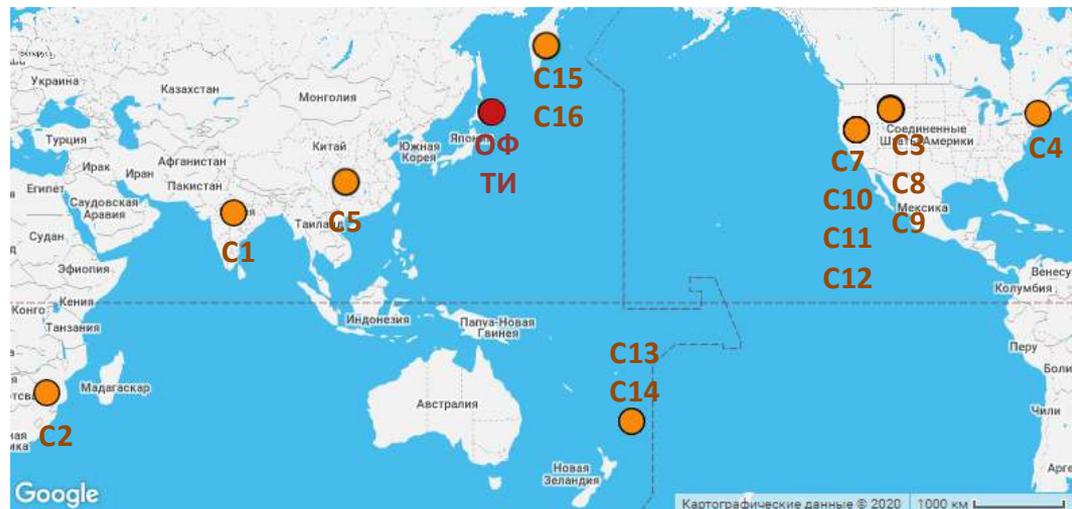
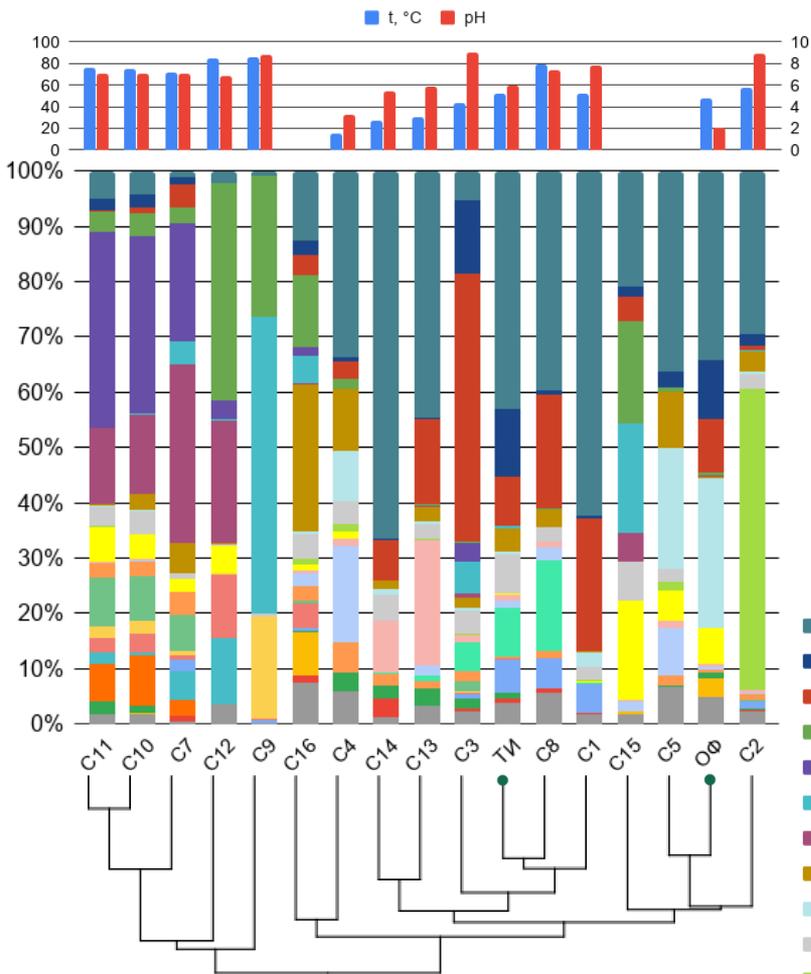
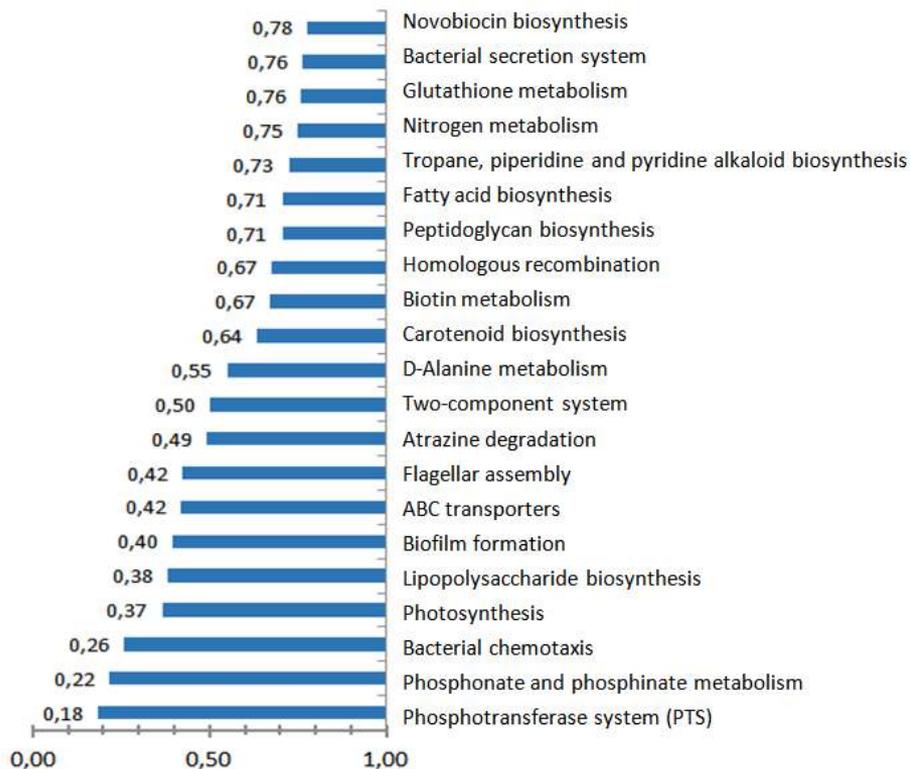


Рис. 10. Расположение рассматриваемых источников.

Рис. 11. Диаграмма сравнения таксономических составов на уровне типов. ОФ– озеро Фауста, ТИ – Третьяковский источник

Сравнение метаболических путей метагеномов оз. Фауста и Третьяковского источника

Пути более представленные в сообществе
Третьяковского источника



Пути более представленные в сообществе озера
Фауста

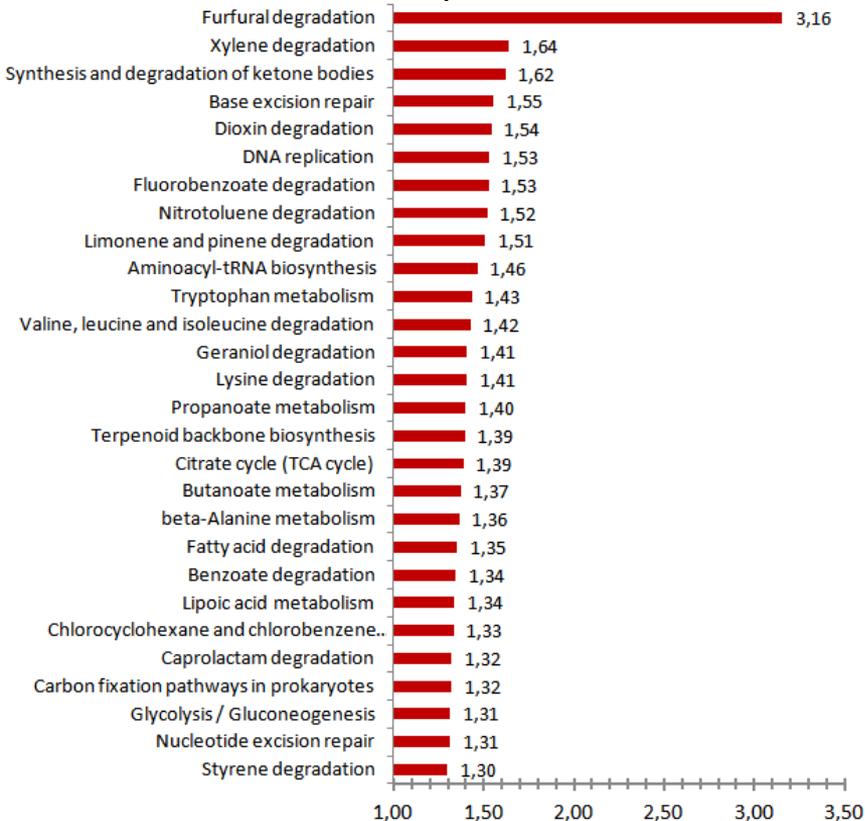


Рис. 11. Пути KEGG, избыточно и недостаточно представленные в метагеноме озера Фауста относительно метагенома Третьяковского источника.

Выводы

- 1** – Средний размер генома в сообществе ОФ составляет ~2.1 млн. пар оснований, в то время как в сообществе ТИ - ~3.5 млн. пар оснований, что связано с редукцией генома в условиях экстремально низких значений рН в ОФ;
- 2** – Биологическое разнообразие сообщества ОФ гораздо беднее сообщества ТИ (Индекс Шеннона: ОФ – 1.7, ТИ – 4.4)
- 3** – В микробном сообществе ОФ фотосинтезирующим и одновременно доминирующим организмом является красная водоросль, наиболее близкая к *Cyanidium caldarium*. В сообществе ТИ фотосинтезирующие микроорганизмы представлены двумя группами: кислородными фотосинтетиками *Cyanobacteria* и анаэробными *Chloroflexia*;
- 4** – В сообществе ОФ, в сравнении с ТИ, более представлены метаболические пути углеводного обмена, метаболизм аминокислот, биодegradация и метаболизма ксенобиотиков, репликация и репарация ДНК. В сообществе ТИ более представлены метаболические пути, связанные с биосинтезом, мембранным транспортом, сигнальной трансдукцией, клеточной подвижностью, а также с формированием биопленок.