

СБОРКА DE-NOVO И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ШТАММОВ *BACILLUS PUMILUS* – ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

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

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Протеиназы являются универсальными гидролитическими ферментами, которые благодаря повсеместному распространению, устойчивости к различным условиям среды и широкой субстратной специфичности, находят применение в медицине, пищевой промышленности и биотехнологии. Штамм *Bacillus pumilus* 7P был идентифицирован как продуцент рибонуклеазы и различных внеклеточных протеиназ. Для получения суперпродуцента промышленно важных ферментов штамм 7P культивировали на среде с антибиотиками. Полученный при этом штамм 3–19, устойчивый к стрептомицину, приобрел способность к повышенному синтезу гидролитических ферментов, в том числе и протеиназ. Целью данной работы является полная сборка, аннотация и сравнение геномов двух штаммов.

Полногеномное секвенирование штаммов *B. pumilus* 3–19 и 7P проводили на платформах Ion Torrent, 454 GS Junior и Oxford Nanopore MiniION, что обеспечило общее покрытие геномов в 50x (для 3–19) и 42x (для 7P). Сборку генома проводили с использованием геномного ассемблера SPAdes v. 3.12.0, качество сборки проверяли с помощью программы QUAST 2.3. В результате были получены полные сборки геномов, каждый длиной 3.61 Мб, которые депонировали в базу данных NCBI под номерами CP054310.1 для штамма 3–19 и CP058911.1 для штамма 7P. Для подтверждения филогенетической принадлежности штаммов рассчитывали значение средней нуклеотидной идентичности (ANI) между анализируемыми геномами и 12 закольцованными геномами других штаммов *B. pumilus*, доступных в базе данных NCBI. Исследуемые штаммы показали максимальное значение идентичности (98,5 %) со штаммами *B. pumilus* ZB201701 и PDSLzg-1. Аннотацию генома проводили, используя программу Prokka 1.11. Наличие в геномах штаммов генов протеолитических ферментов устанавливали с помощью базы данных MEROPS. В результате в геномах было найдено по 143 гена протеиназ, среди которых 12 генов кодируют внеклеточные ферменты. Потенциал штаммов, по продукции антибиотиков и вторичных метаболитов, определяли, используя сервер antiSMASH. В геномах было идентифицировано по 3 кластера генов для терпеноид-подобных веществ, кластеры биосинтеза микроцина и бактериоцина, которые обладают значительными антибиотическими свойствами. Для поиска уникальных для штамма 3–19 мутаций проводили полногеномное выравнивание геномов двух штаммов. С помощью программы SNPEff v. 4.3 было идентифицировано 20 радикальных нуклеотидных замен (SNP) в геноме штамма 3–19. Среди них обнаружены мутация в 56 кодоне гена *gpsL*, кодирующего белок S12 30S рибосомы, которая, вероятно, является причиной устойчивости штамма 3–19 к стрептомицину. Кроме того, мутации в генах *groB*, кодирующем РНК-полимеразу, и *nusA*, кодирующем фактор терминации транскрипции Rho, могут быть связаны с повышенной активностью ферментов.

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и поддержана грантом РФФИ № 19–08–00853 (А).