

Полногеномный сравнительный анализ штаммов *Bacillus pumilus*

Баранова Дарья Сергеевна

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: DashulyaBaranova@mail.ru

Протеиназы - это ферменты класса гидролаз, расщепляющие пептидные связи. Они широко используются в медицине, пищевой промышленности и биотехнологии. Известен штамм *Bacillus pumilus* 3-19 - активный продуцент различных гидролитических ферментов - субтилизиноподобной протеиназы, глутамилэндопептидазы, металлопротеиназы, щелочной рибонуклеазы, фосфатазы. В отличие от своего природного предшественника (штамма *Bacillus pumilus* 7p) штамм 3-19 вместе с приобретением устойчивости к антибиотикам стрептомицину приобрел способность к повышенному синтезу некоторых внеклеточных ферментов, в том числе протеаз.

Целью данного исследования является определение взаимосвязи между устойчивостью к антибиотикам и увеличением протеолитической активности у штамма *B. pumilus* 3-19.

Проведено полногеномное секвенирование двух штаммов *B. pumilus* на платформах Ion Torrent и GS Junior. Сборка производилась с использованием геномного ассемблера Newbler 3.0. В результате геномы были собраны в 8 (штамм *Bacillus pumilus* 3-19) и 9 скаффолдов (штамм *Bacillus pumilus* 7p) длиной больше 500 п.о. и занесены в базу данных NCBI под номерами JOJX00000000.2 и JHUD00000000.2, соответственно. Качество сборки проверяли с помощью программы QUAST 2.3.

Аннотацию геномов проводили, используя автоматическую систему аннотации NCBI PGAAP и программу Prokka 1.11. Для определения качественного и количественного состава протеолитических ферментов в геномах двух штаммов была выбрана база данных MEROPS, так как она является наиболее универсальной среди известных баз данных по протеолитическим ферментам. В результате установили, что качественный и количественный составы протеаз у двух штаммов не различаются. Всего выявлено 143 протеиназы, среди которых 54 сериновых протеиназ, 48 металлопротеиназ и 26 цистеиновых протеиназ. Количество внеклеточных протеолитических ферментов определяли с помощью базы данных SignalP 4.1. Выявили 29 внеклеточных протеаз, большинство которых относится к семейству сериновых протеиназ.

Поиск однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) проводили, используя программу SAMtools 0.1.19 с последующим аннотированием их с помощью программы SnpEff 3.3. В результате выравнивания геномов *B. pumilus* 7P и 3-19 на геном *B. pumilus* SAFR-032 (выбран в качестве референса после сравнения исследуемых геномов с базой данных EMBL; идентичность составила 93%) найдено 479 позиций с SNP в геноме *Bacillus pumilus* 3-19, которые привели к замене аминокислот. Из них 25 позиций отсутствовали в геноме *Bacillus pumilus* 7P. Предположили, что за устойчивость к стрептомицину у штамма *B. pumilus* 3-19 отвечает мутация в гене, кодирующий белок S12 30S рибосомы. Кроме того найдена мутация в гене, кодирующем регулятор транскрипции, что может влиять на экспрессию генов протеиназ и, следовательно, на их активность.