

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПРОФАГОВ В ГЕНОМАХ ШТАММОВ *BACILLUS PUMILUS*

Д.С. Пудова, А.А. Тойменцева, М.Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Штамм *B. pumilus* 7P был выделен из почв Республики Татарстан, как продуцент внеклеточной рибонуклеазы. Приобретение штаммом 7P устойчивости к стрептомицину привело к появлению мутантного штамма 3–19 с увеличенной активностью гидролитических ферментов (протеиназ, фосфатазы и рибонуклеазы). На сегодняшний день, упрощение и снижение стоимости промышленного производства ферментов является актуальной задачей для биотехнологии. С целью получения эффективной экспрессии генов ферментов мы планируем провести редактирование геномов *B. pumilus* путем использования метода CRISPR/Cas9. С помощью данной системы появилась возможность удалять специфические последовательности генов с высокой точностью и эффективностью, создавая при этом мутантные штаммы с необходимыми свойствами. При этом одной из проблем данного метода является трансформация природных штаммов. Низкая эффективность трансформации может быть связана с динамической частью бактериального генома. Известно, что многие биотехнологически важные бактериальные культуры инфицированы бактериофагами, которые способны влиять на свойства бактерий. Целью данного исследования являлось идентификация последовательностей профагов в геномах двух штаммов *B. pumilus* 7P и 3–19.

Полногеномное секвенирование двух штаммов проводили на платформах Ion Torrent, 454 GS Junior и Oxford Nanopore MinION, что обеспечило общее покрытие геномов равное 42х. Фильтрацию ридов по качеству проводили с использованием программы Trimmomatic v0.32. Сборку генома проводили с использованием геномного ассемблера SPAdes v. 3.12.0, качество сборки проверяли с помощью программы QUAST v. 2.3. В результате сборки длина геномов штаммов *B. pumilus* 7P и 3–19 составила 3.62 и 3.61 Мб соответственно. Финальные сборки занесены в базу данных NCBI под номерами CP058911.1 для 7P и CP054310.1 для 3–19. Поиск областей профагов в бактериальных геномах проводили с использованием инструментов PHAge Search Tool – Enhanced Release (PHASTER) и PhiSpy со стандартными параметрами анализа. Анализ двух геномов показал отсутствие значительных различий между штаммами. С помощью программы PHASTER в геномах было выявлено наличие пяти профаговых регионов, два из которых (Vp1 и Vp2) были признаны “достоверными”. Наличие последовательностей профагов Vp1 и Vp2 также подтверждены программой PhiSpy. Содержание GC-пар в предсказанных фаговых регионах (<40.0 %) отличалось от GC-состава всего бациллярного генома штаммов равного 41,9 %. Это подтверждает, что данные участки ДНК попали в геном извне, т. е. являются мобильными элементами. Более 50 % белков Vp1 профагового региона сходны с белками умеренного бациллярного фага φ105, который был идентифицирован в геноме *B. subtilis* 168. Известно, что наличие этого профага связано с низкой эффективностью трансформации бактерий *B. subtilis* [1] и репрессией механизма горизонтального переноса генов [2]. Таким образом, присутствие профага Vp1 в геномах штаммов могло повлиять на механизм естественной компетентности бактерий *B. pumilus*.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета и поддержана грантом РФФИ № 19–08–00853 (А).

Литература

1. Garro, A.J. Relationship Between Lysogeny, Spontaneous Induction, and Transformation Efficiencies in *Bacillus subtilis* / A.J. Garro, M.F. Law // *J. Bacteriol.* – 1974. – V.120. – P.1256–1259.
2. Bose, B. A conserved anti-repressor controls horizontal gene transfer by proteolysis / B. Bose, J.M. Auchtung, C.A. Lee, A.D. Grossman // *Mol. Microbiol.* – 2008. – V.70. – P.570–582.