

# Анализ генома метаногенной археи *Methanosarcina mazei* JL01

Трубицын В.Э., Ошуркова В.И., Щербакова В.А.

ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН;  
lichoradkin43@gmail.com

*Methanosarcina mazei* штамм JL01 (=VKM В-2370 = JCM 31898) является строго анаэробным, неподвижным метаногенным микроорганизмом. Штамм был выделен из многолетнемёрзлых отложений Колымской низменности (Россия) [1] и его клетки диаметром 1,0-1,5 мкм (рис. 1), собраны в типичные для данного рода агрегаты. Клеточная стенка имеет толщину 40-50 нм и соответствует грамположительному типу.

Оптимальными условиями для роста метаногенной сарцины являются температура 24-28°C, pH 6,8-7,3 и солёность 4,5-6,0 г/л. В качестве субстратов клетки штамма активнее всего используют метанол и триметиламин (время удвоения 8,77 и 10,4 ч, соответственно). Штамм также способен утилизировать ацетат, метиламин и диметиламин, очень слабо растет на газовой смеси H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (в пропорции 4:1). Сравнение последовательностей целых геномов штамма JL01 и *Methanosarcina mazei* S-6<sup>T</sup> (ANI 98,5%) показало, что данный арктический изолят относится к виду *M. mazei*. Геном депонирован в NCBI (CP029709.1).

Секвенирование целого генома было выполнено в CRG (Centre for Genomic Regulation, Барселона, Испания) на платформе Illumina HiSeq с глубиной секвенирования 30×, метод сборки генома – SOAPdenovo v. v2. Геном был собран из 323 контигов, абсолютная длина и длина с пропусками составили 4 186 733 и 4 127 022 п.н., соответственно. Содержание GC пар составило 41,6%, N50 равен 57 424 п.н., L50 включает 21 участок. При оценке генома с помощью алгоритма CheckM [9] было показано, что его целостность составляет ~99% (227 совпадений по 228 маркерам *Euryarchaeota*, погрешность ≤1%), степень контаминирования 0,65% (1 гетерогенетический маркер, погрешность ≤1%).

Геном был аннотирован с использованием веб-сервисов NCBI RefSeq [2] и DFAST [3] (рис. 2). Абсолютное количество генов составляет 3 615 (3 543 CDS), из которых 3 364 белок-кодирующих последовательностей и 179 псевдогенов. В геноме присутствуют 72 последовательности РНК, включая 12 рРНК (4 гена 5S, 4 гена 16S, 4 гена 23S), 58 tRNA и 2 мяРНК. Имеется от 7 [2] до 14 [3] CRISPR регионов. Коэффициент кодирования равен 73,4% [3]. У штамма JL01 нет идентифицированных плазмид.

С помощью трёх различных веб-сервисов было показано, что геном метаносарцины предположительно содержит провирусы: PHASTER [4] (1 вероятный провирус, длина 11,5 т.п.н., 13 белков, 3 893 294-3 904 802 п.н.), Prophinder [5] (1 вероятный провирус, длина 80,12 т.п.н., 62 белка, 3 831 837-3 911 958 п.н.) и Prophage Hunter [6]. Последний идентифицировал 57 вероятных провирусов, включая 3 провируса с неоднозначной активностью (20,4, 26,9 и 15,2 т.п.н. с 21, 20 и 14 CDS соответственно), 1 неактивный кандидат в области, обнаруженной с помощью PHASTER, и 3 неактивных кандидата в начале последовательности, обнаруженной с помощью Prophinder.

Анализ метаболических путей был выполнен с использованием базы данных KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) [7]. Геном штамма JL01 содержит все основные гены гидрогенотрофного, ацетокластического и метилотрофного путей метаногенеза. Отсутствуют некоторые гены ферментов, связанных с синтезом кофермента M (EC 4.4.1.19, EC 3.1.3.71 и EC 1.1.1.337), и формиадегидрогеназ (EC 1.17.1.9, EC 1.17.98.3 и EC 1.17.1.10), отвечающих за превращение формиа в CO<sub>2</sub> по гидрогенотрофному пути. Среди генов азотного цикла идентифицированы нитрогеназа (EC 1.18.6.1) и гидроксилламинредуктаза (EC 1.7.99.1). Также штамм способен синтезировать C10-C20 изопреноиды и dTDL-L-рамнозу.

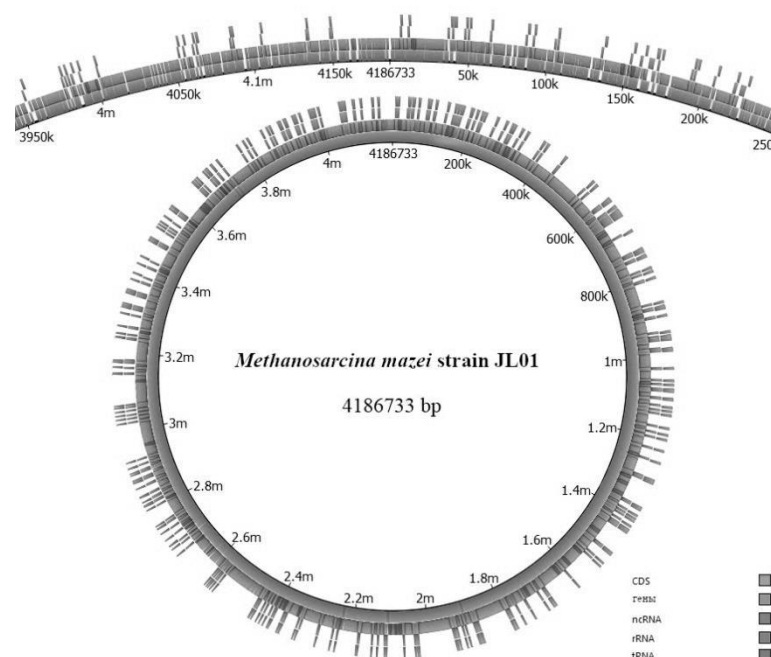


Рис. 2. Карта генома штамма *Methanosarcina mazei* JL01. Автоаннотирование произведено на веб-сервисе RefSeq, изображение построено с использованием пакета программ Unipro UGENE v. 33.0 [9].

Информация о геноме штамма *Methanosarcina mazei* JL01, безусловно, будет полезна для дальнейших исследований психотолерантных метаногенных архей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00831).*

## Литература

1. Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichius K., Pecheritsyna S., Krivushin K., Kraev G., Gilichinsky G. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in permafrost. *FEMS Microbial Ecology*, 2007. V. 61. N. 1. P.1-15.
2. Haft D.H., DiCuccio M., Badretdin A., Brover V., Chetvernin V., O'Neill K., Li W., Chitsaz F., Derbyshire M.K., Gonzales N.R., Gwadz M., Lu F., Marchler G.H., Song J.S., Thanki N., Yamashita R.A., Zheng C., Thibaud-Nissen F., Geer L.Y., Marchler-Bauer A., Pruitt K.D. 2018. RefSeq: an update on prokaryotic genome annotation and curation. *Nucleic Acids Res.* Jan 4; 46 (D1): D851-D860. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1068>.
3. Tanizawa Y., Fujisawa T., Nakamura Y. 2018. DFAST: a flexible prokaryotic genome annotation pipeline for faster genome publication. *Bioinformatics*. 34: 1037–1039.
4. Arndt D., Grant J.R., Marcu A., Sajed T., Pon A., Liang Y., Wishart D.S. 2016. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res.* 44: W16-W21.
5. Lima-Mendez G., Van Helden J., Toussaint A., Leplae R. 2008. Prophinder: a computational tool for prophage prediction in prokaryotic genomes. *Bioinformatics*. Mar 15; 24 (6): 863–865. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn043>.
6. Wenchen Song, Hai-Xi Sun, Carolyn Zhang, Li Cheng, Ye Peng, Ziqing Deng, Dan Wang, Yun Wang, Ming Hu, Wenen Liu, Huanming Yang, Yue Shen, Junhua Li, Lingchong You, Minfeng Xiao. 2019. Prophage Hunter: an integrative hunting tool for active prophages. *Nucleic Acids Research*. July 2; 47 (W1): W74–W80, <https://doi.org/10.1093/nar/gkz380>
7. Kanehisa M. Goto S. 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*. 28: 27–30.

8. Parks D.H., Imelfort M., Skennerton C.T., Hugenholtz P., Tyson G.W. 2018. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 25:1043–1055.
9. Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 28: 1166-1167.