**Приложение № \_\_\_\_   
к приказу от "\_\_\_" \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_  
№ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Утверждаю   
Руководитель приоритетного направления  
\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_(ФИО)**

**Календарный план по проекту "НИЛ "Микробные биотехнологии""**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **Перечень работ и мероприятий проекта** | **Наименование мероприятия Программы повышения конкурентоспособности КФУ или СИ** | **Сроки выполнения работ** | **Цена выполняемых работ и мероприятий, руб.** |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | а) Проведено генотипирование 31 линий нокаутов по генам-кандидатам на хромосоме 5 *Arabidopsis thaliana*. Обнаружены растения-гомозиготы по интересующим генам. Идентифицированы гены-кандидаты, ответственные за QTL эффект вариации длины хромосом. Методами Southern blot, PETRA и FUSION PCR описан теломерный фенотип нокаутов по генам-кандидатам.  Методами Southern blot, PETRA и FUSION описан и подтвержден теломерный фенотип TRFL2 и TRFL3 нокаутов *Physcomitrella patens*.  Б) Получение векторной конструкции на основе гена фитазы P. agglomerans, включающей растительный промотор Pht1;2 и растительный сигнальный пептид. Агробактериальная трансформация экспрессионных векторов в растения A. thaliana, отбор гомозиготных по интегрированному гену фитазы линий растений третьего поколения  Выделение мРНК корней модифицированных растений и получение кДНК для анализа экспрессии бактериальных генов фитаз на уровне транскрипции (ОТ-ПЦР).  Секвенирование и аннотация геномов изолятов, обладающих высоким антимикробным потенциалом. Сравнительный анализ геномов выделенных штаммов с геномами известных патогенов растений для определения потенциала патогенности. Идентификация генов, ответственных за синтез антимикробных соединений.  Определение спектра метаболитов с антибиотической активностью. Выделение и очистка пептидных антибиотиков. Изучение их биосинтеза и влияния на различные фитопатогенные микроорганизмы.  Идентификация и характеристика штаммов с высокой секрецией органических кислот, способствующих подавлению роста патогенной микрофлоры. Выяснение роли микробных метаболитов в защите растений от патогенов. Определение способности изолированных штаммов бактерий к биосинтезу стимуляторов роста растений и фитогормонов.  Показано, что эффлюкс система МасАВ Serratia marcescens активируется в ответ на присутсвие в среде перекиси водорода. Установлено, что естественным субстратом эффлюкс системы МасАВ Serratia marcescens SM6 является низкомолекулярное соединения размером менее 10 кДа белковой или пептидной природы. Отработана методика концентрации низкомолекулярных соединений из культуральной жидкости S. marcescens. Получены и очищены при помощи ВЭЖХ фракции сидерофоров Serratia marcescens, показано, что некоторые из фракций содержат сидерофоры катехольного ряда. Продемонтрирована важность форматного метаболизма Salmonella Typhimurium при инфекции цыплят.  б) Закуплено оборудование:Микроскоп инвертированный Eclipse TS 100-F;Камера для горизонтального (ДНК) электрофореза Mini-Sub Cell GT System, 7 x10 см, с залив. столиком;Мешалка магнитная с подогревом BS MSH-300 125-1250 об/мин (2 штуки); Холодильник Indesit BIA 20 NF (2 штуки); Морозильная камера Indesit SFR 167 Термостат жидкостной (баня), 7л, GFL-1002, с микропроцессором; Ламинарный шкаф Kojair Tech Oy NU-437-400E; Аспиратор с набором насадок GSAS F110741; Камера для горизонтального (ДНК) электрофореза Sub-Cell GT 15x10 см, 15 c залив. столик , Bio-Rad; Термостат твердотельный 'Гном' , ТТ-1-?ДНК-Техн.?; Весы прецизионные OH-PA512C ?Pioneer? рН-метр + электрод ?Hanna Instruments? HI 2210; Центрифуга BS-Microspin 14500 об/мин на 12х1.5/2 мл; Центрифуга на 24 образца Micro 120 (Hettich, Герамания); Микроволновая печь Rolsen MG2380S; Центрифуга с охлаждением ?Hermle Labortechnik GmbH? серия Z 32 модель 6 К Шейкер-рокер BS-010130-AAI MR-12, BioSan; Шейкер-инкубатор BS-010111-AAА ES-20/UP-12 BioSan (2 штуки); Миниротатор Multi BioRS-24 программируемый с платформой PRS-26, BioSan;  в) Стажировка И.Б. Частухиной в Техасском университете, A&M (США).  г) Опубликовано 7 статей    Lovell J.T., Schwartz S., Lowry D.B., Shakirov E.V., Jenkins J., Schmutz J., Juenger T.E.  Drought responsive gene expression regulatory divergence between upland and lowland ecotypes of a perennial C4 grass  Genome Research, 2016 March 7. doi:10.1101/gr.198135.115 (IF=14.63)    Yang H.J., Bogomolnaya L.M., Elfenbein J.R., Endicott-Yazdani T., Reynolds M.M., Porwollik S., Cheng P., Xia X.Q., McClelland M., Andrews-Polymenis H.  Novel two-step hierarchical screening of mutant pools reveals mutants under selection in chicks.  Infect Immun. 2016 Feb 8. pii: IAI.01525-15. PMID:26857572 (IF=3.73)    Балабан, Н.П. Структурные особенности и механизм катализа β-пропеллерных фитаз бацилл. [Текст] / Н.П. Балабан, А.Д. Сулейманова, Л.Р. Валеева, Е.В. Шакиров, М.Р. Шарипова // Биохимия. – 2016. - Т.81, № 8. - С.1013-1022. WoS, Scopus, ВАК  Рудакова, Н.Л. Особенности экспрессии гена металлоэндопептидазы Bacillus pumilus [Текст] / Н.Л. Рудакова, А.Р. Сабирова, Н.П. Балабан, А.О. Тихонова, М.Р. Шарипова // Биохимия. – 2016. - Т.81, № 8. - С.1125-1132. (принята в печать) WoS, Scopus, ВАК  Тойменцева, А.А. Получение рекомбинантных протеиназ Bacillus pumilus, расщепляющих β-амилоидный пептид [Текст] / А.А. Тойменцева, Ю.В. Данилова, А.О. Тихонова, М.Р. Шарипова, Н.П. Балабан // Биоорганическая химия. – 2016. - Т.42, №1. - С.62-68. (включена в отчет 2015 года, т.к. должна была выйти в 2015). WoS, Scopus, ВАК  Низамутдинова Э.Х. Характеристика нативных и мутантных штаммов Serratia marcencens [Текст] /Э. Х. Низамутдинова, Т. В. Ширшикова, А. М. Марданова, М. Р. Шарипова, Л. М. Богомольная // Микробиология. МАИК НАУКА/ИНТЕРПЕРИОДИКА. – 2016 – Т.85 – N 1. – С. 36-41. ( SCOPUS, Google Scholar)  Матросова, Л.Е. Роль эффлюкс системы в защите бактерий от оксидативного стресса / Л.Е. Матросова, Т.В. Ширшикова, И.В. Хиляс, Ю.В. Данилова, М.Р. Шарипова, Л.М. Богомольная // Проблемы медицинской микологии. - 2016. - №2 (РИНЦ, ВАК) | 2.2.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация грантовой программы привлечения талантливых молодых исследователей России и мира / Программа грантов для молодых исследователей на конкурсной основе  2.1.1 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Реализация грантовой программы привлечения пост-доков на конкурсной основе из российских и зарубежных университетов и научных организаций  2.1.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Создание системы внутренних пост-доковских позиций в КФУ  2.3.4 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Участие в международных, российских, региональных и собственных программах академической мобильности / Модернизация программ повышения квалификации НПР КФУ, организация стажировок в ведущих исследовательских центрах  4.2.2 Развитие прорывных направлений исследований и разработок, отказ от неэффективных направлений деятельности / Создание исследовательских центров (лабораторий) для выдающихся ученых мирового уровня на базе ведущих институтов КФУ / Создание в КФУ новых и совместных научных лабораторий и НОЦ учеными - научными лидерами по приоритетным направлениям  2.1.3 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Разработка и реализация программ привлечения к работе в КФУ лиц из ведущих университетов и исследовательских центров исследователей- обладающих высокими значениями наукометрических индексов в сових предметных областях  2.4.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Повышение международной публикационной активности сотрудников КФУ. Продвижение КФУ в рейтинге QS по показателю 'Публикации сотрудников' / Стимулирование публикационной активности сотрудников КФУ | 01.01.16-30.06.16 | 9 100 000,00 |
| 2 | а) Проводится генотипирование 10 линий нокаутов A. thaliana по генам-кандидатам вариации длины хромосом и их аналогов. Проводится описание теломерного фенотипа нокаутов.  Конструируются комплементационные плазмиды генов TRFL2 и TRFL3 *Physcomitrella patens*. Проводятся пилотные эксперименты по совместному культивированию *Physcomitrella patens* и клеток животных (МСК мыши, фиброласты человека).  Проводится анализ секретома экотипов *Arabidopsis thaliana*, выращенных на различных источниках фосфора.  Проводится анализ физиологии и длины теломер 19 экотипов *Arabidopsis thaliana* при росте на различных источниках фосфора.  Cоздание музея из штаммов бацилл, обладающих антагонистической и фитат-гидролизующей активностями.  Отбор штаммов бацилл для использования в качестве основы биопрепаратов-пробиотиков с выраженной антагонистической и фитат-гидролизующей активностями. Исследование штаммов бацилл на патогенные свойства: вирулентность,токсичность, токсигенность. Подбор оптимальных условий роста штаммов-изолятов с пробиотической активностью .  Будет разработана система экспрессии для получения бактериальных фитаз и протеаз на основе интегративных бинарных дрожжевых векторов pPink. Для интеграции в геном дрожжей полученные конструкции будут линеализированы и трансформированы в беспротеазные штаммы Pichia pastoris. Будет проведен подбор условий электропорации для создания стабильных рекомбинантных штаммов Pichia pastoris – продуцентов гетерологичных фитаз и протеаз.  Оценка экспрессии бактериальных фитаз в модифицированных растениях с помощью иммуноблоттинга, установление локализации и молекулярной массы рекомбинантных белков. Оценка потенциала штаммов для профилактики и борьбы с инфекционными болезнями сельскохозяйственных культур в экспериментах с модельными растениями  Проводятся работы по идентификации естественного субстрата эффлюкс системы МасАВ, присутствующего в низкомолекулярной (до 10 кДа) фракции культуральной жидкости и идентифицированы кандидаты на роль этого субстрата.  Проводятся работы по систематической инактивации генов синтетаз сидерофоров Serratia marcescens с целью идентификации генных кластеров, вовлеченных в синтез отдельных сидерофоров, а также с целью поиска сидерофоров, вовлеченных в защиту Serratia marcescens от оксидативного стресса. Планируется детальный анализ выделенных сидерофоров Serratia marcescens в результате совестных исследований с коллегами из университета города Warwick (Великобритания)  б) Стажировка И. Хиляс в университете города Warwick (Великобритания).  в) Планируются к публикации статьи:  Lovell J.T., Shakirov E.V., Schwartz S., Lowry D.B., Aspinwall M.J., Taylor S.H., Bonnette J., Palacio-Mejia J.D., Hawkes C.V., Fay P.A., Juenger T.E.  Promises and challenges of eco-physiological genomics in the field: tests of drought responses in switchgrass  Plant Physiol. 2016 doi:10.1104/pp.16.00545 (IF=6,841)  "Selection of efficient Taq DNA polymerase to optimize T-DNA genotyping method for rapid detection of mutant Arabidopsis thaliana plants". Inna B. Chastukhina, Liliya R. Nigmatullina, Lia R. Valeeva, Eugene V. Shakirov. BioNano Science  "Cloning and heterologous expression of phytase gene from Pantoea sp. 3.5.1" Aliya Suleimanova, Ph.D.; Inna B. Chastukhina; Liia R. Valeeva; Darja L. Itkina; Margarita R. Sharipova.  Minnullina L.F. The hemolytic properties of clinical isolates of Morganella morganii / L.F. Minnullina, M.H. Al Allak, S.Y. Khaitlina, M.R. Sharipova, A.M. Mardanova // Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. - V. 7. - 2016.  Khamaletdinova. Inactivation of chromosomal genes in Serratia marcescens / E. K. Nizamutdinova, T. V. Shirshikova, I. M. Skipina, L. M. Bogomolnaya // BioNanoScience 2016  Non-radioactive TRF assay modifications to improve telomeric DNA detection efficiency in plants Liliia R. Nigmatullina , Margarita R. Sharipova , Eugene V. Shakirov. BioNanoScience.  Lilia E. Matrosova, Irina V. Khilyas, Tatiana V. Shirshikova, Lydia M. Bogomolnaya. Virulence of pigmented Serratia marcescens strain SM6 and its nalidixic acid-resistant derivative in white outbred mice. 2016 BioNanoScience  Tatiana V. Shirshikova\*, Olga V. Morozova\*, Leisan Kh. Kamaletdinova, Margarita R. Sharipova, Lydia M. Bogomolnaya Generalized bacteriophage transduction in Serratia marcescens.2016 BioNanoScience  Irina V. Khilyas, Tatiana V. Shirshikova, Lilia E. Matrosova, Yulia V. Danilova, Margarita R. Sharipova, Lydia M. Bogomolnaya Production of siderophores by Serratia marcescens and the role of MacAB efflux pump in siderophores secretion. 2016 BioNanoScience  Lan Thi Din, N.L. Rudakova, M.R. Sharipova EFFECT OF CULTIVATION CONDITIONS ON BIOFILM FORMATION OF BACILLUS SUBTILIS. 2016 RESEARCH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL, BIOLOGICAL AND CHEMICAL SCIENCES  HETEROLOGOUS EXPRESSION OF PANTOEA AGGLOMERANS PHYTASE GENE OPTIMIZED FOR PLANT-HOST EXPRESSION  N.N. Khabipova, L. R. Valeeva, I.B. Chastukhina, M. R. Sharipova, E.V. Shakirov. 2016 International journal of Advanced biotechnology and Research  Arabidopsis thaliana ecotypes vary in their ability to utilize organic P substrates. L. Nigmatullina , I. Chastukhina , M. Sharipova , E. Shakirov. 2016 FEBS J.  Expression of bacterial phytase in Arabidopsis thaliana plants. Liia R. Valeeva, Nyamsuren Chuluunceceg, Margarita R. Sharipova, Eugene V. Shakirov 2016 FEBS J.  Irina V. Khilyas, Tatyana V. Shirshikova, Liliya E. Matrosova, Yulia V. Danilova, Margarita R. Sharipova, Lydia M. Bogomolnaya Genomic comparison of siderophore diversity in clinical and environmental isolates of Serratia marcescens. 2016 FEBS J.  T.V. Shirshikova, L.E. Matrosova, O.V. Morozova, I.V. Khilyas, M.R. Sharipova, L.M. Bogomolnaya The role of MacAB efflux pump in protection of Serratia marcescens against antibiotics and oxidative stress. 2016 FEBS J.  A.M. Mardanova, G.F. Hadieva, M.T. Lutfullin, L.F. Minnullina, A.G. Gilaseva, I.V. Khilyas, L.M. Bogomolnaya and M.R. Sharipova Bacillus subtilis strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. 2016. Journal of applied microbiology. | 2.1.3 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Разработка и реализация программ привлечения к работе в КФУ лиц из ведущих университетов и исследовательских центров исследователей- обладающих высокими значениями наукометрических индексов в сових предметных областях  2.3.4 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Участие в международных, российских, региональных и собственных программах академической мобильности / Модернизация программ повышения квалификации НПР КФУ, организация стажировок в ведущих исследовательских центрах  4.2.2 Развитие прорывных направлений исследований и разработок, отказ от неэффективных направлений деятельности / Создание исследовательских центров (лабораторий) для выдающихся ученых мирового уровня на базе ведущих институтов КФУ / Создание в КФУ новых и совместных научных лабораторий и НОЦ учеными - научными лидерами по приоритетным направлениям  2.1.1 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Реализация грантовой программы привлечения пост-доков на конкурсной основе из российских и зарубежных университетов и научных организаций  2.2.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация грантовой программы привлечения талантливых молодых исследователей России и мира / Программа грантов для молодых исследователей на конкурсной основе  2.1.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Реализация программы предоставления грантов и программ обмена исследователями с ведущими университетами и исследовательскими центрами / Создание системы внутренних пост-доковских позиций в КФУ  2.4.2 Привлечение внешних специалистов и развитие ключевого персонала вуза, рост качества исследовательского и профессорско-преподавательского состава / Повышение международной публикационной активности сотрудников КФУ. Продвижение КФУ в рейтинге QS по показателю 'Публикации сотрудников' / Стимулирование публикационной активности сотрудников КФУ | 01.07.16-31.12.16 | 3 800 000,00 |

|  |  |
| --- | --- |
| Руководитель проекта \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ (М.Р. Шарипова) |  |