

УДК 579.252:57.083.18

## ГЕНОМ НОВОГО ШТАММА *HALORUBRUM DISTRIBUTUM* ICIS4, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA*

© 2024 г. Е. А. Селиванова<sup>а</sup>,\*, А. С. Балкин<sup>а</sup>, Ю. А. Хлопко<sup>а</sup>,  
В. Я. Катаев<sup>а</sup>, А. О. Плотников<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,  
Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Оренбург, 460000, Россия

\*e-mail: selivanova-81@mail.ru

Поступила в редакцию 16.10.2023 г.

После доработки 19.11.2023 г.

Принята к публикации 19.11.2023 г.

Определена и проанализирована полная последовательность генома нового штамма галоархеи *Halorubrum distributum* ICIS4, выделенного из длительно поддерживаемой в лабораторных условиях каротиногенной культуры микроводоросли *Dunaliella salina*. Геном размером 3.32 МБ включает 3236 белок-кодирующих генов. Из 2817 групп гомологичных генов 11 – уникальны для этого штамма. В геноме выявлены гены утилизации глицерина, крахмала, синтеза витаминов, пигментов и сидерофоров, которые могут участвовать в формировании и поддержания ассоциации с микроводорослями. В геноме обнаружен регион, схожий с вирусом HRPV9, и другой кольцевой контиг, имеющий сходство с фагом галоархеи *Haloquadratum walsbyi*.

**Ключевые слова:** галофильные микроорганизмы, галоархеи, *Halorubrum distributum*, *Dunaliella salina*, прокариоты-ассоцианты микроводоросли

DOI: 10.31857/S0026365624040075

В гипергалинных водоемах галофильные микроводоросли рода *Dunaliella* являются наиболее распространенными представителями фитопланктона, играют ведущую роль в структуре микробиоценоза, выступая в качестве первичного продуцента (Bardavid et al., 2008). Клетки *Dunaliella* синтезируют глицерин в больших количествах в качестве осмопротектора и ключевого компонента питания гетеротрофных сообществ (Open, 2017). Несмотря на активное использование *Dunaliella* в биотехнологии, исследования ассоциаций прокариот с длительно поддерживаемыми культурами данной водоросли малочисленны (Cao et al., 2013; Keerthi et al., 2018). Ранее нами показано преобладание архей рода *Halorubrum* и бактерий рода *Halomonas* в лабораторных культурах микроводорослей *D. parva* (Selivanova et al., 2019), выявлено стимулирующее влияние *Halorubrum tebenquichense* на рост и развитие водоросли *D. parva* (Немцева и соавт., 2013). Важным практическим аспектом исследований ассоциаций водорослей и прокариот является поиск рост-стимулирующих прокариотных культур, который

в основном ограничивался ассоциантами морских видов *Dunaliella* (Le Chevanton et al., 2013) и не затрагивал галофильные, в том числе, биотехнологически важный вид *D. salina*.

Целью данного исследования является анализ генома нового штамма галоархей, выделенного из длительно поддерживаемой в лабораторных условиях культуры *D. salina*.

Штамм архей ICIS 4 получен из лабораторной культуры каротиногенного штамма галофильной зеленой микроводоросли *D. salina* BS2, выделенной в 2012 г. (Соловченко и соавт., 2015) и депонирован в Сетевую коллекцию симбионтных микроорганизмов ИКВС УрО РАН (<https://ikvs.info/biobank>). Культивирование *D. salina* и прокариот-ассоциантов осуществляли в соответствии с методиками, описанными ранее (Немцева и соавт., 2013). Тотальную ДНК из чистой культуры архей выделяли набором Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (“Zymo Research”, США). ДНК библиотеку готовили с применением набора реагентов NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (“New England Biolabs”, США). Высокопроизводительное

секвенирование на приборе MiSeq (“Illumina”, США) проводили с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v.2. Риды фильтровали по качеству ( $Q = 30$ ) и длине (30 н.п.), удаляли адаптеры с применением программы Trimmomatic v. 0.39 (Bolger et al., 2014). Сборку генома проводили с использованием Unicycler (Wick et al., 2017). Качество сборки оценивали в программе Quast v. 5.0.2 (Gurevich et al., 2013), полноту сборки – в BUSCO v. 5.4.3 (Simão et al., 2015) и CheckM v1.1.3 (Parks et al., 2015). Геном аннотировали на сервере NCBI с помощью инструмента для аннотации генома прокариот PGAP (Li et al., 2021). Функциональную аннотацию белок-кодирующих генов проводили с помощью сервера eggNOG-mapper v2 (Cantalapiedra et al., 2021) и алгоритма BlastKOALA (Kanehisa et al., 2016). Мультилокусный филогенетический анализ проводили с использованием последовательностей 81 консервативного гена, выделенных из сборок полных геномов с помощью UBCG v2 (Kim et al., 2021). Показатели сходства геномов: средние уровни идентичности нуклеотидных последовательностей ANI и OrthoANI, средний уровень идентичности аминокислотных последовательностей AAI, рассчитывали с помощью программ OrthoANI (Lee et al., 2015) и EzAAI (Kim et al., 2021) соответственно. Ортологичные группы генов определяли с помощью веб-сервера OrthoVenn3 (Sun et al., 2023). Поиск потенциальных регионов профагов проводили, используя сервер PHASTER (Arndt et al., 2016). Последовательности ДНК штамма ICIS4 депонированы в базе данных GenBank (NCBI): полногеномная сборка (GCA\_033100775.1), ген 16S рРНК (OR711529), отдельная кольцевая, предположительно, вирусная последовательность (OR762182).

В результате секвенирования получено 7099520 парноконцевых ридов (покрытие  $243,1\times$ ), объединившихся в 80 контигов с общей длиной 3.32 МБ, с показателями N50 398903 и L50 4, и высоким GC-контентом (67.8%). Показатель полноты сборки по BUSCO составил 98.2%. Среди 904 референсных белков порядка

*Halobacteriales* 881 присутствовали в сборке в единственной копии, 6 белков были дублированы. Показатели полноты сборки (99.39) и контаминации (0.48) по CheckM (против белков семейства *Halobacteriaceae*) свидетельствуют о высоком качестве сборки генома.

В базе данных GenBank NCBI выявлена схожая (100%) последовательность *Halorubrum terrestre* JCM 10247 (NR113487) при покрытии 99%. Шесть наиболее близких по гену 16S рРНК ( $\geq 99\%$ ) штаммов *Halorubrum* были отобраны для определения сходства геномов: *H. distributum* JCM 9100 и JCM 10118, *H. terrestre* JCM 10247, 22517 05 Cabo, 22502 06 Cabo, *H. litoreum* JCM 13561 (табл. 1).

Геном штамма ICIS4 оказался наиболее сходным с *H. litoreum* JCM 13561 по всем трем показателям: ANI (98.05%), OrthoANI (98.08%) и AAI (97.93%). Сходство с геномами других штаммов также было высоким: 97.71 и более – по данному ANI теста и 97.50 и более – по AAI, что выше общепринятого уровня видовых различий (Chun et al., 2018). Филогеномный анализ с использованием базы данных GenBank показал, что штамм ICIS4 входит в кластер вида *H. distributum* Zvyagintseva and Tarasov 1989; Oren and Ventosa 1996 (дополнительные материалы, рис. S1), к которому, согласно расширенному описанию, относятся штаммы *H. distributum* и *H. terrestre*, выделенные из засоленных почв, *H. arcis* из соленого озера и *H. litoreum* из пруда для выпаривания соли (Infante-Domínguez et al., 2020).

В геноме *H. distributum* ICIS4 с помощью PGAP было обнаружено 3340 генов, среди которых 3236 белок-кодирующих гена, 9 генов, кодирующих рРНК (3 рибосомальных оперона), 51 ген, кодирующий тРНК и 2 гена малых некодирующих РНК. Среди белок-кодирующих генов, 2454 присвоена соответствующая категория COG, 703 гена имеют классификационный номер фермента по международной иерархической классификации (EC number assignment), 24 гена имеют онтологию в базе данных GO. С помощью алгоритма BlastKOALA 1388 белок-кодирующим генам присвоена соответствующая функциональная

**Таблица 1.** Показатели сходства ANI, OrthoANI, AAI генома *Halorubrum distributum* ICIS4 с ближайшими гомологами

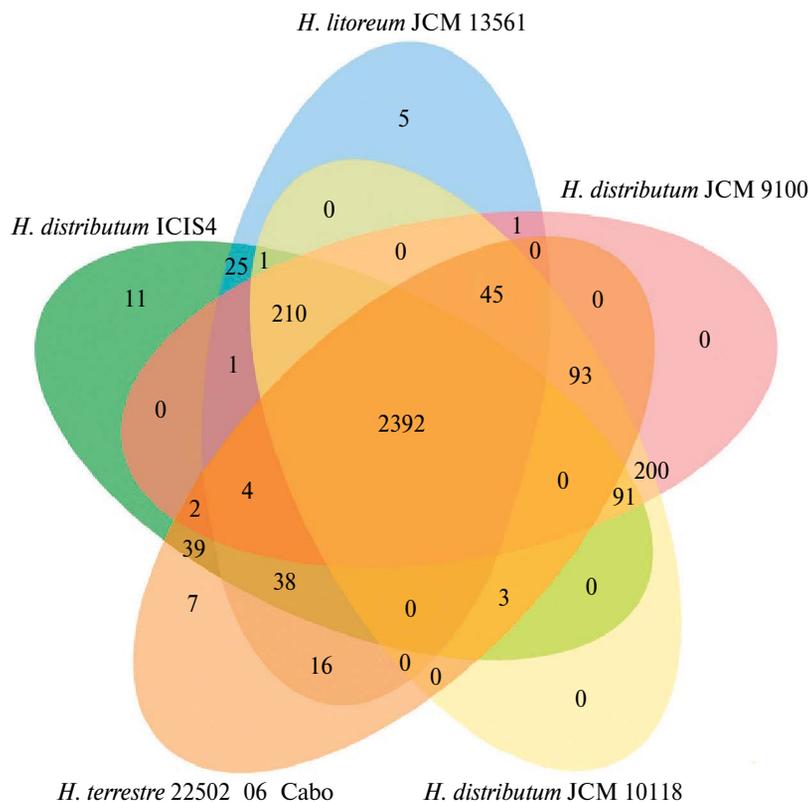
Ближайшие гомологи	Идентификационный номер генома (RefSeq)	ANI	OrthoANI	AAI
<i>H. distributum</i> JCM 9100	GCF_000337055	97.76	97.86	97.74
<i>H. distributum</i> JCM 10118	GCF_000337335	97.76	97.85	97.73
<i>H. litoreum</i> JCM 13561	GCF_000337395	98.05	98.08	97.93
<i>H. terrestre</i> JCM 10247	GCF_000337435	97.71	97.67	97.50
<i>H. terrestre</i> 22517	GCF_009856205	97.78	97.81	97.70
<i>H. terrestre</i> 22502	GCF_009856455	97.84	97.98	97.70

аннотация. Выявленные гены метаболизма углеводов свидетельствуют о возможности осуществления гликолиза, окислительного декарбоксилирования пирувата в ацетил-КоА, биосинтеза фосфорибозил-пирофосфата (PRPP), цикла трикарбоновых кислот, полуфосфорилирующего варианта пути Энтнера–Дудорова, метаболизма пропаноил-КоА, пентозобифосфатного пути дегградации нуклеотидов. Энергетический метаболизм может осуществляться с помощью сукцинатдегидрогеназы, цитохром С-оксидазы, АТФазы V/A типа. Присутствуют гены, ответственные за биосинтез аминокислот: треонина, валина, лейцина, изолейцина, орнитина, аргина, пролина, гистидина и триптофана. Обнаружены 3 гена, кодирующие родопсин, и 1 ген, кодирующий родопсин-подобный белок. Биосинтез терпеноидов представлен двумя метаболическими путями – биосинтез гемитерпена (С5) и моно- и дитерпенов (С10–С20 изопреноиды). Обнаружено 28 генов, участвующих в хемотаксисе и подвижности, в том числе гены *flaBEFGHIJK*, кодирующие синтез флагеллина архей, а также гены *cheAWCDRBY*, *mcp*, *hemAT*, ответственные за хемотаксис. В геноме найдены 8 генов секреции, а также двойной аргининовый

путь транслокации. Обнаружен ген *tlyC*, кодирующий экспортер магния и кобальта, относящийся к мембрано-повреждающим токсинам. Наряду с CRISPR-регионом Cas4, обнаружен ген Cas3, кодирующий хеликазу.

При сравнении генома *H. distributum* ICIS4 с четырьмя геномами близкородственных штаммов число уникальных белок-кодирующих генов составило 309. Однако только 11 из 2817 групп гомологичных генов оказались уникальными для штамма ICIS4; они включали гены, участвующие в транспорте калия и других катионов, отвечающие за мобильность генетических элементов и связывание гуанозинтрифосфата, а также гены с неизвестными функциями. 2392 группы ортологичных генов были общими для всех пяти штаммов данного вида, 64 – с тремя, 135 – с двумя и 214 – с одним (рис. 1).

Интересной находкой оказался контиг кольцевой ДНК (OR762182), что часто является признаком вируса или плазмиды (Grossi et al., 2016). Последовательность длиной 25290 н.п., с содержанием GC 67.5%, включала 62 предсказанных белок-кодирующих гена. Функции 59 из них неизвестны, два отвечают за метаболизм нуклеотидов,



**Рис. 1.** Диаграмма Венна, демонстрирующая уникальные и ортологичные группы генов для геномов *H. distributum* ICIS4, *H. distributum* JCM9100 (GCA\_000337055), *H. distributum* (GCF\_000337335), *H. litoreum* JCM13561 (GCA\_000337395), *H. terrestre* 22502 (GCA\_009856455).

один — за регуляцию транскрипции. Ближайшим гомологом в базе данных Genbank (80.57% при покрытии 41%) оказался фаг МТ764234.1 галоархеи *Haloquadratum walsbyi* из гипергалинного пруда для выпаривания соли в Санта-Пола (Испания), геном которого имеет схожие размер и число генов, по большей части с неизвестными функциями (Luk et al., 2014). Хотя генов, отвечающих за внедрение, формирование структурных компонентов вируса и лизис, не обнаружено, для оценки возможности интеграции этого вероятного вируса в геном галоархеи, репродукции и влияния на регуляцию метаболизма хозяина необходимы дополнительные исследования. В геномах ближайших филогенетических родственников схожие последовательности обнаружены не были. Кроме того, в геноме *H. distributum* ICIS4 был выявлен регион длиной 12.8 т.п.н., имеющий довольно высокое сходство (86.05% при покрытии 62%) с ранее описанным вирусом *Halorubrum pleomorphic virus 9* (HRPV9) галоархеи *Halorubrum* sp. B2-2 (Atanasova et al., 2018).

Для формирования ассоциации *H. distributum* ICIS4 с микроводорослями *D. salina* могут иметь значение гены, кодирующие ферменты катаболизма глицерина (Williams et al., 2017). Из двух возможных путей деградации глицерина в геноме *H. distributum* ICIS4 представлен один, реализующийся через глицеролкиназу GlpK (2.7.1.30) и глицерол-3-фосфатдегидрогеназу GlpABC (1.1.5.3). Специфической системы транспорта глицерина внутрь клетки не выявлено, однако глицерин может поступать клетку в результате диффузии (Oren, 2017). Анализ генома *H. distributum* ICIS4 выявил ферменты гидролиза и превращения других углеводов, продуцируемых водорослями, например, крахмала (ЕС: 3.2.1.20, 3.2.1.3), трегалозы (ЕС: 3.2.1.28). Обнаружены гены, формирующие полноценные пути биосинтеза витаминов: тиамин ( $B_1$ ) и пиридоксаль-5-фосфата ( $B_6$ ), а также гены синтеза кобаламина ( $B_{12}$ ), стимулирующих рост микроводорослей (Croft et al., 2005). Обнаружены гены сидерофоров, благодаря которым микроводоросли могут получать железо в доступной форме (Amin et al., 2009). В геноме присутствуют все гены, катализирующие образование каротиноидных пигментов бактериоруберина и  $\beta$ -каротина из ликопина. Учитывая, что бактериоруберин обладает более выраженной антиоксидантной активностью по сравнению с  $\beta$ -каротином (Delgado-Garcia et al., 2023), присутствие в биомассе каротиногенной микроводоросли пигментов *H. distributum* может усиливать ее суммарную антиоксидантную активность, как это было отмечено ранее для смеси *D. parva* и *H. tebenquichense* (Немцева и соавт., 2013).

Таким образом, результаты анализа генома штамма ICIS4 подтвердили его принадлежность

к виду *H. distributum* и продемонстрировали метаболический потенциал для длительного сосуществования в ассоциации с *D. salina*. Выделенный штамм перспективен для экспериментального выявления рост-стимулирующего действия на микроводоросль *D. salina* и повышения антиоксидантного действия получаемой из данной микробной ассоциации биомассы.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Культивирование, выделение ДНК и секвенирование проводили в ЦКП “Персистенция микроорганизмов” ИКВС УрО РАН.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10062, <https://rscf.ru/project/23-24-10062/>.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Немцева Н. В., Селиванова Е. А., Игнатенко М. Е., Шаранова Н. В. Характеристика нового штамма *Dunaliella salina* (Chlorophyta) и оценка параметров его культивирования // Физиология растений. 2013. Т. 60. С. 561–568.
- Nemtseva N. V., Selivanova E. A., Ignatenko M. E., Sharapova N. V. Characterization of a novel *Dunaliella salina* (Chlorophyta) strain and the assessment of its cultivation parameters // Russ. J. Plant Physiol. 2013. V. 60. P. 529–535.
- Соловченко А. Е., Селиванова Е. А., Чеканов К. А., Сидоров Р. А., Немцева Н. В., Лобакова Е. С. Индукция вторичного каротиногенеза у новых галофильных микроводорослей из рода *Dunaliella* (Chlorophyceae) // Биохимия. 2015. Т. 80. С. 1724–1730.
- Solovchenko A. E., Selivanova E. A., Chekanov K. A., Sidorov R. A., Nemtseva N. V., Lobakova E. S. Induction of secondary carotenogenesis in new halophile microalgae from the genus *Dunaliella* (Chlorophyceae) // Biochemistry (Moscow). 2015. V. 80. P. 1508–1513.
- Amin S. A., Green D. H., Hart M. C., Küpper F. C., Sunda W. G., Carrano C. J. Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial-algal mutualism // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 17071–17076.
- Arndt D., Grant J., Marcu A., Sajed T., Pon A., Liang Y., Wishart D. S. PHASTER: a better, faster version of the

- PHAST phage search tool // *Nucleic Acids Res.* 2016. V. 44. P. 16–21.
- Atanasova N.S., Demina T.A., Shanthi S.N.K.R., Oksanen H.M., Bamford D.H. Extremely halophilic pleomorphic archaeal virus HRPV9 extends the diversity of pleolipoviruses with integrases // *Res. Microbiol.* 2018. V. 169. P. 500–504.
- Bardavid R.E., Khristo P., Oren A. Interrelationships between *Dunaliella* and halophilic prokaryotes in saltern crystallizer ponds // *Extremophiles.* 2008. V. 12. P. 5–14.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics.* 2014. V. 30. P. 2114–2120.
- Cantalapiedra C.P., Hernández-Plaza A., Letunic I., Bork P., Huerta-Cepas J. eggNOG-mapper v2: functional annotation, orthology assignments, and domain prediction at the metagenomic scale // *Mol. Biol. Evol.* 2021. V. 38. P. 5825–5829.
- Cao J., Ma H.Y., Li H.Y., Wang K.R., Ruan K., Bai L.H. *Halomonas socia* sp. nov., isolated from high salt culture of *Dunaliella salina* // *Extremophiles.* 2013. V. 17. P. 663–668.
- Croft M., Lawrence A., Raux-Deery E., Warren M.J., Smith A.G. Algae acquire vitamin B<sub>12</sub> through a symbiotic relationship with bacteria // *Nature.* 2005. V. 438. P. 90–93.
- Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.-W., De Meyer S., Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. V. 68. P. 461–466.
- Delgado-García M., Gómez-Secundino O., Rodríguez J.A., Mateos-Díaz J.C., Muller-Santos M., Aguilar C.N., Camacho-Ruiz R.M. Identification, antioxidant capacity, and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) *in silico* inhibition of haloarchaeal carotenoids from *Natronococcus* sp. and *Halorubrum tebenquichense* // *Microorganisms.* 2023. V. 11. Art. 2344.
- Grossi R., Iliopoulos C.S., Mercas R., Pisanti N., Pissis S.P., Retha A., Vayani F. Circular sequence comparison: algorithms and applications // *Algorithms Mol. Biol.* 2016. V. 11. P. 1–14.
- Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies // *Bioinformatics.* 2013. V. 29. P. 1072–1075.
- Infante-Domínguez C., de la Haba R.R., Corral P., Sanchez-Porro C., Arahal D.R., Ventosa A. Genome-based analyses reveal a synonymy among *Halorubrum distributum* Zvyagintseva and Tarasov 1989; Oren and Ventosa 1996, *Halorubrum terrestre* Ventosa et al. 2004, *Halorubrum arcis* Xu et al. 2007 and *Halorubrum litoreum* Cui et al. 2007. Emended description of *Halorubrum distributum* Zvyagintseva and Tarasov 1989; Oren and Ventosa 1996 // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020. V. 70. P. 1698–1705.
- Kanehisa M., Sato Y., Morishima K. BlastKOALA and GhostKOALA: KEGG tools for functional characterization of genome and metagenome sequences // *J. Mol. Biol.* 2016. V. 428. P. 726–731.
- Keerthi S., Koduru U.D., Nittala S.S., Parine N.R. The heterotrophic eubacterial and archaeal co-inhabitants of the halophilic *Dunaliella salina* in solar salterns fed by Bay of Bengal along south eastern coast of India // *Saudi J. Biol. Sci.* 2018. V. 25. P. 1411–1419.
- Kim J., Na S.I., Kim D., Chun J. UBCG2: Up-to-date bacterial core genes and pipeline for phylogenomic analysis // *J. Microbiol.* 2021. V. 59. P. 609–615.
- Kim D., Park S., Chun J. Introducing EzAAI: a pipeline for high throughput calculations of prokaryotic average amino acid identity // *J. Microbiol.* 2021. V. 59. P. 476–480.
- Le Chevanton M., Garnier M., Bougaran G., Schreiber N., Lukomska E., Bérard J.B., Fouilland E., Bernard O., Cadoret J.P. Screening and selection of growth-promoting bacteria for *Dunaliella* cultures // *Algal Res.* 2013. V. 2. P. 212–222.
- Lee I., Kim Y.O., Park S.C., Chun J. OrthoANI: an improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2015. V. 66. P. 1100–1103.
- Li W., O'Neill K.R., Haft D.H., DiCuccio M., Chetvernin V., Badretdin A., Coulouris G., Chitsaz F., Derbyshire M.K., Durkin A.S., Gonzales N.R., Gwadz M., Lanczycki C.J., Song J.S., Thanki N., Wang J., Yamashita R.A., Yang M., Zheng C., Marchler-Bauer A., Thibaud-Nissen F. RefSeq: expanding the Prokaryotic Genome Annotation Pipeline reach with protein family model curation // *Nucleic Acids Res.* 2021. V. 8. P. D1020–D1028.
- Luk A.W.S., Williams T.J., Erdmann S., Papke R.T., Cavicchioli R. Viruses of *Haloarchaea* // *Life.* 2014. V. 4. P. 681–715.
- Oren A. Glycerol metabolism in hypersaline environments // *Environ. Microbiol.* 2017. V. 19. P. 851–863.
- Parks D.H., Imelfort M., Skennerton C.T., Hugenholtz P., Tyson G.W. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes // *Genome Res.* 2015. V. 25. P. 1043–1055.
- Selivanova E., Khlopko Y., Plotnikov A. The prokaryotic diversity in cultures of halophilic phototrophic and heterotrophic protists // *Studia Universitatis Babeş-Bolyai, Biologia.* 2019. V. 64. 1. P. 16838.
- Simão F.A., Waterhouse R.M., Ioannidis P., Kriventseva E.V., Zdobnov E.M. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs // *Bioinformatics.* 2015. V. 31. P. 3210–3212.
- Sun J., Lu F., Luo Y., Bie L., Xu L., Wang Y. OrthoVenn3: an integrated platform for exploring and visualizing orthologous data across genomes // *Nucleic Acids Res.* 2023. V. 51. P. W397–W403.
- Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads // *PLoS Computat. Biol.* 2017. V. 13. Art. e1005595.
- Williams T.J., Allen M., Tschitschko B., Cavicchioli R. Glycerol metabolism of haloarchaea // *Environ. Microbiol.* 2017. V. 19. P. 864–877.

## SHORT COMMUNICATIONS

**The Genome of a New *Halorubrum distributum* Strain ICIS4  
Isolated from the Culture of a Microalga *Dunaliella salina*****E. A. Selivanova<sup>1</sup>\*, A. S. Balkin<sup>1</sup>, Yu. A. Khlopko<sup>1</sup>,  
V. Ya. Kataev<sup>1</sup>, and A. O. Plotnikov<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch of RAS,  
Orenburg, 460000 Russia**\*e-mail: selivanova-81@mail.ru*

Received October 16, 2023; revised November 19, 2023; accepted November 19, 2023

**Abstract.** The complete genome sequence of a new strain of the haloarchaeon *Halorubrum distributum* ICIS4 was revealed and analyzed. The strain was isolated from a culture of a carotenogenic microalga *Dunaliella salina* maintained in laboratory conditions for a long period of time. The genome (3.32 Mb) contained 3236 protein-coding genes. Of the 2817 groups of homologous genes, 11 were unique to this strain. In the genome, the genes were revealed, which were responsible for utilization of glycerol and starch and for synthesis of vitamins, pigments, and siderophores. These genes may be involved in formation and maintenance of the association with microalgae. A region similar to the HRPV9 virus and another circular contig similar to a phage of the haloarchaeon *Haloquadratum walsbyi* were revealed in the genome assembly.

**Keywords:** halophilic microorganisms, haloarchaea, *Halorubrum distributum*, *Dunaliella salina*, microalgae-associated prokaryotes

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

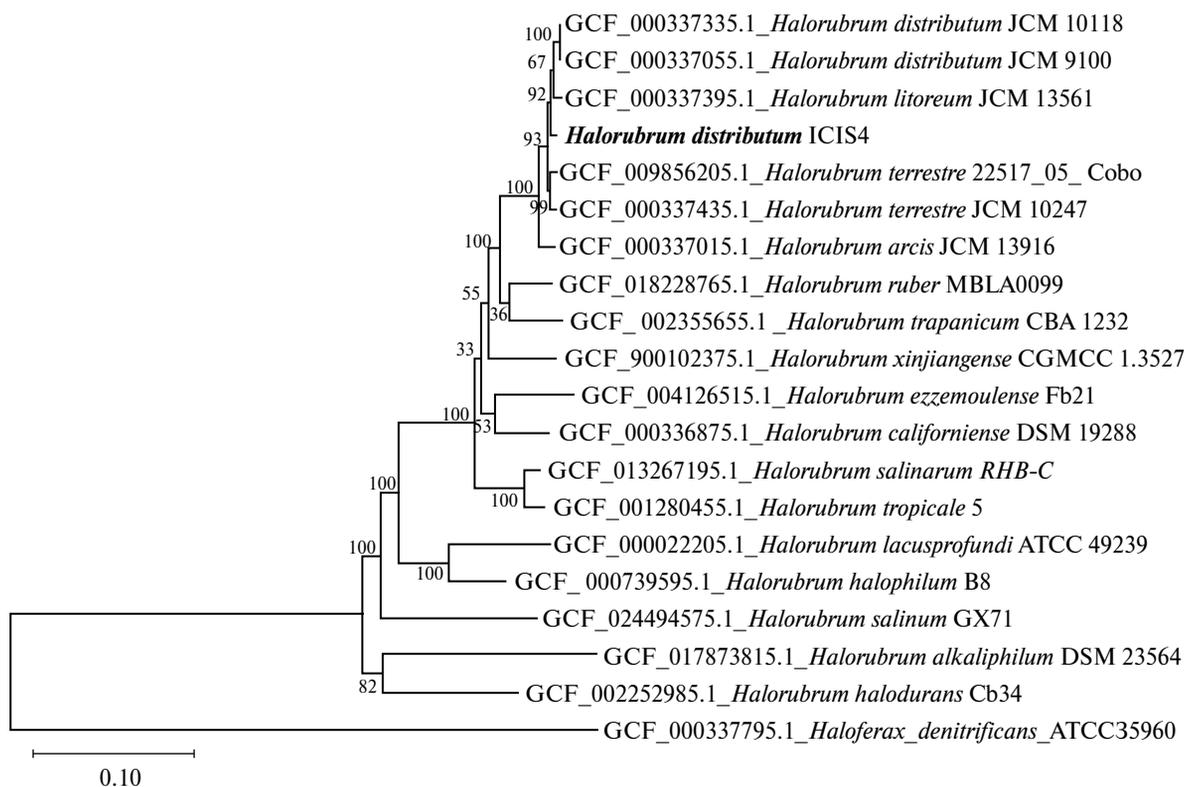
## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ГЕНОМ НОВОГО ШТАММА *HALORUBRUM DISTRIBUTUM* ICIS4, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA*

© 2024 г. Е. А. Селиванова\*, А. С. Балкин, Ю. А. Хлопко,  
В. Я. Катаев, А. О. Плотников

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук,  
Оренбургский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук,  
Оренбург, 460000 Россия

\*e-mail: selivanova-81@mail.ru



**Рис. S1.** Положение штамма *H. distributum* ICIS4 на филогенетическом древе, построенном методом максимального правдоподобия по результатам анализа геномов представителей рода *Halorubrum* с помощью алгоритма UBCG2 (Kim et al., 2021). Уровни поддержки узлов (gene support index, GSI) рассчитаны на основе построения 100 альтернативных генных деревьев. В качестве внешней группы использован геном *Haloferax denitrificans* ATCC35960 (GCF\_000337795).