КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Институт фундаментальной медицины и биологии

Секвенирование генома *Bacillus ginsengihumi* M2_11, продуцирующего фитазу

Дарья Сергеевна Баранова

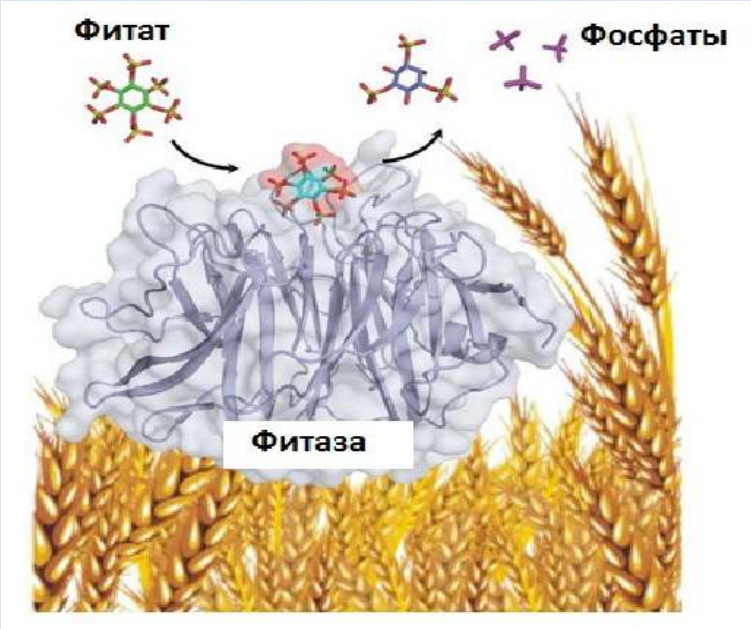
E-mail: DashulyaBaranova@mail.ru

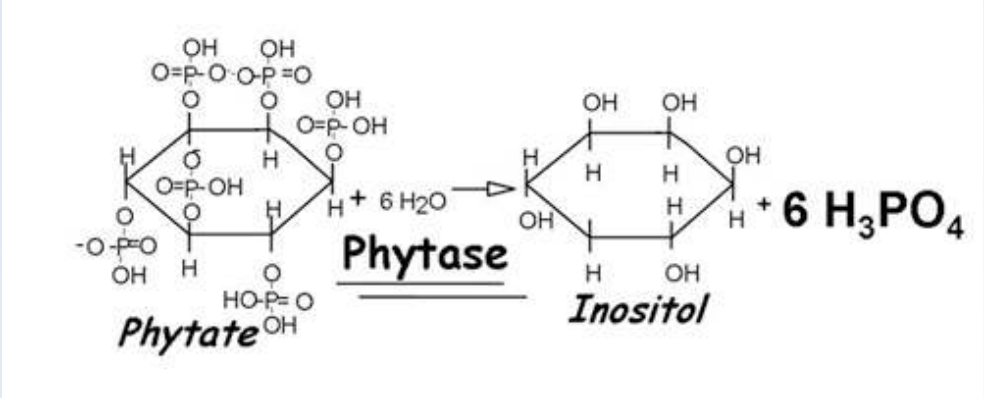
Научные руководители:

А.А. Тойменцева, М.Р. Шарипова

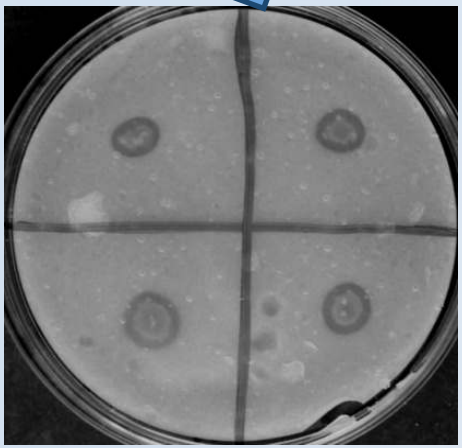
Что такое фитазы?

Фитазы – особая группа ферментов фосфатаз, обладающих способностью катализировать последовательный гидролиз фитатов с высвобождением неорганического фосфата. Фитиновая кислота связывает большое количество фосфора, тем самым делая сельскохозяйственные корма **на 70-80% недоступными для переваривания животными**. Поэтому фитазы, которые способны гидролизовать фитат, широко используются в биотехнологии, как кормовые добавки.



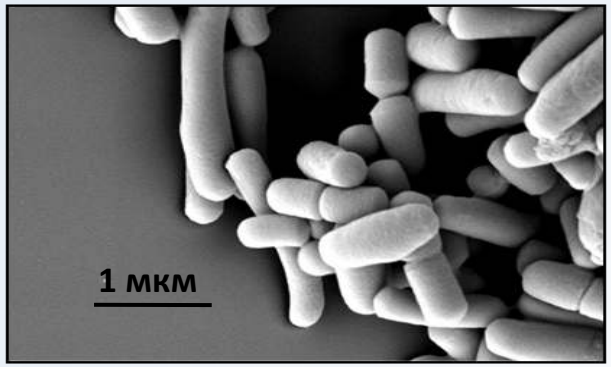


Характеристика выделенного штамма М2_11



Фитазная активность выделенного штамма М2_11 на пит. среде PSM, содержащей фитат натрия

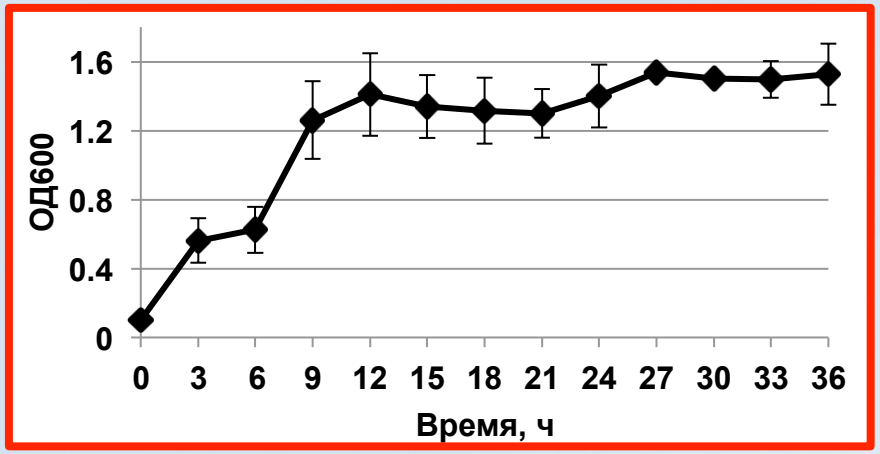
Результат окрашивания по Граму клеток выделенного штамма М2_11



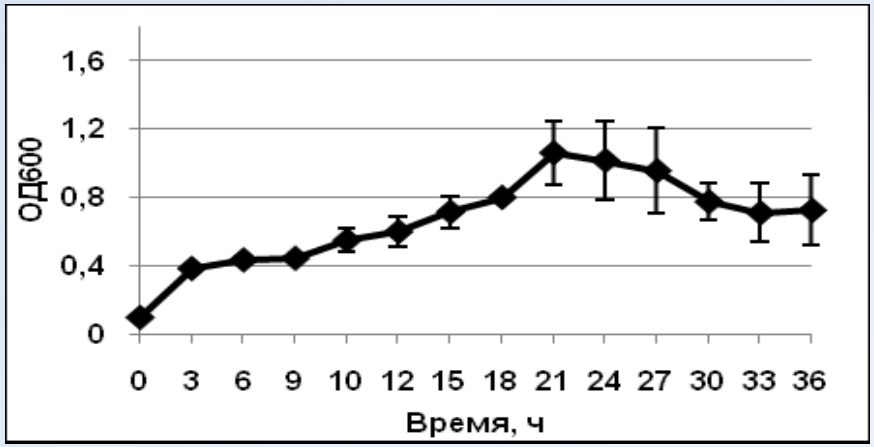
Вид отдельных клеток штамма М2_11 с помощью СЭМ-микроскопии (×15 000)

Подбор оптимальной питательной среды для культивирования штамма

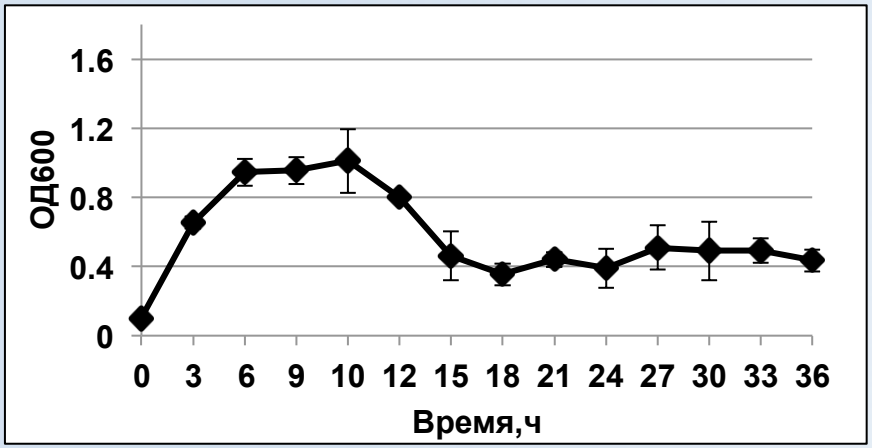
Динамика роста клеток штамма M2_11



LB



Бесфосфорная пит. среда



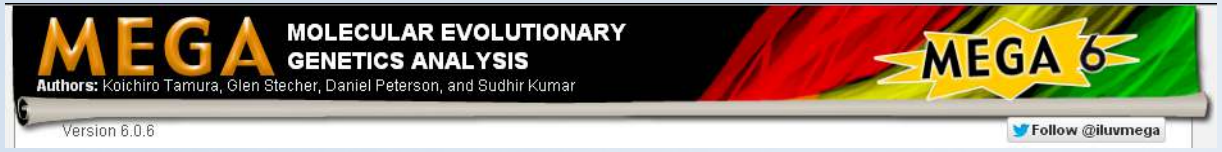
YDC

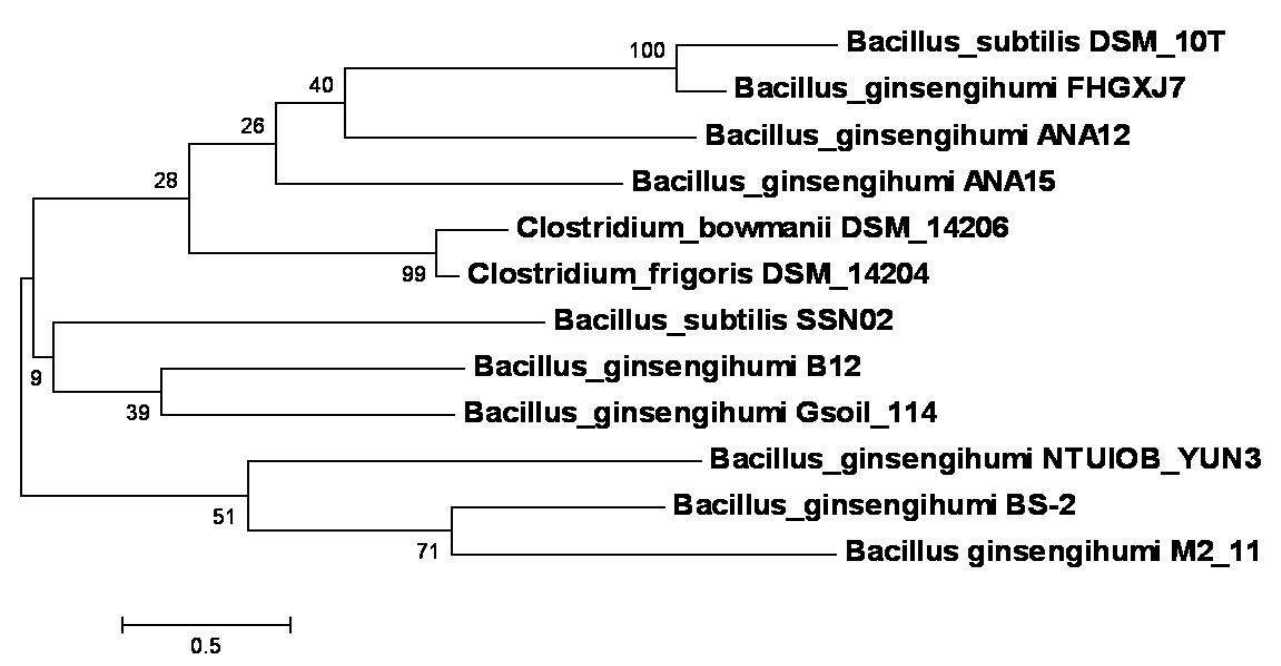
Оптимальная питательная среда для культивирования штамма M2_11 – пит. среда Лурия-Бертани (LB)

Филогенетический анализ штамма M2_11

NCBI/ BLAST/ blastn suite

Прямой BLAST-анализ гена 16S рРНК и его филогенетический анализ в программе MEGA6, показал, что ближайшими родственными организмами для изолята M2_11 являются штаммы *Bacillus ginsengihumi* (97% сходства).





Филогенетическая дендрограмма, построенная на основе анализа нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК, с использованием метода поиска ближайших соседей (“neibour-joining”). Данные “bootstrap”-анализа (выраженные в процентах от 100 реплик) указаны в точках ветвления.

Секвенирование генома *Bacillus ginsengihumi* M2_11

Полногеномное секвенирование штамма *B. ginsengihumi* M2_11 с помощью секвенатора **454 GS Junior** (Roshe)

Сборка генома с помощью ассемблера **SPAdes 3.0.**

Геномный ассемблер SPAdes

SPAdes 3.5.0

Характеристика генома бактерии *Bacillus ginsengihumi* M2_11

Статистику изучали с помощью программы **QUAST 2.3.**:

• геном состоит из 140 контигов, 133 из них больше 500 п.о.

• общий размер генома составляет 3 722 429 п.о.

• значение N_{50} =58 040 п.о.

• среднее содержание GC в геноме равно 36,14%

Автоматическая аннотация с помощью **Pipeline (PGAAP)** показала наличие:

• 3 082 кодирующих последовательностей (CDS)

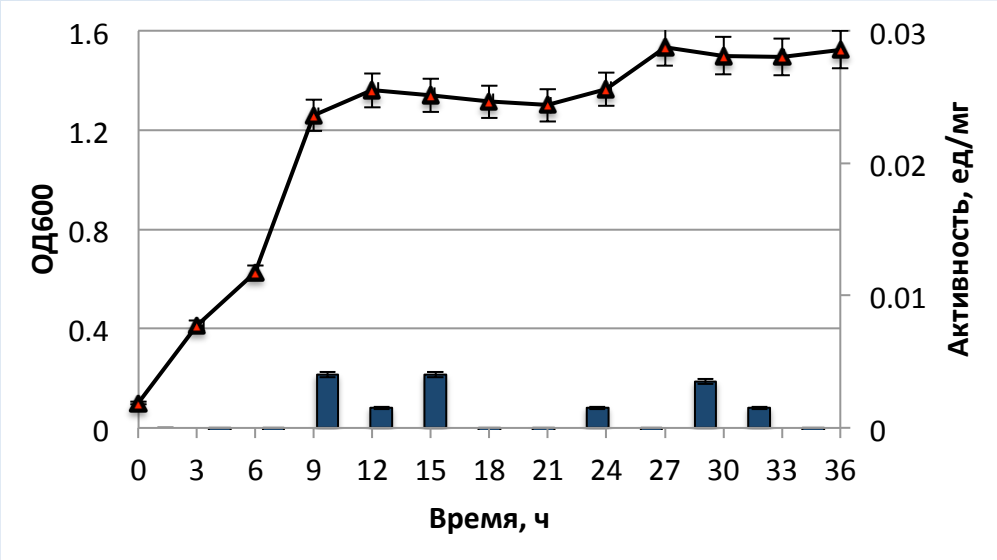
• 34 рРНК

• 88 тРНК

• 400 рамок считывания генов.

Аннотация генома *Bacillus ginsengihumi* M2_11 в RAST

Системой аннотаций RAST было подтверждено отсутствие у штамма протеолитических ферментов – гены, ответственные за их секрецию найдены не были.

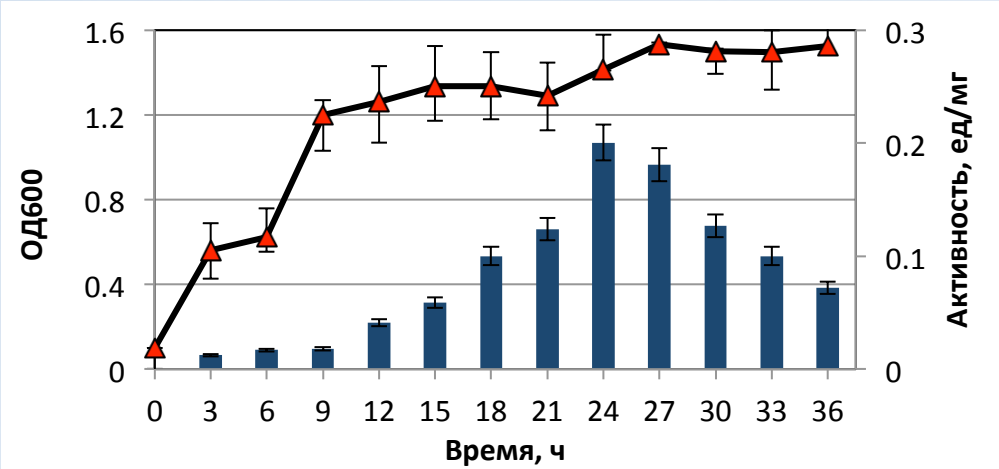


Динамика роста и активность внеклеточных протеолитических ферментов *B. ginsengihumi* M2_11 на азоказеине

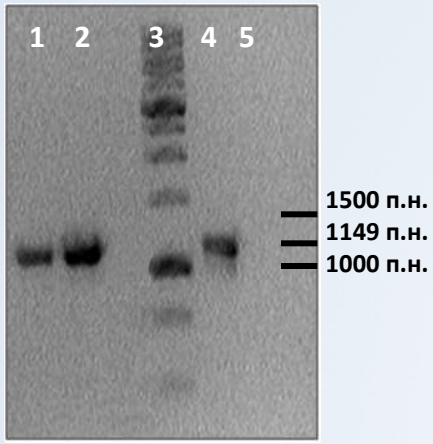
Аннотация генома *Bacillus ginsengihumi* M2_11 в RAST

Ген фитазы не обнаружен.

Геном содержит гены, участвующие в ассимиляции фосфора: гены ответственные за секрецию щелочных фосфатаз, пирофосфатаз, полифосфаткиназ.



Динамика роста и фитазная активность *B. ginsengihumi* M2_11 по гидролизу фитата натрия



Электрофорез в 1,5% агарозном геле результатов ПЦР.
1,2 – ПЦР продукт гена фитазы *B. subtilis* 168;
3 – ДНК-маркер М11 (1Кб);
4 – ПЦР продукт гена фитазы *B. ginsengihumi* M2_11;
5 – негативный контроль.

Вывод

1. Найден и выделен новый штамм, обладающий фитазной активностью.
2. Филогенетический анализ на основе секвенирования гена 16S рРНК позволил классифицировать выделенный штамм, как *Bacillus ginsengihumi* с достоверностью 97%.
3. Секвенирован геном *Bacillus ginsengihumi* M2_11. Он состоит из 140 контигов, общий размер генома равен 3 722 429 п.о.

Благодарности

- **М.Р. Шариповой** - проф., д.б.н., руководитель лаборатории ББФ
- А.А. Тойменцевой - н.с., к.б.н.
- Е.А. Булыгиной - м.н.с.
- А.И. Ахметовой – к.б.н.
- В.Г. Евтюгину – н.с., к.б.н.