

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 57.063.8:579.84

**РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ
В ГЕНОМАХ ГЕТЕРОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭПИЛИТИЧЕСКИХ БИОПЛЕНОК ОЗЕРА БАЙКАЛ****Е.В. Суханова^{*}, Е.А. Зименс, В.В. Парфенова, О.И. Белых***Лимнологический институт СО РАН, Россия, 664033, г. Иркутск, Улан-Баторская, д. 3***e-mail: sukhanovalena17@gmail.com*

Многие вторичные метаболиты бактерий, включая перспективные в фармакологическом отношении, синтезируются с помощью ферментных комплексов поликетидсинтаз (PKS). В работе определены нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК и PKS у штаммов гетеротрофных бактерий, выделенных из эпилитических биопленок, сформированных в литоральной зоне озера Байкал. По результатам молекулярно-филогенетического анализа генов 16S рРНК установлена следующая таксономическая принадлежность изолированных штаммов: *Serratia fonticola* 1A и 10A, *Pseudomonas umsongensis* K10-2 и K10-3, *Rheinheimera tilapiae* K18 и *Flavobacterium* sp. 43-09. У исследуемых штаммов определены 33 последовательности фрагментов генов, кодирующих PKS. Среди гомологичных нуклеотидных последовательностей обнаружены гены, ответственные за биосинтез антибиотиков (диффицидина, эритромицина, курацина, миксаламида, кораллопиронина, миксатиазола) и цитостатиков (ромидепсина, спирохостатина, дисоразола). Невысокое сходство (50–83%) аминокислотных последовательностей PKS байкальских бактерий с опубликованными в GenBank последовательностями свидетельствует об их потенциальной способности продуцировать новые, до настоящего времени неизвестные, биоактивные соединения. Полученные результаты показывают, что исследуемые штаммы могут представлять практический интерес для биотехнологии.

Ключевые слова: гены поликетидсинтаз, 16S рРНК, гетеротрофные микроорганизмы, озеро Байкал, клонирование, эпилитические биопленки

Озеро Байкал – крупнейший и самый глубокий пресный водоем на Земле – характеризуется значительным биоразнообразием и высокой степенью эндемизма гидробионтов, уникальными экологическими особенностями и богатством биотопов, являясь своего рода природной лабораторией для изучения метаболического потенциала микробных сообществ. Известно, что микроорганизмы продуцируют огромное количество биологически активных веществ (БАВ), многие из которых используются в биологии и медицине. Показано, что микробные сообщества, населяющие разнообразные, большей частью уникальные и экстремальные, места обитания, служат важнейшим ресурсом новых и редких метаболитов [1–3]. В последнее время особое внимание при поиске новых БАВ уделяют микробным сообществам биопленок, так как известно, что 95–99% микроорганизмов в природных условиях существуют в виде специфически организованных, прикрепленных к субстратам микробных ассоциаций [4]. Биопленки, сформированные на камнях (эпилитические) – это, как правило, морфологически и физиологически гетерогенные структуры, отличающиеся богатым видовым составом и высокой численностью бактерий, которые проявляют многообразие метаболических путей и формируют сложную систему кооператив-

ного и конкурентного взаимодействия [5]. Очевидно, что поиск продуцентов различных БАВ в микробных сообществах биопленок является перспективным.

К настоящему времени показано, что широкий ряд вторичных метаболитов бактериального происхождения синтезируется мультидоменными ферментными мегасинтазами: поликетидсинтазами (PKS), синтетазами нерибосомных пептидов (NRPS) и их гибридными комплексами PKS/NRPS [6].

Поликетида характеризуется разнообразной химической структурой и функциональной активностью, среди них антибиотики, статины, ингибиторы роста опухолей и многие другие фармацевтически значимые соединения. Известно три типа PKS (I, II и III), различающиеся в зависимости от структуры и механизма катализа. PKS типа I организованы в модули, состоящие как минимум из трех доменов: кетоацилсинтазы (KS), ацилтрансферазы (AT) и ацил-переносящего белка (ACP). Каждый модуль отвечает за один цикл элонгации поликетидной цепи [6]. Для детекции и идентификации в геноме бактерий генов, ответственных за синтез вторичных метаболитов поликетидной природы, успешно используют праймеры, специфичные к консервативным участкам KS-домена PKS [1, 3, 7]. Например, подобный подход был применен для

изучения микроорганизмов, ассоциированных с гидробионтами озера Байкал [9, 10]. Авторы показали, что в метагеномном сообществе байкальских эндемичных губок *Lubomirskia baicalensis* и *Swartschewskia papyracea* присутствуют последовательности генов, кодирующих биосинтез курацина А, стигмателлина и ностофицина [8, 9]. В геномах 9 из 14 культур родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Variovorax*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus*, выделенных из *L. baicalensis*, выявлены гены PKS и NRPS [10].

Цель данной работы – оценка разнообразия генов поликетидсинтаз в геномах гетеротрофных бактерий, выделенных из эпилитических биопленок озера Байкал.

Материалы и методы

Изучены шесть штаммов гетеротрофных бактерий из коллекции лаборатории водной микробиологии Лимнологического института СО РАН, выделенных из эпилитических биопленок. Пробы биопленок отобраны в прибрежной зоне озера Байкал около пос. Листвянка и в проливе Малое Море в 2012 г. Штаммы предварительно идентифицированы по морфологическим и физиолого-биохимическим признакам и на основе определения последовательностей генов 16S рРНК как представители родов *Rheinheimera*, *Pseudomonas*, *Serratia* (Proteobacteria) и *Flavobacterium* (Bacteroidetes).

Выравнивание последовательностей генов 16S рРНК (длина 1429 п.н.) и построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью пакета программ Mega 6.06, применяя метод максимального правдоподобия (двухпараметрическая модель Кимуры). Бутстреп-поддержка была рассчитана на 1000 реплик.

Для поиска и идентификации генов PKS ДНК выделяли из 100 мкл суточной культуральной суспензии по протоколам производителя с помощью набора “ДНК-сорб В” (“Роспотребнадзор”, Россия). Амплификацию фрагментов KS-доменов генов PKS проводили, используя вырожденные праймеры DK-F (5'-GTGCCGGTNC CRTGNGYYTC-3') и DK-R (5'-GCGATGGAYCCNCARCARYG-3') в режиме, описанном ранее [8]. Ампликоны визуализировали в 1%-ном агарозном геле с помощью трансиллюминатора (VL-6.МС, Франция). ПЦР-фрагменты клонировали в векторе pJET1.2/blunt (CloneJET PCR Cloning Kit, Fermentes, Литва), после чего проводили трансформацию компетентных клеток штамма *E. coli* DH-5 α .

Нуклеотидные последовательности определяли на генетическом анализаторе 3500xL (Applied Biosystems, США). Сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью пакета программ BLASTX и BLASTP.

Нуклеотидные последовательности фрагментов генов PKS (33 шт.) депонированы в GenBank под номерами: LT220194–LT220203, LT555230–LT555239, LT555293–LT555305.

Результаты и обсуждение

Филогенетический анализ генов 16S рРНК. BLAST-анализ последовательностей нуклеотидов 16S рДНК *Serratia* spp. 1А и 10А из озера Байкал показал 99,8% сходства с типовыми штаммами *Serratia fonticola* DSM 4576 и *Serratia glossinae* DSM 22080T. Последовательности генов 16S рРНК байкальских изолятов и данных штаммов формировали на древе совместный кластер (рисунок). Бактерия *S. glossinae* выделена в 2010 г. из кишечника мухи цеце (*Glossina palpalis gambiensis*), которая известна как переносчик трипаносом – возбудителей сонной болезни в африканских странах [11], *S. fonticola* изолирована из питьевой воды в 1979 г. [12]. Позднее по результатам физиолого-биохимических тестов и гибридизации ДНК установили, что *S. fonticola* и *S. glossinae* не имеют существенных отличий и поэтому являются синонимичными видами [13]. Таким образом, принимая во внимание полученные нами результаты и литературные данные, байкальские штаммы *Serratia* spp. 1А и 10А мы определили как вид *S. fonticola*.

BLAST-анализ последовательностей гена 16S рРНК штаммов *Pseudomonas* spp. К10-2 и К10-3 выявил их идентичность (100%) с типовым видом *Pseudomonas umsongensis* Ps3-10, выделенным из кислых сельскохозяйственных почв в Корее. При культивировании вид отличался способностью восстанавливать нитраты и расти при 4°C [14]. На филогенетическом древе последовательности гена 16S рРНК штаммов *Pseudomonas* из озера Байкал и *P. umsongensis* Ps3-10 группировались в общий кластер (рисунок).

При сравнении нуклеотидной последовательности 16S рДНК *Rheinheimera* sp. К18 с последовательностями из банка данных определено высокое сходство (99,3%) с видом *Rheinheimera tilapiae* Ruye-90, изолированным из кишечника теляпии (*Tilapia rendalli*), культивируемой в пруду на Тайване [15]. Последовательность гена 16S рРНК штамма *Rheinheimera* sp. К18 образовала на древе сестринскую ветвь с *R. tilapiae* Ruye-90 (рисунок). Предварительно штамм *Rheinheimera* sp. К18 был отнесен к виду *R. tilapiae*.

Последовательность гена 16S рРНК штамма *Flavobacterium* sp. 43-09 из эпилитических биопленок озера Байкал сформировала сестринскую ветвь с антарктическим видом *Flavobacterium hibernum* ATCC 51468 (рисунок) [16]. При этом сходство генов 16S рРНК байкальского изолята и *F. hibernum* составило 98%, а с *Flavobacterium* sp. JRM, выделенным из ледового покрова реки Саскуэханна в США – 99,9%. Последний по данным полногеномного секвенирования назван *Flavobacterium falloni*. К этому же виду, очевидно, относится и выделенный нами штамм *Flavobacterium* sp. 43-09.

Идентификация генов PKS. Для исследованных шести штаммов гетеротрофных бактерий из озера Байкал определены 33 нуклеотидные последова-

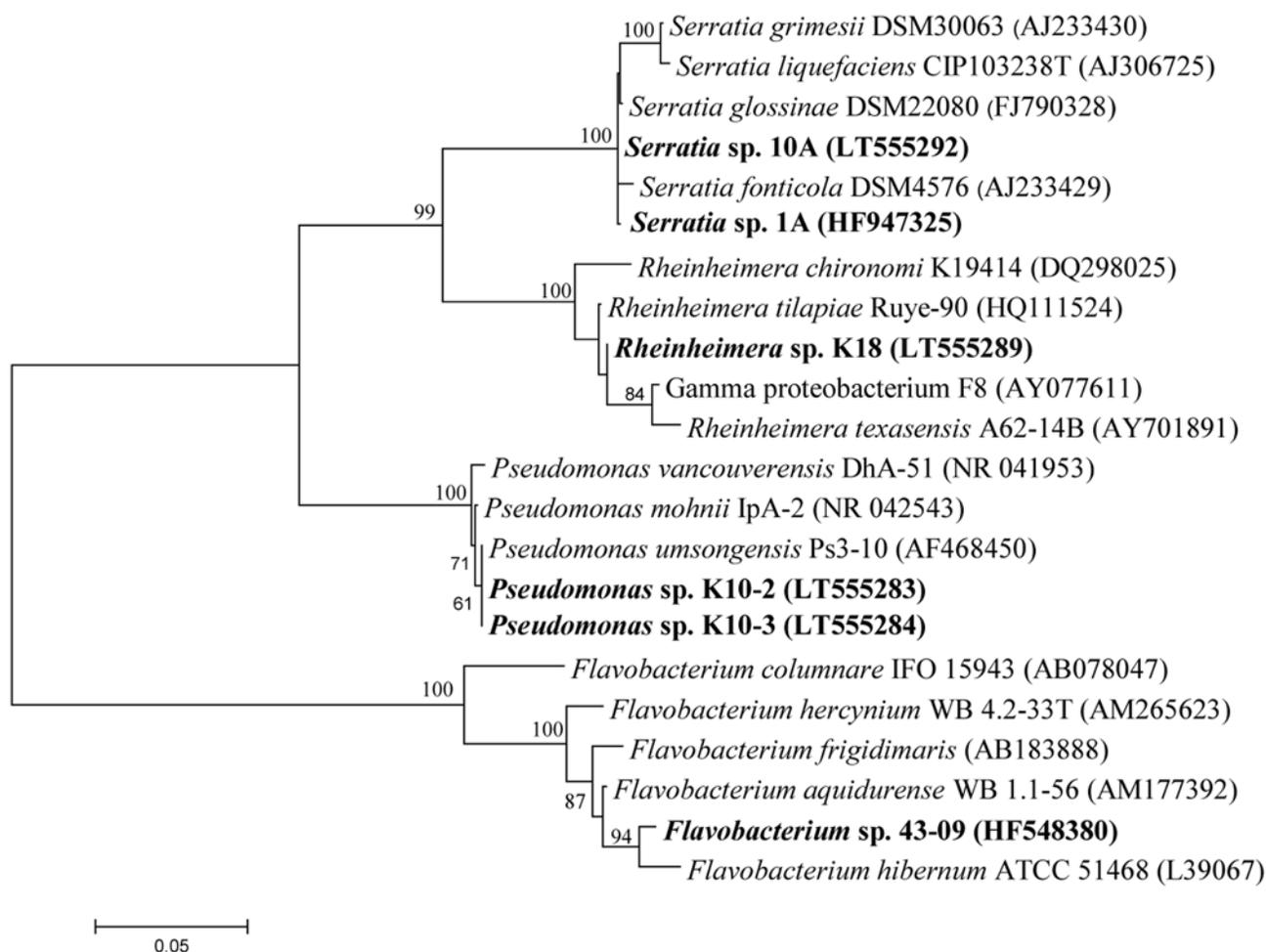


Рисунок. Филогенетическое древо, построенное на основе сравнения фрагментов генов 16S рРНК длиной 1429 п.н. представителей родов *Serratia*, *Pseudomonas*, *Rheinheimera* и *Flavobacterium*. Последовательности, полученные в данном исследовании, выделены жирным шрифтом

тельности генов PKS, которые сходны с гомологичными последовательностями из базы данных GenBank на 72–100%. Ближайшие аминокислотные

последовательности, выявленные с помощью BLASTP-анализа, представлены в табл. 1, идентифицированные PKS приведены в табл. 2.

Таблица 1

Ближайшие гомологи для последовательностей генов PKS микроорганизмов озера Байкал

Название штамма	Номер клона	Результаты BLASTP-анализа	
		Ближайшие гомологи	Гомология, %
<i>Serratia fonticola</i> 1A и 10A	1A-1; 1A-3; 1A-7; 1A-10; 1A-11; 1A-12; 1A-13; 10A-6; 10A-7	Поликетидсинтаза <i>Burkholderia</i> sp. TSV86 (WP_059568895)	80–81
	1A-2	Поликетидсинтаза <i>Burkholderia thailandensis</i> (WP_043296479)	82
	1A-4; 1A-6; 1A-9	Поликетидсинтаза <i>Burkholderia thailandensis</i> E264 (ABC38737)	85
	1A-5	Поликетидсинтаза <i>Enterobacter cloacae</i> (WP_063925842)	96
	10A-1; 10A-2; 10A-4; 10A-5; 10A-8	Поликетидсинтаза <i>Burkholderia thailandensis</i> (WP_059844334)	84–85
	10A-3	Поликетидсинтаза <i>Paenibacillus</i> sp. F6-B70 (ACT85958) Поликетидсинтаза <i>Paenibacillus polymyxa</i> (KJD37325)	73 72
<i>Pseudomonas umsongensis</i> K10-2 и K10-3	K10-2-1; K10-2-2; K10-3-1; K10-3-2; K10-3-6	Поликетидсинтаза <i>Pseudomonas putida</i> (ACN67520)	99–100

Окончание табл. 1

Название штамма	Номер клона	Результаты BLASTP-анализа	
		Ближайшие гомологи	Гомология, %
<i>Rheinheimera tilapiae</i> K18	K18-1; K18-2	Поликетидсинтаза <i>Rheinheimera</i> sp. F8 (ALZ75986)	93–94
	K18-3; K18-6	Поликетидсинтаза <i>Rheinheimera</i> sp. F8 (ALZ75984)	95
	K18-4; K18-5	Эритронолидсинтаза В Candidatus <i>Accumulibacter</i> sp. BA-92 (EXI82404) Поликетидсинтаза <i>Achromobacter</i> sp. RTa (WP_043548713)	78 78
<i>Flavobacterium</i> sp. 43-09	43-09-9; 43-09-15	Поликетидсинтаза <i>Flavobacterium</i> sp. JRM (WP_039119622)	97–99

Таблица 2

Гомологи с идентифицированными ферментами, близкородственные байкальским последовательностям PKS

Название штамма	Номер клона	Результаты BLASTP-анализа	
		Гомологи с идентифицированными PKS	Гомология, %
<i>Serratia fonticola</i> 1A и 10A	1A-1; 1A-3; 1A-7; 1A-10; 1A-11; 1A-12; 1A-13; 10A-6; 10A-7	Ромидепсинсинтаза DepC <i>Chromobacterium violaceum</i> 968 (ABP57747); Спирохостатинсинтаза SpiC1 <i>Pseudomonas</i> sp. Q71576 (AFR69333)	80 78
		Ромидепсинсинтаза DepB <i>Chromobacterium violaceum</i> 968 (ABP57746)	83
	1A-2; 1A-4; 1A-6; 1A-9; 10A-1; 10A-2; 10A-4; 10A-5; 10A-8	Дисоразолсинтаза DszA <i>Sorangium cellulosum</i> So ce12c (AAY32964)	50
	10A-3	Эритронолидсинтаза B <i>Dickeya</i> sp. NCPPB 3274 (WP_042861990)	70
		Диффицидинсинтаза DfnD <i>Bacillus</i> sp. 916 (EJD67453)	66
<i>Pseudomonas umsongensis</i> K10-2 и K10-3	K10-2-1; K10-2-2; K10-3-1; K10-3-2; K10-3-6	Эритронолидсинтаза B <i>Burkholderia</i> sp. BT03 (WP_024163149)	61
<i>Rheinheimera tilapiae</i> K18	K18-1; K18-2	Эритронолидсинтаза B <i>Methylobacter tundripaludum</i> SV96 (WP_006892897)	66
		Миксаламидсинтаза MxaE <i>Stigmatella aurantiaca</i> (AAK57189)	64
	K18-3; K18-6	Миксатиазолсинтаза MtaB <i>Stigmatella aurantiaca</i> DW4/3-1 (AAF19810)	59
		Курацинсинтаза, CurL <i>Lyngbya majuscula</i> 19L (AAT70107)	58
	K18-4; K18-5	Эритронолидсинтаза B <i>Accumulibacter</i> sp. BA-92 (EXI82404)	78
<i>Flavobacterium</i> sp. 43-09	43-09-9; 43-09-15	Дисоразолсинтаза DszA <i>Sorangium cellulosum</i> So ce12c (AAY32964)	57
		Кораллопиронинсинтаза CorB <i>Coralloccoccus coralloides</i> B035 (ADI59532)	56

Для штаммов *S. fonticola* 1A и 10A идентифицировано 12 и 8 последовательностей генов PKS, соответственно. Наибольшее сходство (72–96%) определенных нуклеотидных последовательностей наблюдается с генами бактерий родов *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Enterobacter* и *Paenibacillus* (табл. 1). Среди родственных последовательностей были определены гены, кодирующие синтез антибиотиков (эритромицин, диффицидин) и противоопухолевых

агентов (ромидепсин, спирохостатин, дисоразол). Процент гомологии последовательностей генов PKS *S. fonticola* с известными ферментами был относительно низким (50–83%) (табл. 2). Ранее для *S. fonticola* 1A показано наличие антагонистической активности против четырех условно-патогенных микроорганизмов: *Escherichia coli* M17-02, *Bacillus subtilis* ВКПМ, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecium* [17].

Восемнадцать последовательностей генов PKS штаммов *S. fonticola* 1A и 10A на 80–83% сходны с генами синтеза цитостатика ромидепсина (DerC и DerB). Ромидепсин – бициклический депсипептид, выделенный в 1994 г. в Японии из почвенной бактерии *Chromobacterium violaceum*. Это соединение производится фирмой Celgene как противоопухолевый лекарственный препарат “Истодакс” (Istodax) для лечения Т-клеточной лимфомы кожи и других периферических Т-клеточных лимфом. Ромидепсин ингибирует активность фермента гистондеацетилазы и, таким образом, индуцирует апоптоз лимфоцитов. Согласно последним исследованиям ромидепсин может быть использован для реактивации скрытого вируса иммунодефицита человека с целью истощения его популяции [18].

Некоторые виды *Serratia*, такие как *S. plymuthica*, *S. rubidaea*, *S. marcescens* и *S. nematodiphila*, образуют красный пигмент – продигиозин, представляющий собой алкалоидное соединение с антимикробными, противомаларийными, противоопухолевыми и иммунодепрессантными свойствами [19]. Кроме того, штаммы рода *Serratia* производят и другие полезные вторичные метаболиты, включая ооцидин А, карбапенем, альгиомицин, бактериоцины и серравиттины [19]. Серравиттины относятся к биоразлагаемым неионогенным поверхностно-активным веществам, чрезвычайно востребованным в промышленности. Новый почвенный вид *Serratia surfactantfaciens* sp., одновременно продуцирующий продигиозин и серравиттин, проявляет противомикробную активность, ингибирует развитие опухолей и полезен для биоремедиации [19].

В геномах штаммов *P. umsongensis* K10-2 и K10-3 идентифицированы 2 и 3 последовательности генов PKS, соответственно (табл. 1). Среди ближайших гомологов (99–100%) определена PKS типа I (ACN67520) из *Pseudomonas putida*, а также KS-домен кластеров биосинтеза эритромицина из *Burkholderia* sp. BT03 с гомологией 61% (табл. 2). Исследуемые штаммы рода *Pseudomonas* могут быть потенциально способными к синтезу новых БАВ, поскольку бактерии данного рода продуцируют 795 вторичных метаболитов, включая 610 антибиотиков и 185 веществ с широким спектром действия [19]. В числе продуцируемых соединений: мупироцин, пиролес, пирролидиндион, фторглюцинол, феназин, бензальдегид, хинолин, хинолон, фенантрен, фталат, римид, мурамиды, зафрин и бушрин [20, 21]. В байкальском штамме *P. fluorescens* 28Bb-06, выделенном из губки, обнаружены гены PKS, на 50–66% сходные с генами биосинтеза ерсиниабактина, ризоксина, дисоразола и эпотилона [22].

Для штамма *R. tilapiae* K18 предсказано шесть аминокислотных последовательностей PKS. Среди ближайших гомологов (93–95%) выявлены гены PKS, принадлежащие штамму *Rheinheimera* sp. F8, их последовательности определены в результате полно-

геномного секвенирования (табл. 1). Особенностью штамма *Rheinheimera* sp. F8, изолированного из биопленок реки Саскачеван (Канада), является образование стабильных нитей внеклеточной ДНК [23]. В числе последовательностей, родственных последовательностям байкальского штамма (с гомологией 58–78%), обнаружены гены PKS, синтезирующие антибиотики: эритромицин, миксаламид, курацин и миксотиазол (табл. 2). В настоящий момент метаболиты, синтезируемые PKS, у бактерий рода *Rheinheimera* не выявлены.

Две последовательности гена PKS определены в геноме штамма *Flavobacterium* sp. 43-09, они имеют высокую степень гомологии (97–99%) с генами PKS *Flavobacterium* sp. JRM (табл. 1). Таким образом, не только ген 16S рРНК, но и гены PKS являются близкородственными, что свидетельствует в пользу синонимичности штаммов *Flavobacterium* sp. 43-09 и *Flavobacterium* sp. JRM. Кроме того, в числе сходных последовательностей обнаружены гены синтеза антибиотика кораллопиронина и дисоразола (табл. 2), однако гомология с этими генами составила только 56–57%. В настоящее время не имеется сведений о синтезе вторичных метаболитов у представителей рода *Flavobacterium*. В геноме штамма *Flavobacterium* sp. TAB 87, выделенном из антарктических морских проб, найдено два кластера генов PKS типов I и III [24]. Таким образом, гены PKS детектируются в геномах *Flavobacterium*, однако БАВ, которые синтезируются данными PKS, не описаны; возможно, это вторичные метаболиты с новыми уникальными функциями.

Впервые в геномах бактерий *S. fonticola*, *P. umsongensis*, *R. tilapiae* и *Flavobacterium* sp., выделенных из эпиплитических биопленок озера Байкал, определены гены PKS, родственные генам биосинтеза антибиотиков (диффицидина, эритромицина, курацина, миксаламида, кораллопиронина, миксатиазола) и цитостатиков (ромидепсина, спирохостатина, дисоразола). Невысокий процент гомологии (50–83%) с известными генами PKS свидетельствует о потенциальной способности исследуемых штаммов продуцировать ряд новых, до настоящего времени еще не описанных, БАВ. Таким образом, исследуемые байкальские штаммы могут представлять практический интерес для биотехнологии. Для подтверждения наших предположений необходимо выделить индивидуальные соединения и установить их структуру, а также провести исследования их биологической активности.

Авторы выражают благодарность к.б.н. С.В. Кирильчику за помощь в проведении секвенирования.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме №0345-2016-0003 и при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №16-54-44035).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wu X.-C., Qian C.D., Fang H.H., Wen Y.P., Zhou J.Y., Zhan Z.J., Ding R., Li O., Gao H. Paenimacrolidin, a novel macrolide antibiotic from *Paenibacillus* sp. F6-B70 active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Microb. Biotechnol. 2011. Vol. 4. N 4. P. 491–502.
2. Sponga F., Cavaletti L., Lazzarini A., Borghi A., Cicaliati I., Losi D., Marinelli F. Biodiversity and potentials of marine-derived microorganisms // J. Biotechnol. 1999. Vol. 70. N 1. P. 65–69.
3. Palomo S., González I., de la Cruz M., Martín J., Torro J.R., Anderson M., Hill R.T., Vicente F., Reyes F., Geniloud O. Sponge-derived *Kocuria* and *Micrococcus* spp. as sources of the new thiazolyl peptide antibiotic kocurin // Mar. Drugs. 2013. Vol. 11. N 4. P. 1071–1086.
4. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Biofilm – “City of microbes” or an analogue of multicellular organisms? // Microbiology. 2007. Vol. 76. N 2. P. 125–138.
5. Bartrons M., Catalan J., Casamayor E.O. High bacterial diversity in epilithic biofilms of oligotrophic mountain lakes // Microb. Ecol. 2012. Vol. 64. N 4. P. 860–869.
6. Staunton J., Wilkinson B. Combinatorial biosynthesis of polyketides and non-ribosomal peptides // Curr. Opin. Chem. Biol. 2001. Vol. 5. N 2. P. 159–164.
7. Banskota A.H., Mcalpine J.B., Sørensen D., Ibrahim A., Aouidate M., Pirae M., Alarco A.M., Farnet C.M., Zazopoulos E. Genomic analyses lead to novel secondary metabolites. Part 3. ECO-0501, a novel antibacterial of a new class // J. Antibiot. (Tokyo). 2006. Vol. 59. N 9. P. 533–542.
8. Kaluzhnaya O.V., Kulakova N.V., Itskovich V.B. Diversity of polyketide synthase (PKS) genes in metagenomic community of freshwater sponge *Lubomirskia baicalensis* // Mol. Biol. (Moscow). 2012. Vol. 46. N 6. P. 790–795.
9. Kaluzhnaya O.V., Itskovich V.B. Distinctive features of the microbial diversity and the polyketide synthase genes spectrum in the community of the endemic Baikal sponge *Swartschewskia papyracea* // Russ. J. Genet. 2016. Vol. 52. N 1. P. 38–48.
10. Калюжная Ок.В., Липко И.А., Ицкович В.Б., Калюжная О.В., Парфенова В.В. ПЦР-скрининг бактериальных культур, выделенных из пресноводной губки *Lubomirskia baicalensis*, на наличие генов синтеза вторичных метаболитов // Вода: химия и экология. 2013. № 7. С. 70–74.
11. Geiger A., Fardeau M.-L., Falsen E., Ollivier B., Cuny G. *Serratia glossinae* sp. nov., isolated from the midgut of the tsetse fly *Glossina palpalis gambiensis* // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2010. Vol. 60. N 6. P. 1261–1265.
12. Gavini F., Ferragut C., Izard D., Trinel P.A., Leclerc H., Lefebvre B., Mossel D.A.A. *Serratia fonticola*, a new species from water // Int. J. Syst. Bact. 1979. Vol. 29. N 2. P. 92–101.
13. Kampf P., Glaeser S.P. *Serratia glossinae* Geiger et al. 2010 is a later synonym of *Serratia fonticola* Gavini et al. 1979 // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2015. Vol. 65. N 5. P. 1406–1408.
14. Kwon S.W., Kim J.S., Park I.C., Yoon S.H., Park D.H., Lim C.K., Go S.J. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsungensis* sp. nov. and *Pseudomonas jinjuensis* sp. nov., novel species from farm soils in Korea // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2003. Vol. 53. N 1. P. 21–27.
15. Chen W.-M., Yang S.-H., Young C.-C., Sheu S.-Y. *Rheinheimera tilapiae* sp. nov., isolated from a freshwater culture pond // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2013. Vol. 63. N 4. P. 1457–1463.
16. McCammon S.A., Innes B.H., Bowman J.P., Franzmann P.D., Dobson S.J., Holloway P.E., Skerratt J.H., Nichols P.D., Rankint L.M. *Flavobacterium hibernum* sp. nov., a lactoseutilizing bacterium from a freshwater Antarctic // Int. J. Syst. Bact. 1998. Vol. 48. N 4. P. 1405–1412.
17. Зименс Е.А., Суханова Е.В., Штыкова Ю.П., Парфенова В.В., Белькова Н.Л. Антагонистическая активность гетеротрофных микроорганизмов из биопленок на твердых субстратах литоральной зоны озера Байкал // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биол., Экол. 2014. Т. 7. С. 91–98.
18. Sogaard O.S., Gravarsen M.E., Leth S. et al. The depsipeptide romidepsin reverses HIV-1 latency *in vivo* // PLoS Pathogens. 2015. Vol. 11. N 9. e1005142.
19. Su C., Xiang Z., Liu Y., Zhao X., Sun Y., Li Z., Li L., Chang F., Chen T., Wen X., Zhou Y., Zhao F. Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantfaciens* sp. nov. YD25T that simultaneously produces prodigiosin and serrawettin W2 // BMC Genomics. 2016. Vol. 17. N 1, 865.
20. Isnansetyo A., Kamei Y. Bioactive substances produced by marine isolates of *Pseudomonas* // Ind. Microbiol. Biotechnol. 2009. Vol. 36. N 10. P. 1239–1248.
21. Gurney R., Thomas C.M. Mupirocin: biosynthesis, special features and applications of an antibiotic from a gram-negative bacterium // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2011. Vol. 90. N 1. P. 11–21.
22. Lipko I.A., Kalyuzhnaya O.V., Kravchenko O.S., Parfenova V.V. Identification of polyketide synthase genes in genome of *Pseudomonas fluorescens* strain 28Bb-06 from freshwater sponge *Baikalospongia bacillifera* // Mol. Biol. (Mosc.). 2012. Vol. 46. N 4. P. 609–611.
23. Bockelmann U., Janke A., Kuhn R., Neu T.R., Wecke J., Lawrence J.R., Szewzyk U. Bacterial extracellular DNA forming a defined network-like structure // FEMS Microbiol. Lett. 2006. Vol. 262. N 1. P. 31–38.
24. Presta L., Inzucchi I., Bosi E., Fondi M., Perrin E., Miceli E., Tutino M.L., Lo Giudice A., de Pascale D., Fani R. Draft genome sequence of *Flavobacterium* sp. strain TAB 87, able to inhibit the growth of cystic fibrosis bacterial pathogens belonging to the *Burkholderia cepacia* complex // Genome Announc. 2016. Vol. 4. N 3. e00410-16.

Поступила в редакцию
19.05.2017 г.

Принята к печати
09.09.2017 г.

MOLECULAR BIOLOGY

DIVERSITY OF POLYKETIDE SYNTHASE GENES IN THE GENOMES
OF HETEROTROPHIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM EPILITHIC BIOFILMS
IN LAKE BAIKAL*E.V. Sukhanova*^{*}, *E.A. Zimens*, *V.V. Parfenova*, *O.I. Belykh**Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Ulan-Batorskaya ul. 3, Irkutsk, 664033, Russia
^{*}email: sukhanovalena17@gmail.com*

Many bacterial secondary metabolites including pharmacologically promising compounds are synthesized by polyketide synthases (PKS) enzyme complexes. Nucleotide sequences of genes encoding 16S rRNA and PKS of heterotrophic bacterial strains isolated from epilithic biofilms in the littoral zone of Lake Baikal were determined. Based on molecular phylogenetic analysis of 16S rRNA genes, we identified six heterotrophic strains: *Serratia fonticola* 1A and 10A, *Pseudomonas umsongensis* K10-2 and K10-3, *Rheinheimera tilapiae* K18 and *Flavobacterium* sp. 43-09. Sequencing of cloned amplification products for PKS gene cluster revealed 33 sequences. Genes involved in biosynthesis of antibiotics (difficidine, erythromycin, curacin, mixalamide, coralopyronin, and myxothiazol) and cytostatics (romidepsin, spiruchostatin, and disorazol) were determined among related sequences. The low homology (50–83%) of amino acid sequences of PKS in Baikal bacteria with sequences in GenBank attests to potential capability of strains to produce new, yet not studied polyketide substances. The results obtained show that the strains under investigation may be of practical interest for biotechnological application.

Keywords: *polyketide synthase genes, 16S rRNA, heterotrophic microorganisms, Lake Baikal, cloning, epilithic biofilms*

Сведения об авторах

Суханова Елена Викторовна – канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории водной микробиологии Лимнологического института СО РАН. Тел.: 8-3952-42-54-15;
e-mail: sukhanovalena17@gmail.com

Зименс Екатерина Андреевна – вед. инженер лаборатории водной микробиологии Лимнологического института СО РАН. Тел.: 8-3952-42-54-15;
e-mail: ekaterinasiemens93@gmail.com

Парфенова Валентина Владимировна – канд. биол. наук, доц., зав. лабораторией водной микробиологии Лимнологического института СО РАН

Бельх Ольга Ивановна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотр., зав. лабораторией водной микробиологии Лимнологического института СО РАН. Тел.: 8-3952-42-54-15;
e-mail: belykh@lin.irk.ru