

**Особенности приготовления библиотек микроорганизмов-деструкторов
темперной живописи из Государственной Третьяковской Галереи для
метагеномного секвенирования на платформе Illumina**

Научный руководитель – Авданина Дарья Александровна

Кукушкина Вера Ильинична

Студент (бакалавр)

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, Факультет
биотехнологии и промышленной экологии (БПЭ), Москва, Россия

E-mail: kucku.vera2011@ya.ru

Метагеномный анализ - современный инструмент, который позволяет качественно и эффективно установить видовое разнообразие в исследуемом образце и определить некультивируемые микроорганизмы в пробе. Задача нашей работы - подготовка библиотек изолятов микроорганизмов-деструкторов темперной и масляной живописи для дальнейшего секвенирования нового поколения (NGS). Предварительно было отобрано свыше 100 микробиологических проб с экспонатов (иконы темперной живописи XVI в.) и внутренних коммуникаций залов Живописи Древней Руси Государственной Третьяковской Галереи (ГТГ, Лаврушинский пер., 10, Москва). Основными доминирующими плесневыми грибами оказались: *Aspergillus versicolor*, *Ulocladium sp.*, *Cladosporium halotolerans*, *Aspergillus creber*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus creber*, *Cladosporium parahalotolerans*, *Simplicillium lamellicola*, *Microascus paisii*, *Aspergillus protuberus* и *Penicillium chrysogenum*. С целью дальнейшего поиска антисептических средств, в условиях, приближенных к реальным, в реставрационной мастерской ГТГ были созданы макеты. Они включали холст, с осетровым клеем (7%) и послойное нанесение материалов: свинцовые белила, сиена жжёная (пигменты художников XIX в.) и адгезивные материалы природного и синтетического происхождения. Для пролонгированной оценки художественных материалов в условиях музейного хранения часть макетов была помещена в камеру искусственного старения (режим 95 °C ±5, 300 ч), (не менее 50 лет хранения объектов в естественных условиях). После чего на контрольные и опытные макеты инокулировали охарактеризованную симбиотическую смесь про- и эукариотов. В течение 6 мес. наблюдали их рост и развитие, фиксируя микро- и макро- морфологию. Выросшие на макетах инокуляты были подвергнуты лиофилизации с последующим выделением метагеномной (мДНК) хлороформ-фенольным методом. ПЦР проводили на амплификаторе Master Cycler, («Эпшендорф», Германия) с помощью набора ScreenMix («Евроген», Россия). В качестве праймеров использовали ITS86F_BC/ITS4_BC для образцов, содержащих ДНК грибов, и 341F_BC/R806_BC для прокариотических образцов. Оптимизированные условия ПЦР для ScreenMix: «хот-старт» - 95°C, 3 мин; 25 - 35 циклов реакций амплификации: отжиг - 54°C для пары 341F_BC/R806_BC или 55°C для пары ITS86F_BC/ITS4_BC, 30 сек; элонгация - 72°C, 40 сек; денатурация - 95°C, 30 сек. Экстракцию амплифицированных фрагментов после проведения ПЦР проводили с использованием набора CleanupMini («Евроген», Россия) методом элюции из геля в соответствии с рекомендациями фирмы производителя. Далее планируется индексирование ПЦР-фрагментов и передача образцов на NGS на платформе Illumina MiSeq.

Автор выражает благодарность к.б.н. Авданиной Дарье Александровне за научное руководство этой работой.

Источники и литература

- 1) I. L. Alexandrova, O. V. Shevchenko, M. Jasko, P. N. Solyev, I. Karpenko, S. Negrya, O. Efremenkova, B. F. Vasilieva, T. Efimenko, D. Avdanina, G. K. Nuraeva, M. P. Potapov, Vera I. Kukushkina, S. Kochetkov, A. Zhgun (2022). 3'-Amino modifications enhance antifungal properties of N4-alkyl-5-methylcytidines for potential biocides. *New Journal of Chemistry*. DOI:10.1039/d1nj04312a.