

ОСОБЕННОСТИ РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНОВ ПОЛИКЕТИДСИНТАЗ В СООБЩЕСТВЕ ПРЕСНОВОДНОЙ ГУБКИ *Baikalospongia fungiformis*

© 2022 г. О. В. Калужная¹, *, В. Б. Ицкович¹

¹Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, 664033 Россия

*e-mail: kaluzhnaya.oks@gmail.com

Поступила в редакцию 06.07.2021 г.

После доработки 13.09.2021 г.

Принята к публикации 05.10.2021 г.

В рамках настоящего исследования проведен анализ последовательностей фрагментов генов поликетидсинтаз (PKS) микроорганизмов, ассоциированных с эндемичной байкальской губкой *Baikalospongia fungiformis*. PKS – это мультиферментные комплексы, отвечающие за синтез низкомолекулярных биологически активных веществ (БАВ). С помощью клонирования и секвенирования продуктов амплификации участка кетосинтазного (KS) домена PKS в микробиоме *B. fungiformis* было выявлено 18 уникальных последовательностей, большинство из которых были высоко идентичны (97–99%) генам PKS микроорганизмов из сообществ других видов байкальских губок. На филогенетических деревьях эти группы последовательностей формировали характерные “байкальские клады”. Очевидно, в составе базового сообщества губок, сформировавшегося в процессе коэволюции, присутствуют общие группы микроорганизмов – потенциальных продуцентов БАВ. BlastX-анализ показал, что полученные фрагменты принадлежали поликетидсинтазам бактерий (филюмы Cyanobacteria, Proteobacteria, Planctomycetes, Latescibacteria, Gemmatimonadates), а также эукариотических водорослей (отделы Harpophyta и Ochrophyta). Проведенная работа свидетельствует о значительном биотехнологическом потенциале сообществ пресноводных губок и перспективности исследований в направлении поиска новых природных метаболитов в комплексных пресноводных микробиомах.

Ключевые слова: гены поликетидсинтаз (PKS), пресноводные губки, *Baikalospongia fungiformis*, сообщество микроорганизмов, филогенетический анализ.

DOI: 10.31857/S0016675822030067

Губки – фильтрующие воду бентосные животные, населяют морские и пресноводные экосистемы и формируют симбиотические ассоциации с микроорганизмами всех трех доменов клеточной формы жизни: бактериями, археями и эукариотами [1]. Многие биологически активные вещества, изолированные из микробиомов морских губок, находят биотехнологическое и медицинское применение [2, 3]. Известно, что целый ряд природных метаболитов, проявляющих антивирусные, цитотоксичные, фунгицидные, иммуносупрессорные и другие свойства, являются низкомолекулярными полипептидами и циклопептидами, имеют модульную структуру и кодируются генными кластерами – поликетидсинтазами (PKS). PKS – большое семейство мультифункциональных белков, использующих в качестве субстратов простые мономерные карбоновых кислот: ацетил-кофермента А и малонил-кофермента А [1, 4]. Различают три типа PKS, в зависимости от их структуры и механизма катализа. Модульные PKS типа I содержат несколько функциональных доменов,

каждый из которых отвечает за одну каталитическую стадию биосинтеза поликетидов. Итерационные PKS типа II включают несколько однодоменных белков с разделенными ферментативными активностями, которые действуют повторно с образованием поликетидов. Автономные гомодимерные PKS типа III состоят из фермента с одним активным центром, который итеративно действует с образованием конечного поликетидного продукта. Тип I наиболее распространен у бактерий, тип II – у грибов, а тип III – у растений [5–8].

В нашей работе мы рассматриваем ферментные системы PKS типа I. Это организованные в модули многофункциональные ферменты, ковалентно связанные в длинные полипептиды [4, 8]. Каждый модуль PKS I содержит каталитические домены, опосредующие один цикл удлинения и модификации поликетидов. В состав одного модуля входит, как минимум, три домена: ацилтрансферазный (АТ), который захватывает соответствующий “строительный блок” ацетил-кофермента А и затем ковалентно присоединяет его к фосфопантетеи-

новому носителю соседнего АСР-домена; ацил-переносающий (АСР) и кетосинтазный (KS), который катализирует удлинение поликетидных цепей через цистеин активного сайта [8, 9]. Таким образом, каждый кластер генов PKS типа I продуцирует специфический вторичный метаболит и благодаря структурному разнообразию этих кластеров происходит синтез широкого спектра веществ, уникальных по химической структуре и активности [10].

Часто синтез вторичных метаболитов происходит посредством комбинации ферментной системы PKS с аналогичной по структуре системой нерибосомных пептидсинтаз (NRPS), формируя гибридные NRPS/PKS комплексы, число и порядок модулей в которых определяют структурное разнообразие получающихся в результате биоактивных продуктов [11].

KS-домены содержат консервативные на аминокислотном уровне участки, вариабельность которых приводит к возникновению их функциональной специфичности, которая в конечном итоге влияет на химическую природу ожидаемого продукта [12, 13]. Консервативные мотивы, как правило, локализованные в активных центрах KS-доменов, используются исследователями для конструирования вырожденных праймеров с целью амплификации участков KS-доменов из смешанных микробных сообществ. Это позволяет исследовать состав и разнообразие генов PKS в том или ином микробиоме, а также оценить его биотехнологический потенциал [12–15]. В частности, данный подход использовался в ряде работ, посвященных поиску генов новых биоактивных метаболитов в микробных сообществах морских губок [14, 16–22]. Так, в 2013 г. пиросеквенирование клонотеки фрагментов генов KS-домена PKS из губки *Arenosclera brasiliensis* позволило группе бразильских и американских ученых идентифицировать 235 уникальных последовательностей, большинство из которых объединялись в группу PKS I и принадлежали микробным филам: Actinobacteria, Cyanobacteria, Alphaproteobacteria и Deltaproteobacteria (Burkholderia) [19]. В 2016 г. ирландскими исследователями была опубликована статья, посвященная изучению спектра генов PKS у трех видов губок: *Inflatella pellicula*, *Poecillastra compressa* и *Stelletta normani* [22]. В результате пиросеквенирования фрагментов генов KS-домена было идентифицировано 14244 уникальных последовательностей, принадлежащих представителям бактериальных фил: Proteobacteria, Cyanobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Planctomycetes, Verrucomicrobia [17].

До недавнего времени исследование биотехнологического потенциала пресноводных губок проводилось с применением биохимических [23, 24] и микробиологических [25, 26] подходов, а также с помощью секвенирования участков рибо-

сомальных генов метагеномного сообщества губки [25–29]. Амплификация и последующее секвенирование фрагментов KS-доменов генов PKS для поиска новых метаболитов и возможных продуцентов БАВ в микробиомах пресноводных губок ранее применялась при изучении микробиомов губок *Lubomirskia baicalensis* [30] и *Swartschewskia pyruracea* [31], а также при анализе изолированных из губок бактериальных штаммов [32, 33]. Таким образом, по сравнению с морскими представителями биотехнологический потенциал симбиотических ассоциаций пресноводных губок остается недостаточно изученным.

Байкальская эндемичная спонгиофауна, насчитывающая 14 видов губок [34], сопоставима по разнообразию симбиотической микрофлоры с сообществами морских губок [35–40]. Необычные условия обитания губок в оз. Байкал (большие глубины, изобилие различных экологических ниш) [41] делают эти организмы перспективным объектом для поиска новых природных метаболитов.

Цель настоящего исследования – анализ разнообразия генов PKS в микробиоме корковой губки *B. fungiformis*, выявление уникальных последовательностей генов вторичных метаболитов и таксономическая идентификация микроорганизмов – потенциальных продуцентов БАВ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы губки *B. fungiformis* были собраны в ходе экспедиционных работ в сентябре 2014 г. в районе Малого Ушканьего острова (между Средней и Северной котловинами и оз. Байкал) с глубины 35 м с помощью водолазной техники.

Координаты точки сбора: 53°50'8.526 N/108°43'1.718 E.

Фрагменты ткани губки помещали в 70%-ный раствор этанола и хранили при 4°C в холодильнике. В течение недели после сбора образцов выделяли суммарную ДНК с помощью набора РибоСорб (Амплисенс, Россия) по методике производителя. ДНК хранили на сорбенте при –20°C до момента дальнейшего использования. Оценку качества и количества ДНК осуществляли на спектрофотометре NanoDrop (Termo Scientific, США). Амплификацию фрагмента гена PKS проводили на амплификаторе MJ Mini Personal Thermal Cycler (Bio-Rad, США) с использованием ПЦР-набора Encyclo Plus PCR-kit (Евроген, Россия) согласно рекомендациям производителя. Количество ДНК в ПЦР-смеси составляло 100 нг, концентрация праймеров – по 0.5 мкМ каждого. В реакции были использованы вырожденные праймеры, специфичные консервативному участку кетосинтазного (KS) домена PKS:

DKF (5'-GTGCCGGTNC CRTGNGYYTC-3') и DKR (5'-GCGATGGAYCCNCARCARYG-3') [42].

Для наработки фрагмента использовали следующий режим амплификации: активация полимеразы (5 мин при 95°C); 35 циклов, включающих денатурацию ДНК (45 с при 95°C), отжиг праймеров (60 с при 62°C) и элонгацию (90 с при 72°C); финальная элонгация (10 мин при 72°C).

Размер амплифицированного продукта оценивали в 1%-ном геле агарозы (Хеликон, Россия) с использованием маркера молекулярных длин “100+ bp DNA Ladder” (Евроген, Россия). ПЦР-фрагмент ожидаемого размера (около 700 пн) экстрагировали из агарозного геля на колонках Cleanup Standard (Евроген, Россия) и затем проводили лигирование в вектор pTZ57R/T, входящий в набор “Thermo Scientific InsTAclone PCR Cloning Kit” (Thermo Scientific) согласно протоколу производителя. Общий объем смеси для лигирования составлял 30 мкл и включал 3 мкл вектора pTZ57R/T, 6 мкл лигазного буфера (5×), 1 мкл фермента T4 ДНК-лигазы и 20 мкл очищенного ПЦР-продукта. Раствор инкубировали в течение ночи при 4°C, после чего проводили трансформацию химически компетентных клеток *E. coli* XL1-Blue CaCl₂-методом [43]. Клоны выращивали в течение ночи в чашках Петри на агаризованной среде LB [44], после чего единичные клоны случайным образом отбирали в микропробирки, содержащие 50 мкл 1× раствора TE-буфера [44]. Наличие вставки проверяли с помощью ПЦР с использованием праймеров, комплементарных фланкирующим вставку участкам плазмиды pTZ57R/T:

M13-20 (5'-GТAAACGACGGCCAGT-3') M13-revers (5'-CAGGAAACAGCTATGAC-3') в следующем режиме: активация полимеразы (5 мин при 95°C); 35 циклов, включающих денатурацию ДНК (40 с при 95°C), отжиг праймеров (40 с при 62°C) и элонгацию (60 с при 72°C); финальная элонгация (10 мин при 72°C). Размер вставки оценивали с помощью электрофореза в 1%-ном геле агарозы, как описано выше.

В общей сложности было отобрано и проанализировано 104 клон, из которых 92 содержали вставки ожидаемого размера. ПЦР-фрагменты вырезали из агарозы, экстрагировали на колонках Cleanup Standard (Евроген) и секвенировали на автоматическом секвенаторе ABI 3130XL (Applied Biosystems) (фирма “Синтол”, Россия). Полученные нуклеотидные последовательности выравнивали между собой с помощью программы BioEdit 7.2 [45] и в случае идентичности менее чем на 97% рассматривали как уникальные. Поиск ближайших гомологов и сравнение полученных данных с последовательностями, опубликованными ранее, осуществляли с помощью программы BlastX сервера NCBI [46]. Филогенетические деревья строили по методу максимального правдоподобия (ML, maximum likelihood estimation), используя пакет про-

грамм Mega 5 [47]. Нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank под номерами: MT863569–MT863576; MT603561–MT603570.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате сравнения нуклеотидных последовательностей фрагментов KS-домена PKS из микробиома *B. fungiformis* было идентифицировано 18 уникальных ампликонов, сходство которых между собой по аминокислотным последовательностям (AA) составляло 43–89%. Для идентификации полученных последовательностей и определения систематического положения микроорганизмов – потенциальных продуцентов БАВ в сообществе *B. fungiformis* был проведен BlastX и филогенетический анализы. С помощью анализа BlastX были выявлены последовательности, проявляющие максимальную идентичность по AA с фрагментами исследуемых генов. В число ближайших гомологов (57–99% идентичности), опубликованных в банке данных NCBI, входили как прокариотические микроорганизмы (филюмы Cyanobacteria, Proteobacteria, Planctomycetes, Latescibacteria, Gemmatimonadates), так и эукариотические водоросли (отделы Heterokonta и Ochrophyta). Среди PKS, выявленных в сообществе *B. fungiformis*, 10 последовательностей принадлежали эукариотическим микроорганизмам и 8 – прокариотическим симбионтам. Необходимо также уточнить, что о таксономической принадлежности последовательностей с низким процентом идентичности можно говорить лишь условно.

Интересно, что из 18 последовательностей PKS *B. fungiformis* 17 проявляли высокий процент идентичности (97–99%) с KS-доменами поликетидсинтаз из сообществ эндемичных губок *Lubomirskia baicalensis*, *Swartschewskia papyracea*, *Rezinkovia echinata* [30, 31, 48]. При построении филогенетических деревьев фрагменты генов PKS байкальских губок объединялись, формируя характерные “байкальские клады” (рис 1, 2). Примечательно, что упомянутые высокоидентичные последовательности были выявлены в образцах губок, собранных в разные годы и в различных участках озера [30, 31, 48]. Этот факт позволяет предположить, что в сообществах разных видов байкальских губок стабильно присутствуют микроорганизмы близкородственных таксономических групп, обладающие потенциальной способностью продуцировать биоактивные метаболиты. Эти микроорганизмы входят в состав базового (“корового”) сообщества губок Байкала, сформированного в процессе коэволюции губки-хозяина и симбиотической микрофлоры.

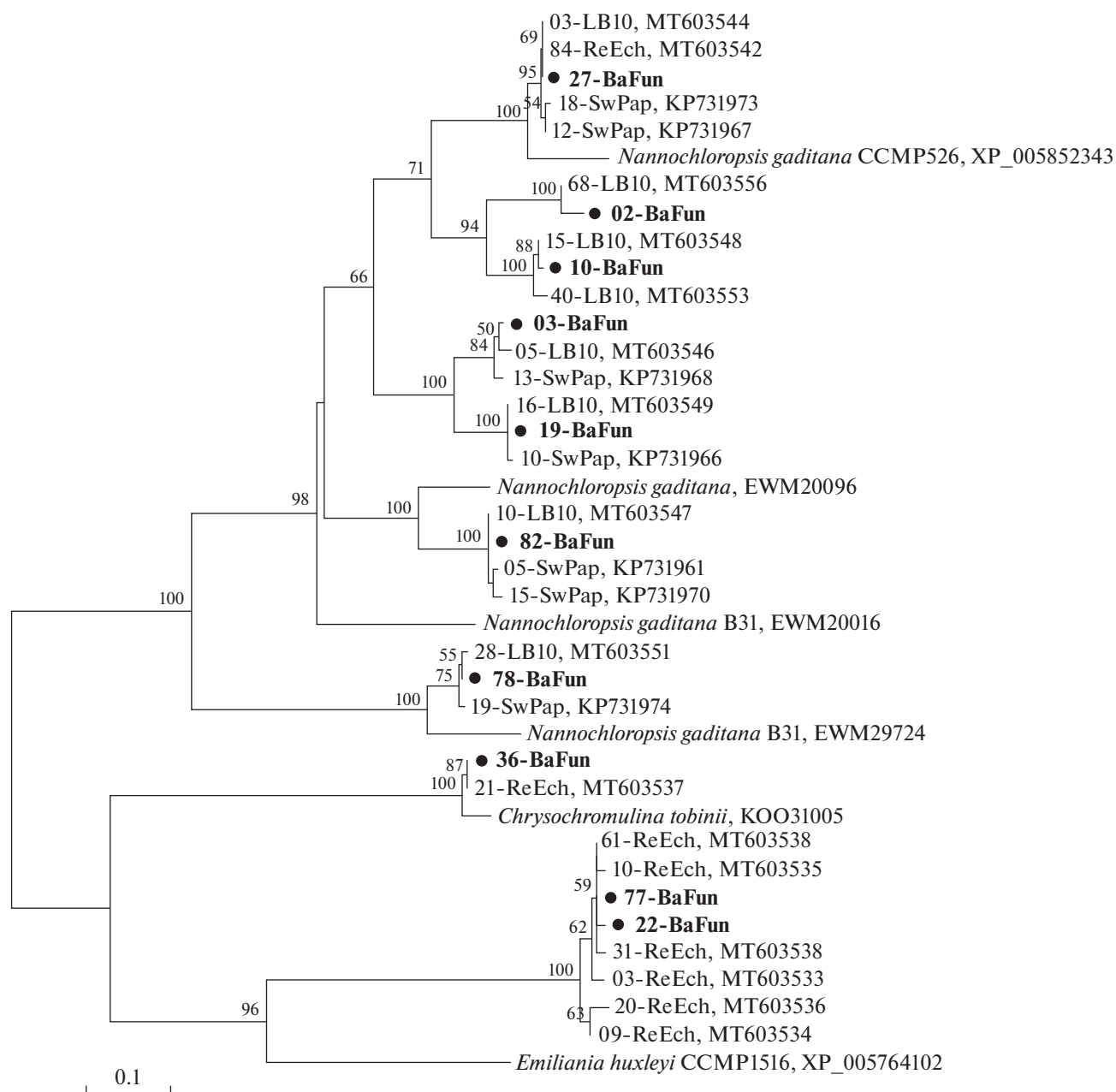


Рис. 1. Филогенетическое дерево эукариотических PKS из сообщества *B. fungiformis*, построенное методом максимального правдоподобия (ML), на основе сравнения фрагментов аминокислотных последовательностей KS-доменов (233 а.о.) байкальской губки и ближайших гомологов, опубликованных в NCBI. Для рис. 1, 2: последовательности, определенные в данной работе, отмечены черными кружками и выделены жирным шрифтом; опубликованные ранее последовательности приводятся с номерами доступа; числа в узлах дерева соответствуют величинам бутстреп-поддержек; масштаб эволюционных расстояний соответствует 10 заменам на каждые 100 пн; сокращения видовых названий байкальских губок: BaFun – *Baikalospongia fungiformis*, Lb – *Lubomirskia baicalensis*, ReEch – *Rezinkovia echinata*, SwPap – *Swartschewskia papyracea*.

Филогенетический анализ эукариотической группы микроорганизмов из сообщества *B. fungiformis*

На филогенетическом дереве (рис. 1) последовательности *B. fungiformis* формировали отдельные группы, объединяясь с опубликованными генами поликетидсинтаз байкальских губок, а также с по-

следовательностями PKS охрофитовых (*Nannochloropsis gaditana*) и гаптофитовых (*Emiliana huxleyi* и *Chrysochromulina tobinii*) водорослей.

Наиболее многочисленная группа охрофитовых водорослей (отдел Ochrophyta) включала семь фрагментов генов PKS из микробиома *B. fungiformis* (27-

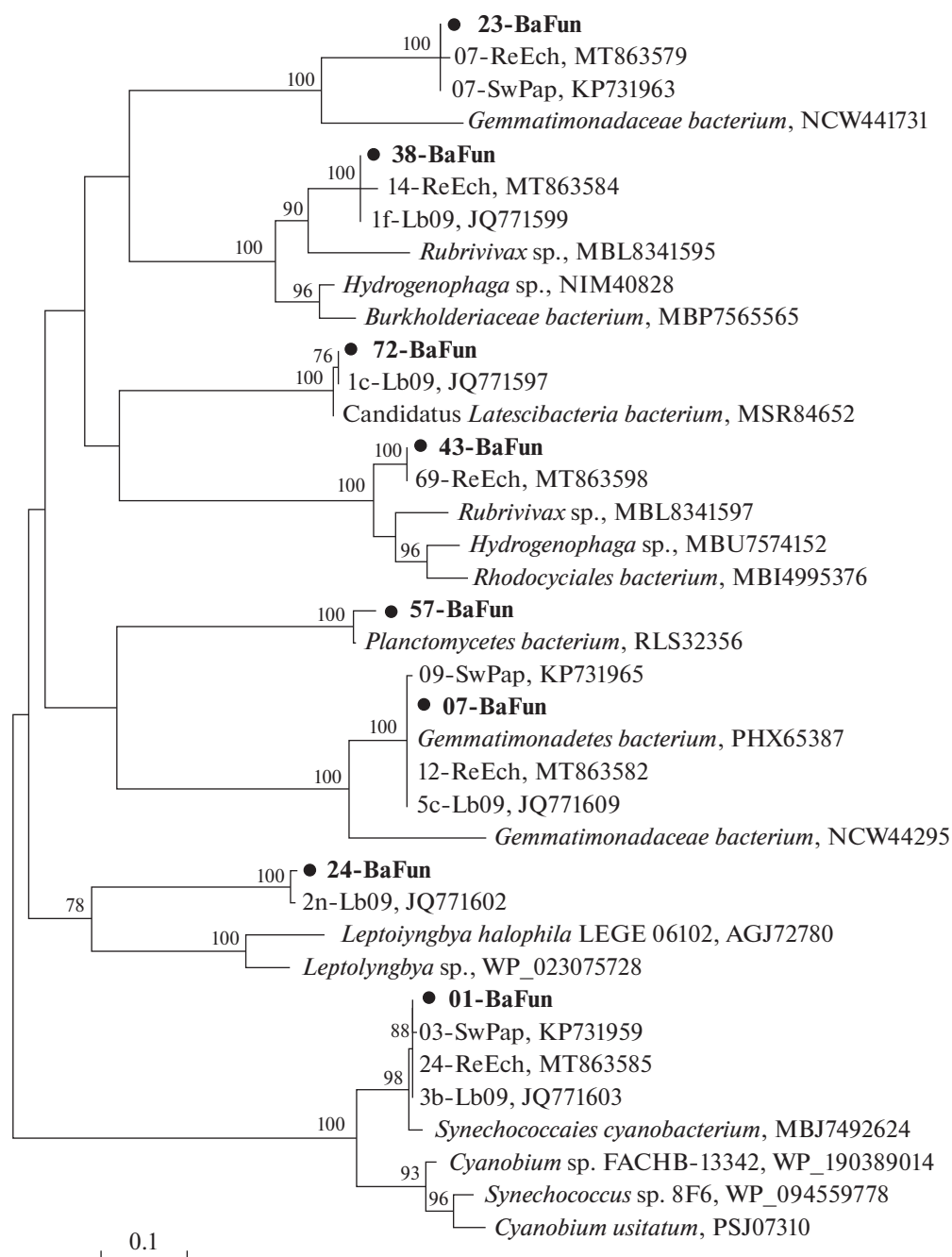


Рис. 2. Филогенетическое дерево прокариотических PKS из сообщества *B. fungiformis*, построенное ML-методом.

BaFun, 02-BaFun, 10-BaFun, 03-BaFun, 19-BaFun, 82-BaFun, 78-BaFun), 17 последовательностей из сообществ других байкальских губок (*L. baicalensis*, *S. papyracea*, *R. echinata*) и четыре родственные последовательности вида *Nannochloropsis gaditana*. При этом идентичность PKS *B. fungiformis* и *N. gaditana* по аминокислотным последовательностям составляла 72–88%. На филогенетическом дереве также видно (рис. 1), что внутри основной группы поликетидсинтазы разных видов байкальских губок сформировали отдельные “байкальские клады”.

Высокое разнообразие PKS охрофитовых водорослей в микробиомах байкальских губок свидетельствует о важной роли этих микроорганизмов в функционировании водных сообществ экосистемы оз. Байкал. Виды рода *Nannochloropsis* – это жгутиковые одноклеточные микроводоросли, населяющие как морские, так и пресноводные места обитания [49]. В оз. Байкал ранее был обнаружен вид *Nannochloropsis limnetica*, присутствие которого в фитопланктонных пробах наблюдалось в течение всего года [50]. Максимальная продуктивность

этих водорослей приходится на коротковолновый (сине-зеленый) спектр освещения в связи с тем, что их фотосинтетический аппарат содержит только хлорофилл *a* [51]. Из-за высокой скорости наращивания клеточной биомассы *Nannochloropsis* используется как источник биокормов, а также разнообразных биомолекул (липиды, пигменты, белки), потенциально важных для профилактики и лечения заболеваний человека [52].

Гены поликетидсинтаз гаптофитовых водорослей в сообществе *B. fungiformis* представлены тремя последовательностями (рис. 1). Отдел *Harporhyta* – фототрофные и миксотрофные жгутиконосцы, обеспечивающие до 40% первичной продукции в Мировом океане [53]. Единичная последовательность 36-BaFun объединяется на филогенетическом дереве (рис. 1) с геном PKS штамма *Chrysochromulina tobinii* ССМР291 (97% идентичности по АА), изолированного из оз. Колорадо (Colorado Lake). В эту немногочисленную группу входят также PKS двух других байкальских губок: *L. baicalensis* и *R. echinata*. Высокая идентичность последовательности из микробиома *B. fungiformis* с поликетидсинтазой пресноводного рода *Chrysochromulina* свидетельствует о присутствии микроорганизмов именно этой таксономической группы в сообществах байкальских губок. *Chrysochromulina* – широко распространенный род в отделе гаптофитовых водорослей, встречается в изобилии в составе океанического и озерного микропланктона [54]. Например, вид *Chrysochromulina parva* достигал массового развития в сообществах континентальных озер: Танганьика, Кеннерет, Ланао (Lakes: Tanganyika, Kinneret, Lanao) [55]. В оз. Байкал этот вид также встречался в разные годы в составе фитопланктонных сообществ [56] и, кроме того, был обнаружен в фототрофном микробиоме губки *B. intermedia* [57]. Данные геномного и транскриптомного анализов вида *C. tobinii* показали потенциальную способность данного микроорганизма продуцировать антимикробные пептиды и протеины благодаря наличию гибридных комплексов поликетидсинтаз/нерибосомных пептидсинтаз [53].

Две последовательности, 22-BaFun и 77-BaFun, проявляли гомологию с поликетидсинтазами другой гаптофитовой водоросли, *E. huxleyi* (идентичность по АА составляла 57–58%). На филогенетическом дереве они образовали одну группу, объединяясь с PKS других видов байкальских губок: восемью последовательностями *L. baicalensis* и семью – *R. echinata* (рис. 1). Низкий процент идентичности с ближайшими гомологами и отсутствие в базе данных близкородственных генов не позволяют однозначно утверждать о принадлежности фрагментов 22-BaFun и 77-BaFun к конкретному виду водорослей. К тому же в оз. Байкал вид *E. huxleyi* ранее обнаружен не был: это морская микроводоросль, кокколитофор, которая является

главным фиксатором карбонатов в мировом океане [55]. Однако в работе Yi с соавт. [58] по метагеномному секвенированию эукариотических микроорганизмов водной толщи Байкала было показано присутствие в озере родственных видов гаптофитовых водорослей семейства *Coccolithaceae*: одноклеточных планктонных водорослей рода *Braarudosphaera*, образующих на поверхности клетки известковые пластинки. На основании этих данных можно предположить, что в состав микробиомов губок Байкала могут входить эукариотические микроорганизмы семейства *Coccolithaceae*, в геноме которых присутствуют гены БАВ.

Филогенетический анализ прокариотической группы микроорганизмов из сообщества B. fungiformis

Восемь последовательностей, идентифицированных в сообществе *B. fungiformis*, на филогенетическом дереве (рис. 2) формировали независимые ветви с ближайшими гомологами PKS бактериальных различных таксономических групп. Так, последовательности 23-BaFun и 07-BaFun проявляли 77 и 82% идентичности по АА с PKS *Gemmatimonadaceae bacterium* (филум *Gemmatimonadaceae*) из микробиома р. Чаттахучи (Chattahoochee River). На дереве они образовывали две разные ветви, объединяясь с фрагментами генов из микробиомов байкальских губок: в группе 23-BaFun присутствовали последовательности из сообществ *S. papyracea* и *R. echinata*; в группе 07-BaFun – из сообществ *L. baicalensis*, *S. papyracea* и *R. echinata* (рис. 2). Интересно, что среди высокоидентичных последовательностей в группе 07-BaFun присутствовала также последовательность PKS *Gemmatimonadaceae bacterium* (Baikal-G1), ранее выявленная в подледных сообществах Байкала [59]. *Gemmatimonas* – малоизученный филум, который был описан сравнительно недавно [42]. Это содержащие хлорофилл *a* фототрофные микроорганизмы, представленные к настоящему времени тремя видами [60–63]. Анализ данных секвенирования 1706 метагеномных сообществ позволил оценить широту распространения представителей данного филума [63] и установить, что виды рода *Gemmatimonas* населяют разнообразные как наземные (почвы, активный ил и соленые озера пещер), так и морские (глубоководные отложения, газовые гидраты, арктическая морская вода, прибрежные осадки и симбиотические ассоциации морских губок) среды обитания [61–63]. В байкальских сообществах *Gemmatimonadaceae bacterium* был обнаружен в микробиоме губки *S. papyracea* [39], а также в составе подледного микробиома, где был идентифицирован бактериальный генотип Baikal-G1, родственного виду *Gemmatimonadetes phototrophica* из оз. Свон (Lake Swan) [59].

Последовательности 43-BaFun и 38-BaFun проявляли 86–88% идентичности с поликетидсинтазами I типа, принадлежащими микроорганизмам порядка Burkholderiales (класс Betaproteobacteria): *Rubrivivax* sp. и *Hydrogenophaga* sp. На филогенетическом дереве эти последовательности образовывали две отдельные ветви, объединяясь также с PKS из байкальских губок *R. echinata* и *L. baicalensis*. Представители порядка Burkholderiales являются типичными для байкальских микробиомов: их высокая численность отмечалась в планктонных пробах Байкала [64], а также метагеномных сообществах байкальских губок *Lubomirskia baicalensis* и *Baikalospongia* sp. [38].

Род *Rubrivivax* – это пурпурные несерные бактерии-фотосинтетики, способные к фиксации азота и утилизации органических субстратов [65]. Эти микроорганизмы встречаются в пресноводных сообществах, микробиомах илистых грунтов, сточных водах, болотистой почве [66], микробных матах термальных источников [67, 68], а также в составе микробного консорциума в районах выхода метана [69]. В качестве ближайших гомологов PKS 43-BaFun и 38-BaFun на филогенетическом дереве присутствуют последовательности *Rubrivivax* sp. из метагеномного сообщества илистых осадков биореактора (рис. 2). Обе группы включали также последовательности PKS бактерий *Hydrogenophaga* sp., водород-окисляющих факультативных автотрофов, из сообществ морских отложений (NIM440828, группа 38-BaFun) и почвенного микробиома (MBU7574152, группа 43-BaFun). В оз. Байкал штаммы *Hydrogenophaga* sp. были недавно выделены из эпипитических (обрастающих поверхности камней) биопленок [70], поэтому присутствие данных микроорганизмов в сообществе байкальских губок является закономерным.

Среди ближайших гомологов в группе 43-BaFun присутствовала также последовательность PKS *Rhodocyclales bacterium* (идентичность по AA составляла 86%) из метагеномного сообщества подземных вод, принадлежащая порядку Rhodocyclales. Данный порядок является ключевым таксоном в сообществе микроорганизмов активного ила в системах очистки сточных вод, где его представители участвуют в биодеградации фосфатов, утилизации полициклических ароматических углеводородов и денитрификации [71].

Мы предполагаем, что вышеперечисленные представители класса Betaproteobacteria могут выполнять в сообществах байкальских губок как гетеротрофные функции, участвуя в утилизации органических веществ и продуктов распада, так выступать в качестве первичных продуцентов.

Последовательность 72-BaFun формирует группу близкородственных генов (с гомологией 99%), объединяясь на дереве с PKS *L. baicalensis*, а также последовательностью микроорганизма, принад-

лежащего филуму-кандидату *Latescibacteria* (99% идентичности), который был недавно обнаружен при анализе подледного сообщества Байкала (рис. 2) [59]. Представители *Latescibacteria* – повсеместно распространенные микроорганизмы, населяющие пресноводные и морские места обитания, в том числе и бескислородные слои придонного ила, а также сточные воды [72]. Метаболическая реконструкция по данным геномного секвенирования свидетельствует о сапрофитном образе жизни данных микроорганизмов, их способности к расщеплению клеточных липидов, гликопротеинов и полисахаридов, являющихся компонентами клеточных стенок зеленых (отделы Charophyta и Chlorophyta) и бурых (отдел Phaeophyceae) водорослей [72, 73]. Присутствуя в байкальских микробиомах, данные бактерии, по всей видимости, участвуют в утилизации органических веществ и переработке отмерших организмов сообщества, обеспечивая круговорот веществ в природе.

Две цианобактериальные PKS *B. fungiformis* (24-BaFun и 01-BaFun) на филогенетическом дереве формируют независимые ветви (рис. 2). Последовательность 24-BaFun из микробиома *B. fungiformis* объединялась с PKS из микробиома байкальской губки *L. baicalensis* (99% идентичности по AA) и родственными последовательностями (65–68% идентичности по AA) морских нитчатых цианобактерий рода *Leptolyngbia* (рис. 2). Виды рода *Leptolyngbia* – космополитные микроорганизмы, способные к азотфиксации, фотосинтезу, а также синтезу различных вторичных метаболитов [74]. В оз. Байкал цианобактерии данной группы в последние годы активно развивались в составе биопленок на различных подводных субстратах [75], а также формировали слизистые чехлы на поверхности ветвей больших губок, наряду с другими нитчатыми цианобактериями [76].

Последовательность 01-BaFun группировалась с генами PKS из сообществ трех других видов байкальских губок (99–100% идентичности по AA), формируя на дереве “байкальскую кладу” (рис. 2), куда входили также поликетидсинтазы пикоцианобактерий порядка Synechococcales (87–99% идентичности по AA). При этом наибольшее родство (идентичность 97%) с байкальскими последовательностями проявляла PKS цианобактерии из Североамериканского оз. Супериор (Superior) (рис. 2). Представители родов *Cyanobium* и *Synechococcus*, присутствующие в данной группе, являются характерными для водных сообществ Байкала, где они достигают массового развития в периоды цветения автотрофного пикопланктона [77]. Известно, что пикоцианобактерии благодаря своим размерам (0.2–3 мкм) способны легко проникать в тело губки через систему фильтрующих каналов, они принимают участие в процессах фотосинтеза и азотфиксации [42] и являются для губок альтернативным источником углерода [78].

Цианобактериальные последовательности рибосомальной РНК в сообществах байкальских губок были идентифицированы в целом ряде работ [35–40, 57, 79, 80]. При этом цианобактерии не были обнаружены в глубоководных сообществах губок, что связано, вероятнее всего, с отсутствием света на больших глубинах [37]. Важно также отметить, что численность цианобактерий повышалась в микробиомах больных губок, подверженных обесцвечиванию [79] или некрозу тканей [40]. Биотехнологическая значимость сине-зеленых водорослей в природных сообществах обусловлена их способностью продуцировать широкий спектр метаболитов поликетидной природы, обладающих цитотоксичной, антигрибковой, антивирусной, антипротеазной и другими активностями [81].

PKS 57-BaFun на дереве объединяется с последовательностью *Planctomycetes bacterium* (идентичность по AA составляет 97%) из пресноводного резервуара (рис. 2). Представители филума *Planctomycetes* населяют пресноводные и морские сообщества, почвенные микробиомы, сообщества микроорганизмов сфагновых болот, а также термальные источники, богатые соединениями серы. Эти бактерии принимают участие в анаэробном окислении аммония, в ходе которого образуется элементарный азот, а также обладают способностью деградировать углеводороды, продуцируемые фитопланктоном [82–84]. Рибосомальные гены *Planctomycetes* присутствовали в микробиомах космополитных губок *Ephydatia fluviatilis* [85], *Eunapius carter* и *Corvospongilla lapidosa* [86], а также сообществах байкальских эндемиков *L. baicalensis* [38–40], *Baikalospongia* sp. [38] и *S. parvuracea* [31]. Численность бактерий данного филума повышалась в сообществах байкальских губок, пораженных некрозом тканей [40]. Важно отметить, что представители *Planctomycetes*, обладающие потенциальной биологической активностью, впервые обнаружены в микробиоме байкальской губки: 57-BaFun – единственная последовательность PKS из сообщества *B. fungiformis*, для которой не выявлено гомологов среди микроорганизмов других видов байкальских губок. Этот факт может свидетельствовать о видоспецифичности данного микроорганизма для сообщества *B. fungiformis*.

Результаты настоящего исследования показали, что в микробном сообществе пресноводной губки *B. fungiformis* присутствуют гены поликетидсинтаз, принадлежащих бактериям и водорослям разнообразных таксономических групп. Интересно, что более половины идентифицированных последовательностей имели эукариотическую природу, что свидетельствует о важной экологической роли микроводорослей (в особенности представителей рода *Nannochloropsis*) в сообществах байкальских губок и их биотехнологическом потенциале. Большинство выявленных последовательностей формировали на филогенетическом дереве от-

дельные “байкальские клады” вместе с PKS из микробиомов других видов губок Байкала. По всей видимости, в состав микробных ассоциаций байкальских губок входят близкородственные, а возможно и идентичные группы микроорганизмов – потенциальных продуцентов БАВ, образуя “коровое” сообщество губки. Вместе с тем целый ряд филогенетически близких последовательностей PKS принадлежали планктонным байкальским микроорганизмам, свидетельствуя о тесном взаимодействии симбиотического микробиома гидробионта-хозяина и сообщества окружающей губку среды. Таксономический спектр микроорганизмов в сообществе *B. fungiformis* указывает на их участие в накоплении первичной продукции, фиксации азота, а также на способность утилизировать органические субстраты. Низкий процент идентичности ряда последовательностей PKS (например, в группах 38-BaFun, 23-BaFun, 43-BaFun, 24-BaFun) с известными генами БАВ свидетельствует о возможном присутствии в сообществах губок Байкала микроорганизмов, способных продуцировать новые биоактивные метаболиты. Стоит также отметить, что в микробиоме *B. fungiformis* впервые для сообществ байкальских губок была обнаружена последовательность PKS, принадлежащая бактериям филума *Planctomycetes*.

Результаты проведенной работы расширяют наши знания о разнообразии генов биоактивных метаболитов поликетидной природы в микробных ассоциациях пресноводных губок и демонстрируют перспективность дальнейших исследований в направлении поиска новых БАВ в некультивируемых природных сообществах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Иркутской области в рамках проекта № 20-44-380023 p_a (молекулярно-биологические исследования) и госбюджетной темы № 0279-2021-0011 “Геномика симбиоза. Исследование взаимодействий между хозяином и консорциумами микроорганизмов и паразитов” (обеспечение экспериментальным оборудованием).

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Webster N.S., Taylor M.W. Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships // *Environ. Microbiol.* 2012. V. 14. № 2. P. 335–346. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02460.x>
2. Thomas T.R., Kavlekar D.P., LokaBharathi P.A. Marine drugs from sponge microbe association – a review // *Mar. Drugs.* 2010. V. 8. P. 1417–1468. <https://doi.org/10.3390/md8041417>

3. *Khalifa S.A.M., Elias N., Farag M.A. et al.* Marine natural products: A source of novel anticancer drugs // *Mar. Drugs*. 2019. V. 17. № 9. <https://doi.org/10.3390/md17090491>
4. *Ehrenreich I., Waterbury J., Webb E.* Distribution and diversity of natural product genes in marine and freshwater cyanobacterial cultures and genomes // *Appl. Environ. Microb.* 2005. V. 71. P. 7401–7413. [https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7401–7413.2005](https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7401-7413.2005)
5. *Weissman K.J.* Introduction to polyketide biosynthesis // *Methods Enzymol.* 2009. V. 459. P. 3–16. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)04601-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)04601-1)
6. *Yu D., Xu F., Zeng J. et al.* Type III polyketide synthases in natural product biosynthesis // *IUBMB Life*. 2012. V. 64. P. 285–295. <https://doi.org/10.1002/iub.1005>
7. *Mullis M.M., Rambo I.M., Baker B.J. et al.* Diversity, ecology, and prevalence of antimicrobials in nature // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02518>
8. *Wang B., Guo F., Huang C. et al.* Unraveling the iterative type I polyketide synthases hidden in *Streptomyces* // *PNAS*. 2020. V. 117. № 15. P. 8449–8454. <https://doi.org/10.1073/pnas.1917664117>
9. *Kurnia N.M., Uria A.R., Yudi Kusnadi Y. et al.* Metagenomic survey of potential symbiotic bacteria and polyketide synthase genes in an Indonesian marine sponge // *HAYATI J. Biosci.* 2017. V. 24. № 1. P. 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.04.004>
10. *Hertweck C.* The biosynthetic logic of polyketide diversity // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2009. V. 48. № 26. P. 4688–4716. <https://doi.org/10.1002/anie.200806121>
11. *Ansari M.Z., Yadav G., Gokhale R.S. et al.* NRPS-PKS: A knowledge-based resource for analysis of NRPS/PKS megasynthases // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. 405–413. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh359>
12. *Moffitt M.C., Neilan B.A.* Evolutionary affiliations within the superfamily of ketosynthases reflect complex pathway associations // *J. Mol. Evol.* 2003. V. 56. P. 446–457. <https://doi.org/10.1007/s00239-002-2415-0>
13. *Kennedy J., Codling C.E., Jones B.V. et al.* Diversity of microbes associated with the marine sponge, *Haliclona simulans*, isolated from Irish waters and identification of polyketide synthase genes from the sponge metagenome // *Environ. Microbiol.* 2008. V. 10. P. 1888–1902. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01614.x>
14. *Hochmuth T., Piel J.* Polyketide synthases of bacterial symbionts in sponges—evolution-based applications in natural products research // *Phytochem.* 2009. V. 70. № 15–16. P. 1841–1849. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.04.010>
15. *Newman D.J., Cragg G.M.* Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010 // *J. Nat. Prod.* 2012. V. 75. P. 311–335. <https://doi.org/10.1021/np200906s>
16. *Jenke-Kodama H., Dittmann E.* Evolution of metabolic diversity: Insights from microbial polyketidesynthases // *Phytochem.* 2009. V. 70. P. 1858–1866. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.021>
17. *Esteves A.I., Hardoim C.C., Xavier J.R. et al.* Molecular richness and biotechnological potential of bacteria cultured from Irciniidae sponges in the north-east Atlantic // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013. V. 85. № 3. P. 519–536. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12140>
18. *Della Sala G., Hochmuth T., Teta R. et al.* Polyketide synthases in the microbiome of the marine sponge *Plakortis halichondrioides*: a metagenomic update // *Mar. Drugs*. 2014. V. 12. P. 5425–5440. <https://doi.org/10.3390/md12115425>
19. *Trindade-Silva A.E., Rua C.P.J., Andrade B.G.N. et al.* Polyketide synthase gene diversity within the microbiome of the sponge *Arenosclera brasiliensis*, endemic to the Southern Atlantic Ocean // *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79. № 5. P. 1598–1605. <https://doi.org/10.1128/AEM.03354-12>
20. *Woodhouse J.N., Fan L., Brown M.V. et al.* Deep sequencing of non-ribosomal peptide synthases and polyketide synthases from the microbiomes of Australian marine sponges // *ISME J.* 2013. V. 7. № 9. P. 1842–1851. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.65>
21. *Santos O.C., Soares A.R., Machado F.L. et al.* Investigation of biotechnological potential of sponge-associated bacteria collected in Brazilian coast // *Letts. Appl. Microbiol.* 2015. V. 60. № 2. P. 140–147. <https://doi.org/10.1111/lam.12347>
22. *Borchert E., Jackson S.A., O’Gara F. et al.* Diversity of natural product biosynthetic genes in the microbiome of the deep sea sponges *Inflatella pellicula*, *Poecillastra compressa*, and *Stelletta normani* // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01027>
23. *Talevska A., Pejin B., Beric T. et al.* Further insight into the bioactivity of the freshwater sponge *Ochridaspongia rotunda* // *Pharm. Biol.* 2017. V. 55. № 1. P. 1313–1316. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1297468>
24. *Talevska A., Pejin B., Kojic V. et al.* A contribution to pharmaceutical biology of freshwater sponges // *Nat. Prod. Res.* 2018. V. 32. № 5. P. 568–571. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1315719>
25. *Keller-Costa T., Jousset A., van Overbeek L. et al.* The freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* harbours diverse *Pseudomonas* species (Gammaproteobacteria, Pseudomonadales) with broad-spectrum antimicrobial activity // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 2. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088429>
26. *Laport M.S., Pinheiro U., Rachid C.T.C.D.C.* Freshwater sponge *Tubella variabilis* presents richer microbiota than marine sponge species // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02799>
27. *Gernert C., Glockner F.O., Krohne G. et al.* Microbial diversity of the freshwater sponge *Spongilla lacustris* // *Microb. Ecol.* 2005. V. 50. P. 206–212. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0172-x>
28. *Costa R., Keller-Costa T., Gomes N.C.M. et al.* Evidence for selective bacterial community structuring in the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* // *Microb. Ecol.*

2013. V. 65. P. 232–244.
<https://doi.org/10.1007/s00248-012-0102-2>
29. *Gaikwad S., Shouche Y.S., Gade W.N.* Microbial community structure of two freshwater sponges using Illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity // *AMB Expr.* 6. 2016. V. 6. P. 40.
<https://doi.org/10.1186/s13568-016-0211-2>
30. *Калюжная О.В., Кулакова Н.В., Ицкович В.Б.* Разнообразии генов поликетидсинтаз (PKS) в метагеномном сообществе пресноводной губки *Lubomirskia baicalensis* // *Мол. биология.* 2012. Т. 46. № 6. С. 887–893.
<https://doi.org/10.1134/S002689331206009X>
31. *Калюжная О.В., Ицкович В.Б.* Особенности микробного разнообразия и спектра генов поликетидсинтаз в сообществе эндемичной байкальской губки *Swartschewskia papuracea* // *Генетика.* 2016. Т. 52. № 1. С. 47–58.
<https://doi.org/10.1134/S1022795416010099>
32. *Калюжная О.В., Липко И.А., Ицкович В.Б. и др.* 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.
33. *Липко-Теркина И.А., Калюжная О.В., Кравченко О.С. и др.* Идентификация генов поликетидсинтаз (PKS) геноме штамма *Pseudomonas fluorescens* 28Bb-06 из пресноводной губки *Baikalospongia bacillifera* // *Мол. биология.* 2012. Т. 46. № 4. С. 677–679.
<https://doi.org/10.1134/S0026893312040073>
34. *Ефремова С.М.* Губки (Porifera) // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / Под ред. Тимошкина О.А., Ситниковой Т.Я., Русинек О.Т. и др. Новосибирск: Наука, 2001. Т. 1. С. 177–190.
35. *Калюжная О.В., Кривич А.А., Ицкович В.Б.* Разнообразие генов 16S рРНК в метагеномном сообществе пресноводной губки *Lubomirskia baicalensis* // *Генетика.* 2012. Т. 48. № 8. С. 1003–1006.
<https://doi.org/10.1134/S1022795412070058>
36. *Kaluzhnaya O.V., Itskovich V.B., McCormack G.P.* Phylogenetic diversity of bacteria associated with the endemic freshwater sponge *Lubomirskia baicalensis* // *World J. Microb. Biotech.* 2011. V. 27. № 8. P. 1955–1959.
<https://doi.org/10.1007/s11274-011-0654>
37. *Калюжная О.В., Ицкович В.Б.* Филогенетическое разнообразие микроорганизмов, ассоциированных с глубоководной губкой *Baikalospongia intermedia* // *Генетика.* 2014. Т. 50. № 7. С. 765–776.
38. *Гладких А.С., Калюжная О.В., Белых О.И. и др.* Анализ бактериального сообщества двух эндемичных видов губок из озера Байкал // *Микробиология.* 2014. Т. 83. № 6. С. 682–693.
<https://doi.org/10.1134/S002626171406006X>
39. *Seo E.-Y., Jung D., Belykh O.I. et al.* Comparison of bacterial diversity and species composition in three endemic Baikalian sponges // *Ann. Limnol.* 2016. V. 52. P. 27–32.
<https://doi.org/10.1051/limn/2015035>
40. *Kulakova N., Sakirko M., Adelshin R. et al.* Brown rot syndrome and changes in the bacterial community of the Baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* // *Microb. Ecol.* 2018. V. 75. № 4. P. 1024–1034.
<https://doi.org/10.1007/s00248-017-1097-5>
41. *Кожов М.М.* Биология озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 315 с.
42. *Barrios-Llerena M.E., Burja A.M., Wright P.C.* Genetic analysis of polyketide synthase and peptide synthetase genes in cyanobacteria as a mining tool for secondary metabolites // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2007. V. 34. P. 443–456.
<https://doi.org/10.1007/s10295-007-0216-6>
43. *Chang A.Y., Chau V.W.Y., Landas J.A. et al.* Preparation of calcium competent *Escherichia coli* and heat-shock transformation // *JEMI-Methods.* 2017. V. 1. P. 22–25. (<https://jemi.microbiology.ubc.ca/node/127>)
44. *Маниатис Т., Фринч Э., Сэмбрук Д.* Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.
45. *Hall T.A.* BioEdit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids Symp.* 1999. V. 41. P. 95–98.
46. *Altschul S.F., Warren G., Miller W. et al.* Basic local alignment search tool // *J. Mol. Biol.* 1990. V. 215. P. 403–410.
[https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
47. *Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S.* MEGA4: Molecular genetics analysis (MEGA) software version 4.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2007. V. 24. P. 1596–1599.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>
48. *Kaluzhnaya O., Itskovich V.* Diversity of potential producers of bioactive metabolites having polyketide nature in the Baikal sponge community of *Rezinkovia echinata* // *Limnology and Freshwater Biology.* 2020. № 3. P. 423–428.
<https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-3-423>
49. *Fawley K.P., Fawley M.W.* Observations on the diversity and ecology of freshwater *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae), with descriptions of new taxa // *Protist.* 2007. V. 158. № 3. P. 325–336.
<https://doi.org/10.1016/j.protis.2007.03.003>
50. *Fietz S., Bleis W., Hepperle D. et al.* First record of *Nannochloropsis limnetica* (Eustigmatophyceae) in the autotrophic phytoplankton from Lake Baikal // *J. Phycol.* 2005. V. 41. № 4. P. 780–790.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2005.04198.x>
51. *Tamburic B., Szaby M., Tran N.-A.T. et al.* Action spectra of oxygen production and chlorophyll *a* fluorescence in the green microalga *Nannochloropsis oculata* // *Bioresour. Technol.* 2014. V. 169. P. 320–327.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.008>
52. *Zhang R., Parniakov O., Grimi N. et al.* Emerging techniques for cell disruption and extraction of valuable bio-molecules of microalgae *Nannochloropsis* sp. // *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 2019. V. 42. № 2. P. 173–186.
<https://doi.org/10.1007/s00449-018-2038-5>
53. *Hovde B.T., Deodato C.R., Hunsperger H.M. et al.* Genome sequence and transcriptome analyses of *Chrysochromulina tobinii*: Metabolic tools for enhanced algal fitness in the prominent order Prymnesiales (Haptophyceae) // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 9.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005469>

54. *Deodatao C., Barlowb S.B., Hovdec B.T. et al.* Naked Chrysochromulina (Haptophyta) isolates from lake and river ecosystems: an electron microscopic comparison including new observations on the type species of this taxon // PLoS Genet. 2019. V. 40. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101492>
55. *Eikrem W., Medlin L.K., Henderiks J. et al.* Haptophyta // Handbook of the Protists Cham. Switzerland: Springer, 2016. P. 893–953. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32669-6_38-1
56. *Izmes't'eva L.R., Silowa E.A., Litchmanb E.* Long-term dynamics of Lake Baikal pelagic phytoplankton under climate change // Inland Water Biol. 2011. V. 4. P. 301–307. <https://doi.org/10.1134/S1995082911030102>
57. *Калюжная О.В., Ицкович В.Б.* Фототрофные микроорганизмы в симбиотических сообществах байкальских губок: разнообразие последовательностей генов белка D1 фотосистемы II (PsbA) // Мол. биология. 2017. Т. 51. № 3. С. 372–378. <https://doi.org/10.1134/S0026893317030086>
58. *Yi Z., Berney C., Hartikainen H. et al.* High-throughput sequencing of microbial eukaryotes in Lake Baikal reveals ecologically differentiated communities and novel evolutionary radiations // FEMS Microbiol. Ecol. 2017. V. 93. № 8. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix073>
59. *Cabello-Yeves P.J., Zemskaya T.I., Rosselli R. et al.* Genomes of novel microbial lineages assembled from the sub-ice waters of Lake Baikal // Appl. Environ. Microbiol. 2018. V. 84. № 1. <https://doi.org/10.1128/AEM.02132-17>
60. *Zhang H., Sekiguchi Y., Hanada S. et al.* *Gemmatimonas aurantiaca* gen. nov., sp. nov., a Gram-negative, aerobic, polyphosphate-accumulating micro-organism, the first cultured representative of the new bacterial phylum *Gemmatimonadetes* phyl. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. V. 53. P. 1155–1163. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.02520-0>
61. *Zeng Y., Selyanin V., Lukes M. et al.* Characterization of the microaerophilic, bacteriochlorophyll *a*-containing bacterium *Gemmatimonas phototrophica* sp. nov., and emended descriptions of the genus *Gemmatimonas* and *Gemmatimonas aurantiaca* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2015. V. 65. P. 2410–2419. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12363>
62. *Zeng Y., Baumbach J., Barbosa E.G.V. et al.* Metagenomic evidence for the presence of phototrophic Gemmatimonadetes bacteria in diverse environments // Environ. Microbiol. Rep. 2016. V. 8. P. 139–149. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12363>
63. *Zeng Y., Nupur N., Wu N. et al.* *Gemmatimonas groenlandica* sp. nov. is an aerobic anoxygenic phototroph in the phylum Gemmatimonadetes // Front. Microbiol. 2021. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.606612>
64. *Парфенова В.В., Гладких А.С., Бельх О.И.* Сравнительный анализ биоразнообразия бактериальных сообществ планктона и биопленки в озере Байкал // Микробиология. 2013. Т. 82. № 1. С. 94–105. <https://doi.org/10.7868/S0026365613010126>
65. *Hu P., Lang J., Wawrousek K. et al.* Draft genome sequence of *Rubrivivax gelatinosus* CBS // J. Bacteriol. 2012. V. 194. № 12. P. 3262. <https://doi.org/10.1128/JB.00515-12>
66. *Nagashima S., Kamimura A., Shimizu T. et al.* Complete genome sequence of phototrophic betaproteobacterium *Rubrivivax gelatinosus* IL144 // J. Bacteriol. 2012. V. 194. № 13. P. 3541–3542. <https://doi.org/10.1128/JB.00511-12>
67. *Каукак Е.С., Гайсин В.А., Дагурова О.П. и др.* Формирование и функционирование микробных матов минерального источника Хойто-Гол (Восточный Саян) // Изв. Самарского науч. центра РАН. 2016. Т. 18. № 2. С. 397–402.
68. *Hisada T., Okamura K., Hiraishi A.* Isolation and characterization of phototrophic purple nonsulfur bacteria from Chloroflexus and Cyanobacterial mats in hot Springs // Microbes and Environments. 2000. V. 22. № 4. P. 405–411. <https://doi.org/10.1264/jsme.2.22.405>
69. *Hesselsoe M., Boysen S., Iversen N. et al.* Degradation of organic pollutants by methane grown microbial consortia // Biodegradation. 2005. V. 16. № 5. P. 435–448. <https://doi.org/10.1007/s10532-004-4721-2>
70. *Суханова Е.В., Штыкова Ю.Р., Сулова М.Ю. и др.* Разнообразие и физиолого-биохимические свойства гетеротрофных бактерий, изолированных из эпиплентических биопленок озера Байкал // Микробиология. 2019. Т. 88. № 3. С. 345–357. <https://doi.org/10.1134/S0026365619030145>
71. *Wang Z., Li W., Li H. et al.* Phylogenomics of Rhodocyclales and its distribution in wastewater treatment systems // Sci. Rep. V. 10. № 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60723-x>
72. *Youssef N.H., Farag I.F., Rinke C. et al.* In silico analysis of the metabolic potential and niche specialization of candidate phylum “Latescibacteria” (WS3) // PLoS One. 2015. V. 10. № 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127499>
73. *Farag I.F., Youssef N.H., Elshahed M.S.* Global distribution patterns and pangenomic diversity of the candidate phylum “Latescibacteria” (WS3) // Appl. Environ. Microbiol. 2017. V. 83. № 10. <https://doi.org/10.1128/AEM.00521-17>
74. *Li Y., Naman C.B., Alexander K.L. et al.* The chemistry, biochemistry and pharmacology of marine natural products from *Leptolyngbya*, a chemically endowed genus of *Cyanobacteria* // Mar. Drugs. 2020. V. 18. № 10. <https://doi.org/10.3390/md18100508>
75. *Бельх О.И., Тихонова И.В., Кузьмин А.В. и др.* Токсин-продуцирующие цианобактерии в озере Байкал и водоемах Байкальского региона // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 1. С. 21–27. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-1-021-027>
76. *Калюжная О.В., Ицкович В.Б., Купчинский А.Б.* Молекулярная идентификация цианобактерий, формирующих слизистые обрастания на поверхности эндемичной губки *Lubomirskia baicalensis* // Вода: химия и экология. 2017. № 1. С. 26–33.
77. *Бельх О.И., Тихонова И.В., Сороковикова Е.Г. и др.* Пикопланктонные Суанорокагуота родов *Synechococcus* и *Syanoobium* из озера Байкал (Россия) // Альгология. 2011. Т. 21. С. 36–50.

78. Erwin P.M., Lypez-Legentil S., Gonzalez-Pech R. et al. A specific mix of generalists: bacterial symbionts in Mediterranean *Ircinia* spp. // FEMS Microb. Ecol. 2012. V. 79. № 3. P. 619–637. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01243.x>
79. Калюжная О.В., Ицкович В.Б. Влияние обесцвечивания байкальской губки на таксономический состав симбиотических микроорганизмов // Генетика. 2015. Т. 51. № 11. С. 1335–1340. <https://doi.org/10.7868/S0016675815110077>
80. Kulakova N.V., Denikina N.N., Belikov S.I. Diversity of bacterial photosymbionts in Lubomirskiidae sponges from Lake Baikal // Int. J. Biodiversity. 2014. V. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/152097>
81. Kehr J.-C., Picchi D.G., Dittmann E. et al. Natural product biosynthesis in cyanobacteria: A treasure trove of unique enzymes // Beilstein. J. Org. Chem. 2011. V. 7. P. 1622–1635. <https://doi.org/10.3762/bjoc.7.191>
82. Newton R.J., Jones S.E., Eiler A. et al. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria // Microb. Mol. Biol. Rev. 2011. V. 75. № 1. P. 14–49.
83. Fuerst J.A., Sagulenko E. Beyond the bacterium: Planctomycetes challenge our concepts of microbial structure and function // Nat. Rev. Microbiol. 2011. V. 9. № 6. P. 403–413. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2578>
84. Wiegand S., Jogler M., Jogler C. On the maverick Planctomycetes // FEMS Microbiology Rev. 2018. V. 42. № 6. P. 739–760. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy029>
85. Costa R., Keller-Costa T., Gomes N.C.M. et al. Evidence for selective bacterial community structuring in the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* // Microb. Ecol. 2013. V. 65. P. 232–244. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0102-2>
86. Gaikwad S., Shouche Y.S., Gade W.N. Microbial community structure of two freshwater sponges using Illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity // AMB Express. 2016. V. 6. № 1. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0211-2>

Features of Diversity of Polyketide Synthase Genes in the Community of Freshwater Sponge *Baikalospongia fungiformis*

O. V. Kaluzhnaya^a, * and V. B. Itskovich^a

^a Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Irkutsk, 664033 Russia

*e-mail: kaluzhnaya.oks@gmail.com

In the present study, we analyzed the sequences of polyketide synthases (PKS) gene fragments of microorganisms associated with the endemic Baikal sponge *Baikalospongia fungiformis*. PKS are multienzyme complexes responsible for the synthesis of low molecular weight biologically active metabolites (BAS). Cloning and sequencing of the amplification products of the ketosynthase (KS) domain of PKS in the *B. fungiformis* microbiome revealed 18 unique sequences, most of which were highly identical (97–99%) to the PKS genes of microorganisms from communities of other species of Baikal sponges. On phylogenetic trees, these groups of sequences formed characteristic “Baikal clades”. Apparently, the basic sponge community formed during the co-evolution contains common groups of microorganisms that are potential producers of biologically active substances. BlastX analysis showed that the obtained fragments belonged to bacterial polyketide synthases (phyla Cyanobacteria, Proteobacteria, Planctomycetes, Latescibacteria, Gemmatimonadates), as well as eukaryotic algae (divisions Haptophyta and Ochrophyta). This work indicates a significant biotechnological potential of freshwater sponge communities and the prospects for research in the direction of searching for new natural metabolites in complex freshwater microbiomes.

Keywords: polyketide synthase (PKS) genes, freshwater sponges, *Baikalospongia fungiformis*, microbial community, phylogenetic analysis.