



**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА 16S рРНК ШТАММА *HALOMONAS SP. G4*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПРИДОННОГО ОСАДКА СОДОВОГО ОЗЕРА БУРЯТИИ**

Матниязов Р.Т., Чемерис А.В., Гильванова Е.А.\*, Никоноров Ю.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

\*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии  
Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

**Резюме**

Осуществлена сборка нуклеотидной последовательности гена 16s рРНК штамма *Halomonas sp. G4*. Проведено сравнение ее с последовательностями 16s рРНК у близкородственных видов и установлено положение данного штамма на филогенетическом древе бактерий методом кластерного анализа.

**Ключевые слова:** *Halomonas*, 16S рРНК, кластерный анализ

В последние годы наблюдается резкое усиление темпов полногеномного секвенирования представителей рода *Halomonas*, которые являются перспективными для использования в микробиологической промышленности [1, 2, 3]. Нами проведено секвенирование геномов двух штаммов гамма-протеобактерий (*Gamma*proteobacteria) из порядка *Oceanospirillales*, семейства *Halomonadaceae*, относящихся к роду *Halomonas*. Алкалолентерантный штамм *Halomonas sp. G4* выделен сотрудниками Учреждения Российской академии наук Института биологии Уфимского научного центра РАН из придонного осадка одного из содовых озер Бурятии и характеризуется необычной способностью к активной акцепции и восстановлению нитритов в их растворах высокой концентрации (до 3-5% по нитриту натрия). Восстановление нитритов до газообразного азота происходит очень быстро в анаэробных (аноксических) условиях в присутствии субстратов восстановителей – смесей аминокислот или цитрата. Характерно, что утилизация анионов азотистой кислоты идет до практически недетектируемых концентраций  $\text{NO}_2^-$ , что свидетельствует либо о необычной топологии нитрит-нитрат редуктазы в цитоплазматической

мембране и ее высокой специфичности или активности, либо о наличии активных транспортных механизмов концентрирования этих анионов через цитоплазматическую мембрану. Другой штамм *Halomonas sp. 018T* отличается способностью окислять в этих же условиях 2-аминоэтансульфоновую кислоту (более известную как таурин) до гидроксид-метансульфоновой кислоты.

При определении нуклеотидной последовательности генома галомонад использовались: метод пиросеквенирования на приборе модели 454 Roche Genome Sequencer FLX (Roche, США) и метод с применением флуоресцентно меченых нуклеозидтрифосфатов на машине MiSeq Benchtop Sequencer фирмы Illumina с набором MiSeq Reagent Kit v2. В результате мы получили черновые последовательности штаммов G4 и в 018T в различной степени годности для сборки полных геномов [4].

При анализе полученных фрагментарных последовательностей различных локусов этих геномов удалось установить, при сравнении их с последовательностями, имеющимися в GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)), что наиболее достоверно собраны участки, соответствующие генам

рибосомных РНК (рРНК). Эти последовательности удобны еще и тем, что именно они чаще всего

используются при филогенетическом анализе бактериальных геномов [5].

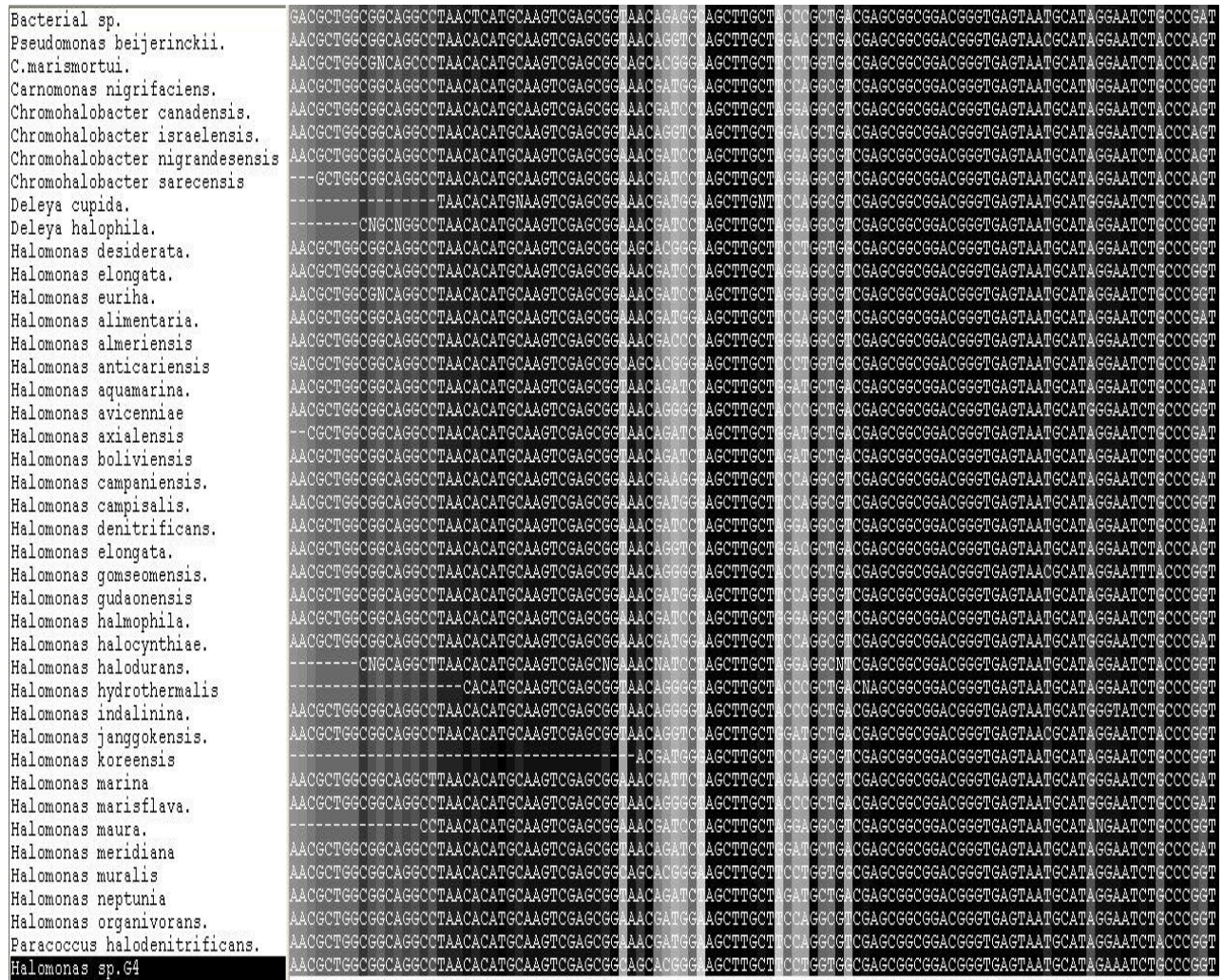


Рис.1. Выравнивание нуклеотидных последовательностей одного из участков гена 16s рРНК у представителей рода *Halomonas*.

Результаты выравнивания нуклеотидных последовательностей генов 16s рРНК у различных галомонад (Рис.1) наглядно демонстрируют наличие протяженных консервативных участков,

перебегающих с короткими высоковариабельными последовательностями, специфичными для каждого из представленных видов.

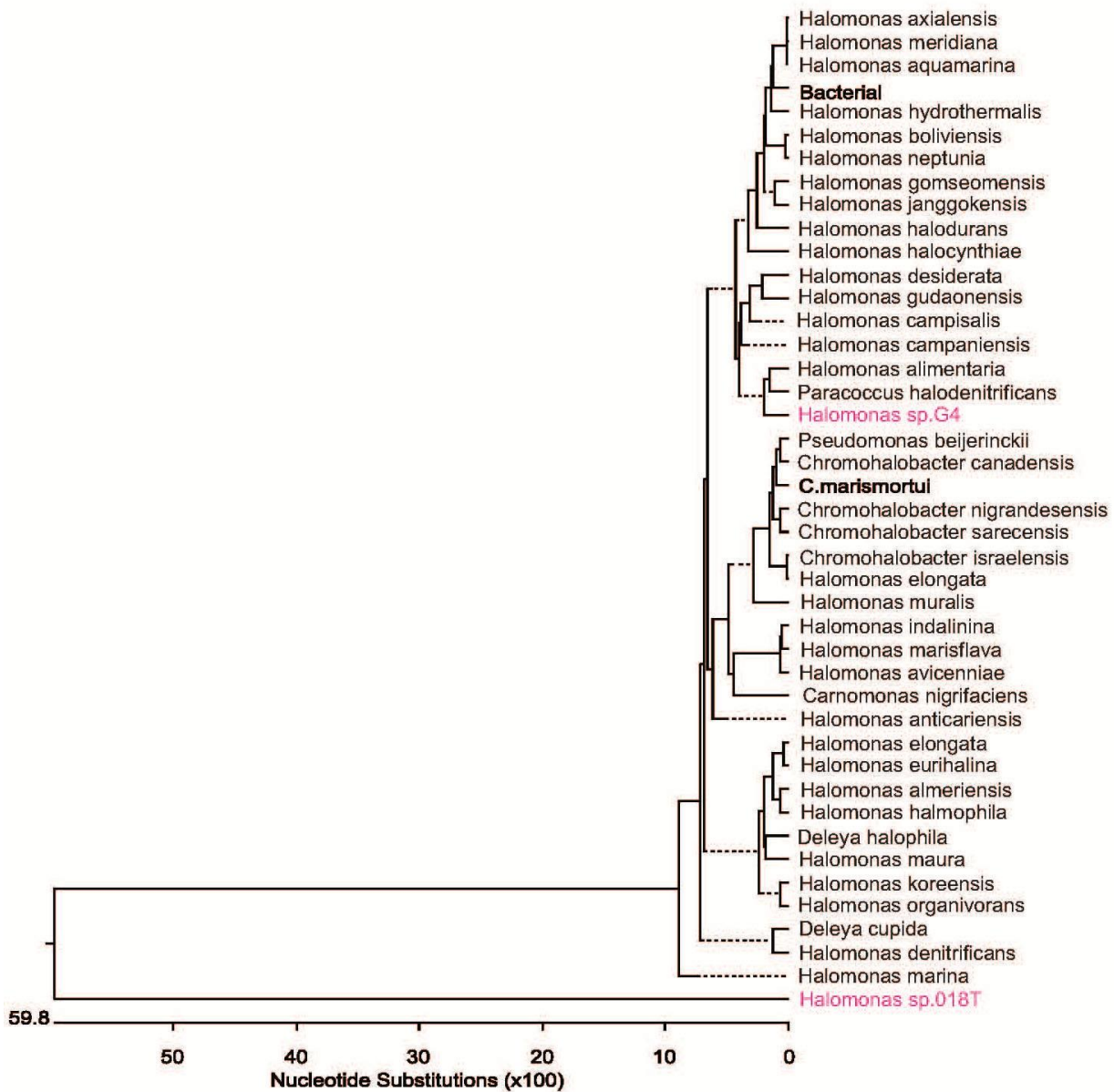


Рис. 2. Результаты кластерного анализа выравненных последовательностей генов 16s рНК у представителей рода Halomonas.

Из рис.2, на котором представлено филогенетическое древо представителей рода *Halomonas*, видно что этот род имеет полифилетическое происхождение. Наш штамм *Halomonas sp. G4* размещается в совершенно другом кластере, нежели чем типовой для этого рода вид *H.elongata*. Подобные результаты могут

свидетельствовать в пользу предположения о достаточной удаленности этих видов и объяснять их специфические отличия в метаболических путях. А вот слишком удаленное положение другого штамма, *Halomonas sp.018T*, ставит под сомнение достоверность данного результата ввиду возможных



ошибок, допущенных в процессе либо самого секвенирования, либо последующей сборки.

В целом, нуклеотидные последовательности, полученные при полногеномном секвенировании, еще до окончательной их сборки могут с успехом использоваться при проведении филогенетических и прочих исследований.

Исследования по секвенированию генома бактерии *Halomonas* sp. штамма G4 поддержаны грантом РФФИ 11-04-97068-р\_поволжье\_а.

#### Литература

1. Kawata Y., Kawasaki K., Shigeri Y. (2012). Draft genome sequence of *Halomonas* sp. strain KM-1, a moderately halophilic bacterium that produces the bioplastic poly(3-hydroxybutyrate). *J. Bacteriol.* 194 2738–2739.

2. Phung L.T., Silver S., Trimble W.L., Gilbert J.A. (2012). Draft genome of *Halomonas* species strain GFAJ-1 (ATCC BAA-2256). *J. Bacteriol.* 194 1835–1836.

3. Lin Y., Fan H., Hao X., Johnstone L., Hu Y., Wei G., Alwathnani H.A., Wang G., Rensing C. (2012). Draft genome sequence of *Halomonas* sp. strain HAL1, a moderately halophilic arsenite-oxidizing bacterium isolated from gold-mine soil. *J. Bacteriol.* 194 199–200.

4. Матниязов Р.Т. и др. (2012). Секвенирование полного генома алкало- и галотолерантного штамма нитритофильной бактерии *Halomonas* sp.G4 Биомика 4(1) 29-30.

5. de la Haba RR, Arahal DR, Márquez MC, Ventosa A. (2010). Phylogenetic relationships within the family Halomonadaceae based on comparative 23S and 16S rRNA gene sequence analysis. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60(4) 737-748.

### COMPARATIVE ANALYSIS OF NUCLEOTIDE SEQUENCE OF 16S rRNA GENE OF *HALOMONAS* SP. G4 STRAIN ISOLATED FROM THE BOTTOM SEDIMENT OF SODA LAKE OF BURYATIA

Matnyazov R.T., Chemeris A.V., Gilvanova E.A.\*, Nikonorov Yu.M.

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa

\*Institute of Biology of Ufa Science Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa

#### Summary

Assembling of nucleotide sequence of 16S rRNA gene of *Halomonas* sp. G4 strain has been realized. Comparing carried out of nucleotide sequence to the sequences of 16S rRNA gene of closely related species and position of this strain in phylogenetic tree of bacteria established by the cluster analysis.

**Keywords:** *Halomonas*, 16S rRNA, cluster analysis