

# Studying the Genetic Potential of *Cytobacillus pseudoceanisediminis* from a Deep Subsurface Mineral Spring for the Synthesis of Biologically Active Substances

Short communication  
LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGY

Yakhnenko A.\*<sup>ORCID</sup>, Tarasov K., Kravchenko E.

International Intergovernmental Scientific Research Organization Joint Institute for Nuclear Research, 6 Joliot-Curie St, Dubna, 141980, Russia

**ABSTRACT.** Microorganisms are fundamental to global ecosystem functioning, playing crucial roles in biogeochemical cycles and producing diverse bioactive secondary metabolites. Extremophiles are promising sources of novel metabolites due to their adaptations to harsh environments. This study investigated the biosynthetic potential of the thermophilic, heavy metal-resistant bacterium *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, isolated from a deep subsurface mineral spring. Genomic analysis identified six biosynthetic gene clusters (BGCs): terpene-precursor, type III polyketide synthase (T3PKS), azole-containing RiPP-terpene, terpene, nonribosomal peptide synthetase (NRPS), and NRPS-independent (NI) siderophore. Comparative analysis revealed high homology (>95% identity) for five BGCs (T3PKS, RiPP-terpene, terpene, NRPS, NI-siderophore) with the marine sediment strain *C. pseudoceanisediminis* 2691 and related *Cytobacillus* species, indicating evolutionary conservation within the genus. The terpene-precursor cluster showed low homology (52.3% identity for core genes) and matched non-*Cytobacillus* species, suggesting potential horizontal gene transfer. Transcriptomic analysis under standard laboratory conditions (LB medium, 37°C) revealed constitutive expression (>90% of genes) for all BGCs except the NI-siderophore cluster (51.7% genes expressed). This constitutive expression suggests the basal importance of these metabolites for physiology or pre-adaptation to the native stressful environment and facilitates potential biotechnological exploitation. The presence of NRPS and siderophore clusters correlates with the strain's exceptional heavy metal resistance. This study highlights *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> as a source of conserved and potentially novel BGCs, with significant biotechnological potential, particularly for bioremediation. Future work should characterize the metabolites produced and investigate BGC expression under stress conditions.

**Keywords:** *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, biosynthetic gene clusters, secondary metabolites, extremophiles, horizontal gene transfer, constitutive expression

**For citation:** Yakhnenko A., Tarasov K., Kravchenko E. Studying the Genetic Potential of *Cytobacillus pseudoceanisediminis* from a Deep Subsurface Mineral Spring for the Synthesis of Biologically Active Substances // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - P. 907-918. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-907

## 1. Introduction

The functioning of global ecosystems, fundamental to life on Earth, is impossible without microorganisms. Their indispensable role is manifested in maintaining biogeochemical cycles, supporting food chains, and preserving the health of plants and animals (Bahram et al., 2018; Falkowski et al., 2008). Their metabolic capabilities, particularly the ability to degrade pollutants and produce biologically active compounds (secondary metabolites), are of key significance (Amina and Lotfi, 2024; Alamer et al., 2025). In

nature, bacterial secondary metabolites facilitate ecological interactions as defensive or signaling molecules and enable adaptation to diverse habitats (Santana-Pereira et al., 2020; Pandey et al., 2021). Biologically active substances isolated from bacteria play a crucial role in medicine, agriculture, and industry. Currently, up to 80% of antibiotics used in medicine are derived from microorganisms (Newman and Cragg, 2016). Secondary metabolites are also employed as anticancer agents, immunomodulators, and antiparasitic drugs (Austin and Noel, 2003; Kamran et al., 2022; Gabriel et al., 2018), can bind divalent heavy metal cations, and

\*Corresponding author.

E-mail address: [yakhnenkoas@gmail.com](mailto:yakhnenkoas@gmail.com) (A. Yakhnenko)

**Received:** July 29, 2025; **Accepted:** August 20, 2025;

**Available online:** August 31, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



are used in bioremediation (Gomes et al., 2024). The majority of secondary metabolites produced by bacteria are synthesized by multi-enzyme complexes encoded by biosynthetic gene clusters (BGCs). These clusters are compact genetic loci comprising genes responsible for constructing the molecular carbon skeleton, its modification, and expression regulation (Austin and Noel, 2003). Whole-genome sequencing is the most advanced approach for identifying BGCs in microorganisms (Qiu et al., 2024). When complemented by transcriptomic analysis, it becomes possible to study the potential for secondary metabolite biosynthesis under laboratory conditions (Rabara et al., 2023). This approach will enable the discovery of new metabolic pathways, contributing to the development of more sustainable and eco-friendly technologies amid increasing environmental pressures.

The study and discovery of novel BGCs is highly relevant using extremophilic organisms, as survival in harsh environments necessitates specific adaptations. Consequently, secondary metabolites derived from extremophiles may be more stable in aggressive environments and hold promise for various biotechnological applications (Maccari et al., 2015; Mashakhtri et al., 2024; Amina and Lotfi, 2024).

Among representatives of the genus *Cytobacillus*, inhabiting a wide range of environmental conditions, including extreme ones, the ability to biosynthesize bioactive substances with potential for various biotechnological applications has been demonstrated. These include lipopeptide biosurfactants exhibiting antimicrobial activity against pathogenic fungi, identified in *Cytobacillus firmus* and *C. oceanisediminis* (Alyousif and Al-Luaibi, 2025). Also promising are *Cytobacillus kochii*, producing enzymes used in antiviral drug production (Setiawan et al., 2025), cepacian-degrading *Cytobacillus* sp. strain Dbc1 for combating pathogenic biofilms on medical devices (Ghosh et al., 2024), and *Cytobacillus* sp. Strain HMBC3, capable of degrading low-density polyethylene (Alamer et al., 2025). Among representatives of the genus *Cytobacillus*, *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, isolated from a deep subsurface mineral spring in an unused part of the underground tunnel of Baksan Neutrino Observatory INR RAS (Russia), stands out (Tarasov et al., 2022). It represents an interesting target for searching gene clusters involved in the synthesis of bioactive substances. Representatives of this species have also been isolated from marine sediments and microplastic particles in seawater (Lee et al., 2012; Wang et al., 2025). This strain is a Gram-positive aerobe, thriving at elevated temperatures (>40°C), demonstrating the ability to utilize C1 compounds as a carbon source, and exhibiting outstanding resistance to heavy metals, including lead, cadmium, and copper, making it promising for bioremediation and biotechnology (Tarasov et al., 2022).

The aim of this study is the comprehensive analysis of the genome and transcriptome of *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> to identify biosynthetic gene clusters (BGCs) for biologically active substances and to analyze the expression of genes within these clusters under laboratory conditions.

## 2. Materials and Methods

The search for gene clusters encoding bioactive substances was conducted using the AntiSMASH 8.0.1 service (Blin et al., 2025) in the genomes of *Cytobacillus pseudoceanisediminis* (BNO strain CP097349.1, 2691 strain NZ\_CP015506.1, NCBI GenBank database).

The strain *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, previously isolated from a hot subsurface mineral spring in an unused section of the BNO tunnel (Tarasov et al., 2022), was used for the experiment. It was cultured in liquid Miller's LB medium at 37°C and 160 rpm.

Transcripts belonging to the BGCs were identified as follows: 3 ml of an overnight culture of *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> was diluted 10-fold with fresh medium in three replicates. After 3 hours, 10 ml was taken from each flask. Samples were centrifuged at 10,000 g for 5 minutes. Total RNA was immediately isolated from the pellet using TRIzol (Chomczynski, 1993). The RNA was treated with DNase. Libraries were prepared using the TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero kit (Illumina). Sequencing was performed on the Illumina NovaSeq 6000 platform (2 x 100 bp), generating 10 million reads per sample. Read demultiplexing was performed using Illumina bcl2fastq v2.20. Adapters were removed using Skewer v0.2.2 (Jiang et al., 2014). FASTQ file quality was assessed using FastQC v0.12 (Andrews, 2010) and MultiQC (Ewels et al., 2016). rRNA reads were removed using SortMeRNA v4.3.6. Low-quality reads were removed using Trimmomatic (Bolger et al., 2014). Reads were mapped to the *C. pseudoceanisediminis* reference genome using STAR (Dobin et al., 2013).

## 3. Results and Discussion

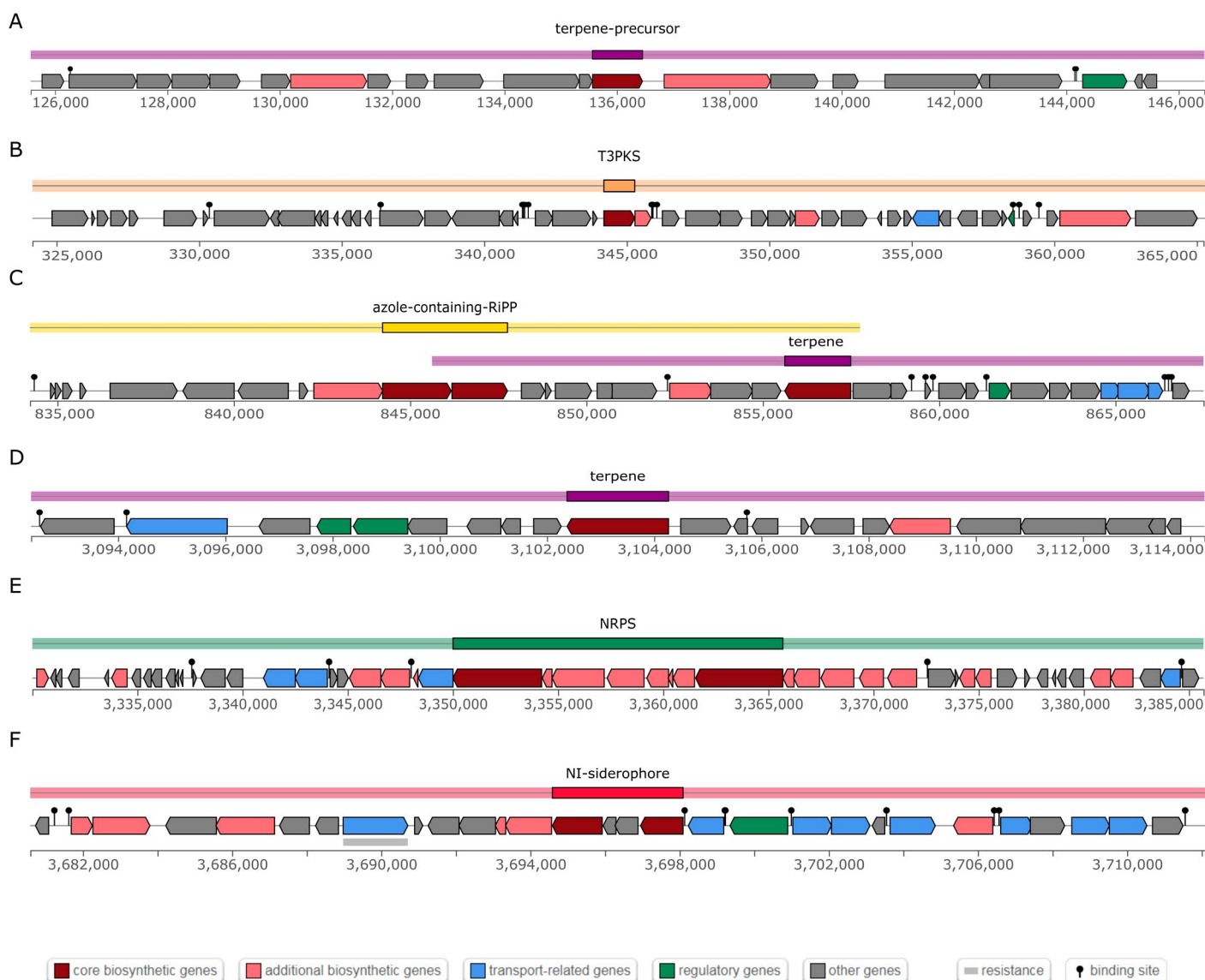
Six gene clusters for the biosynthesis of biologically active compounds were identified in the *C. pseudoceanisediminis* BNO genome (GenBank NCBI CP097349.1) (Table 1, Fig. 1).

- 1. Terpene-precursor:** All 22 genes were constitutively expressed under laboratory conditions. ClusterBlast analysis revealed the highest match with an NRPS/NRPS-like cluster in *Enterococcus thailandicus* (Table 1). However, homology was low: only 8 out of 22 genes had >45% identity, with an average identity of 52.3% among these core genes. Other top hits included *Enterococcus faecium*, *Enterococcus lactis*, and *Ligilactobacillus salivarius*, with even lower homology levels. Terpenoids represent the most diverse class of secondary metabolites, encompassing over 70,000 compounds like vitamins, carotenoids, pheromones, and drugs with anticancer and antimalarial properties (Yamada et al., 2015; Kamran et al., 2022; Gabriel et al., 2018).
- 2. Type III Polyketide Synthase (T3PKS) Cluster:** All 48 genes were constitutively expressed. ClusterBlast revealed high homology with several genomes, including *Bacillus* sp. (99.3% identity, 100% genes), *C. oceanisediminis* CK22 (99.3%), *C. oceanisediminis* YPW-V2 (99.29%), *C. firmus*

**Table 1.** BGCs identified in the *C. pseudoceanisediminis* BNO genome (CP097349.1).

Region	Type	From*	To*	ClusterBlast Best Hit (Accession)	% Identity	% Genes found	% Genes Expressed
1	terpene-precursor	125,567	146,457	<i>Enterococcus thailandicus</i> strain OF20-18ACA (NZ_JAQEWG010000001.1)	52.3	36.4	100%
2	T3PKS	324,152	365,233	<i>Bacillus</i> sp. (NZ_GL635752)	99.3	100	100%
3	azole-containing-RiPP-terpene	834,221	867,494	<i>Cytobacillus oceanisediminis</i> strain YPW-V2 (NZ_CP062790)	97.9	72.7	96.9%
4	terpene	3,092,376	3,114,268	<i>Cytobacillus oceanisediminis</i> strain 179-M (NZ_JAHHWV010000003)	97.4	100	95.4%
5	NRPS	3,330,009	3,385,692	<i>Cytobacillus pseudoceanisediminis</i> 2691 (NZ_CP015506)	98.75	96	96%
6	NI-siderophore	3,680,590	3,712,092	<i>Cytobacillus firmus</i> strain A88 (NZ_JANTPI010000022)	99.89	100	51.7%

**Note:** \*Coordinates in genome CP097349.1 (GenBank NCBI)



**Fig.1.** Schematic representation of the domain composition and organization of the identified BGCs: (A) terpene-precursor cluster, (B) T3PKS gene cluster, (C) azole-containing-RiPP and terpene gene cluster, (D) terpene gene cluster, (E) NRPS gene cluster, (F) NI-siderophore gene cluster. Legend: core biosynthetic genes | additional biosynthetic genes | transport-related genes | regulatory genes | other genes | resistance | binding site.

B12 (98.2%), and *C. pseudoceanisediminis* 2691 (99.3%, 98% genes). T3PKS enzymes are homodimeric ketosynthases producing diverse secondary metabolites, often precursors to flavonoids, cannabinoids, waxes, and alkaloids, found in plants, fungi, and bacteria (Katsuyama and Ohnishi, 2012; Bisht et al., 2021).

3. **Azole-containing-RiPP-Terpene Cluster:** 32 out of 33 genes were constitutively expressed. Top ClusterBlast hits were *C. oceanisediminis* YPW-V2 (97.9% identity, 72.7% genes), *C. oceanisediminis* 179-M (97.75%), *Bacillus* sp. 2\_A\_57\_CT2 (97.7%), *C. oceanisediminis* CK22 (97.75%), and *C. firmus* A88 (97.9%). *C. pseudoceanisediminis* 2691 ranked 6th (97.85%, 72.7% genes). This cluster produces terpenes and azole-containing peptides (RiPPs). Azole-containing peptides exhibit antibacterial activity via mechanisms like enzyme inhibition, membrane disruption, and ribosomal targeting (Travin et al., 2019; Arnison et al., 2013; Pierrat and Maxwell, 2003; Molohon et al., 2016; Metelev et al., 2017).
4. **Terpene Cluster:** 21 out of 22 genes were constitutively expressed. Top ClusterBlast hits included *C. oceanisediminis* 179-M (97.4% identity, 100% genes), *C. oceanisediminis* CK22 (97.68%), *C. firmus* M41 (95.6%), *C. firmus* B12 (96.27%), and *C. pseudoceanisediminis* 2691 (97.45%).
5. **Nonribosomal Peptide Synthetase (NRPS) Cluster:** 49 out of 51 genes were constitutively expressed. Top ClusterBlast hits were *C. oceanisediminis* 2691 (98.75% identity, 96% genes), *C. firmus* A88 (99.3%, 94%), *C. firmus* B12 (97.39%, 84%), *C. firmus* M41 (97.76%, 84%), and *Bacillus cereus* VKM (63.52%, 49%). NRPSs are multi-enzyme complexes synthesizing diverse metabolites like siderophores, toxins, antibiotics, pigments, and biosurfactants, widely used in industry and bioremediation of heavy metals (Bushley and Turgeon, 2010; Wang et al., 2014; Sharma et al., 2022).
6. **NRPS-independent (NI) Siderophore Cluster:** 15 out of 29 genes (51.7%) were constitutively expressed. Top ClusterBlast hits showed very high homology: *C. firmus* A88 (99.89% identity, 100% genes), *C. pseudoceanisediminis* 2691 (99.79%), *C. oceanisediminis* CK22 (99.75%), *C. oceanisediminis* YPW-V2 (99.5%), and *Bacillus* sp. (99.5%). Siderophores are low-molecular-weight iron chelators vital for iron acquisition, regulated by environmental iron levels (Hider and Kong, 2010). They are used medically as antimicrobials and as "Trojan horses" to overcome antibiotic resistance (Górska et al., 2014). Some siderophores also bind heavy metal divalent cations, making them promising bioremediation agents (Hofmann et al., 2021; Gomes et al., 2024).

All identified BGCs in the *C. pseudoceanisediminis* BNO genome, except the terpene-precursor cluster, exhibit high homology (>95% identity) with another representative of this species, *Cytobacillus pseudoce-*

*anisediminis* 2691, isolated from marine sediments in South Korea (Jung et al., 2016). This indicates that these gene clusters are conserved within the *C. pseudoceanisediminis* species and likely play an important role in its core physiology or ecological niche, regardless of habitat, further supported by the constitutive expression of most cluster genes. These BGCs are not random acquisitions specific to one strain. High homology was also observed with species *Cytobacillus oceanisediminis*, *Cytobacillus firmus*, and *Bacillus* sp., suggesting a common evolutionary origin for these clusters within the *Cytobacillus* genus.

The terpene-precursor cluster showed extremely low homology (52.3% average identity for core genes) with database sequences. None of the top 5 ClusterBlast hits belonged to the genus *Cytobacillus*, suggesting potential horizontal gene transfer (HGT) of this cluster (Choufa et al., 2024) or extremely high variability within this DNA region.

For all gene clusters except the NI-siderophore cluster, constitutive expression of >90% of genes was demonstrated under standard laboratory conditions (LB medium, 37°C). This suggests the products of these gene clusters are important for the basal metabolism of *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> or represent part of its adaptation strategy for surviving potentially stressful conditions in its native ecological niche. The constitutive expression of BGC genes under laboratory conditions facilitates the isolation of target biosynthetic products and their potential biotechnological application. This area holds significant promise and requires further investigation. The question of changes in secondary metabolite biosynthesis gene expression under stress conditions remains open. The presence of NRPS and siderophore clusters correlates with the strain's documented heavy metal resistance (Tarasov et al., 2022), suggesting their involvement in metal chelation or detoxification.

#### 4. Conclusions

The comprehensive genomic and transcriptomic analysis confirmed the presence of a conserved set of BGCs in the extremophilic strain *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, whose genes are actively expressed under standard conditions, underscoring their potential importance for its physiology and adaptation. The constitutive expression facilitates potential biotechnological exploitation. The NRPS and siderophore clusters are likely linked to its exceptional heavy metal resistance. The terpene-precursor cluster represents a candidate for horizontal gene transfer. To further elucidate the potential of the identified BGCs, future work should analyze changes in gene expression under stress conditions (e.g., heavy metals, elevated temperature, C1 substrates) and isolate and characterize the biosynthetic products of these BGCs.

#### Acknowledgements

The study was supported by the Russian Science Foundation (RSF project no. 24-24-00003).

## Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

## References

- Alamer N.J., Aldayel M.F., Khalifa A. 2025. Cytobacillus sp. Strain HMBC3 from Saudi Arabian Soil Degrades Low-Density Polyethylene. Journal of Microbiology and Biotechnology 6:35:e2409023. DOI: [10.4014/jmb.2409.09023](https://doi.org/10.4014/jmb.2409.09023)
- Amina M., Lotfi G. 2024. An Overview of Extremophile: Microbial Diversity, Adaptive Strategies, and Potential Applications. Microbiology and Biotechnology Letters 52: 520. DOI: [10.48022/mbl.2412.05020](https://doi.org/10.48022/mbl.2412.05020)
- Andrews S. 2010. FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. [Software]. URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Alyousif N., Al-Luaibi Y. 2025. Molecular Detection and Occurrence of Lipopeptide Biosurfactant Genes in Different Bacillus Related Species. Acta microbiologica bulgarica 41: 203–211. DOI: [10.59393/amb25410209](https://doi.org/10.59393/amb25410209)
- Arnison P.G., Bibb M.J., Bierbaum G. et al. 2013. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. Natural Product Reports 30: 108–160. DOI: [10.1039/c2np20085f](https://doi.org/10.1039/c2np20085f)
- Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. Natural Product Reports 20(1): 79–110. DOI: [10.1039/b100917f](https://doi.org/10.1039/b100917f) PMID: 12636085
- Bahram M., Hildebrand F., Forslund S.K. et al. 2018. Structure and function of the global topsoil microbiome. Nature 560: 233–237. DOI: [10.1038/s41586-018-0386-6](https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6)
- Bisht R., Bhattacharyya A., Shrivastava A. et al. 2021. An Overview of the Medicinally Important Plant Type III PKS Derived Polyketides. Frontiers in Plant Science 12: 746908. DOI: [10.3389/fpls.2021.746908](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.746908)
- Blin K., Shaw S., Vader L. et al. 2025. antiSMASH 8.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. Nucleic Acids Research 53: 32–38. DOI: [10.1093/nar/gkaf334](https://doi.org/10.1093/nar/gkaf334)
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30: 2114–2120. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu170](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170)
- Bushley K.E., Turgeon B.G. 2010. Phylogenomics reveals subfamilies of fungal nonribosomal peptide synthetases and their evolutionary relationships. BMC Evolutionary Biology 10: 26. DOI: [10.1186/1471-2148-10-26](https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-26)
- Chomczynski P. 1993. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. BioTechniques 15: 532–534.
- Choufa C., Gascht P., Leblond H. et al. 2024. Conjugation Mediates Large-Scale Chromosomal Transfer in Streptomyces Driving Diversification of Antibiotic Biosynthetic Gene Clusters. Molecular Biology and Evolution 41: msae236. DOI: [10.1093/molbev/msae236](https://doi.org/10.1093/molbev/msae236)
- Dobin A., Davis C.A., Schlesinger F. et al. 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. Bioinformatics 29: 15–21. DOI: [10.1093/bioinformatics/bts635](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635)
- Ewels P., Magnusson M., Lundin S. et al. 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. Bioinformatics 32: 3047–3048. DOI: [10.1093/bioinformatics/btw354](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354)
- Falkowski P.G., Fenchel T., DeLong E.F. 2008. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. Science 320: 1034–1039. DOI: [10.1126/science.1153213](https://doi.org/10.1126/science.1153213)
- Gabriel H.B., Sussmann R.A.C., Kimura E.A. et al. 2018. Terpenes as Potential Antimalarial Drugs. In: Perveen S. (Ed.), Terpenes and Terpenoids. IntechOpen. DOI: [10.5772/intechopen.75108](https://doi.org/10.5772/intechopen.75108)
- Ghosh D., Seth M., Mondal P. et al. 2024. Cepacian degrading Cytobacillus sp. strain Dbc1 with anti-biofilm activity potentiating antibiotic efficacy against Burkholderia cepacia biofilm development. Journal of Environmental Biology 45: 25–35. DOI: [10.22438/jeb/45/1/MRN-5165](https://doi.org/10.22438/jeb/45/1/MRN-5165)
- Gomes A.F.R., Almeida M.C., Sousa E. et al. 2024. Siderophores and metallophores: Metal complexation weapons to fight environmental pollution. Science of The Total Environment 932: 173044. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2024.173044](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173044)
- Górska A., Sloderbach A., Marszał M.P. 2014. Siderophore–drug complexes: potential medicinal applications of the ‘Trojan horse’ strategy. Trends in Pharmacological Sciences 35: 442–449. DOI: [10.1016/j.tips.2014.06.007](https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.06.007)
- Hider R.C., Kong X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. Natural Product Reports 27: 637–657. DOI: [10.1039/b906679a](https://doi.org/10.1039/b906679a)
- Hofmann M., Heine T., Malik L. et al. 2021. Screening for Microbial Metal-Chelating Siderophores for the Removal of Metal Ions from Solutions. Microorganisms 9: 111. DOI: [10.3390/microorganisms9010111](https://doi.org/10.3390/microorganisms9010111)
- Jiang H., Lei R., Ding S.W. et al. 2014. Skewer: a fast and accurate adapter trimmer for next-generation sequencing paired-end reads. BMC Bioinformatics 15: 182. DOI: [10.1186/1471-2105-15-182](https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-182)
- Jung J., Jeong H., Kim H.J. et al. 2016. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes. Marine Genomics 30: 73–76. DOI: [10.1016/j.margen.2016.07.002](https://doi.org/10.1016/j.margen.2016.07.002)
- Kamran S., Sinniah A., Abdulghani M.A.M. et al. 2022. Therapeutic Potential of Certain Terpenoids as Anticancer Agents: A Scoping Review. Cancers 14: 1100. DOI: [10.3390/cancers14051100](https://doi.org/10.3390/cancers14051100)
- Katsuyama Y., Ohnishi Y. 2012. Type III Polyketide Synthases in Microorganisms. Methods in Enzymology 515: 359–377. DOI: [10.1016/B978-0-12-394290-6.00017-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394290-6.00017-3)
- Lee Y.J., Lee S.J., Jeong H. et al. 2012. Draft genome sequence *Bacillus oceanisediminis* 2691. Journal of Bacteriology 194: 6351–6352. DOI: [10.1128/jb.01643-12](https://doi.org/10.1128/jb.01643-12)
- Maccari L., Sanguino L., Vogel T.M. et al. 2015. Snow and ice ecosystems: not so extreme. Research in Microbiology 166: 782–795. DOI: [10.1016/j.resmic.2015.09.002](https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.09.002)
- Mashakhetri K., Aishwarya C., Prusty T. et al. 2024. Secondary Metabolites from Extremophiles. In: Shah M.P., Dey S. (Eds.), Trends in Biotechnology of Polyextremophiles. Cham: Springer. DOI: [10.1007/978-3-031-55032-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-55032-4_8)
- Metelev M., Serebryakova M., Ghilarov D. et al. 2017. Klebsazolicin inhibits 70S ribosome by obstructing the peptide exit tunnel. Nature Chemical Biology 13: 1129–1136. DOI: [10.1038/nchembio.2480](https://doi.org/10.1038/nchembio.2480)
- Molohon K.J., Blair P.M., Park S. et al. 2016. Plantazolicin is an ultra-narrow spectrum antibiotic that targets the *Bacillus anthracis* membrane. ACS Infectious Diseases 2: 207–220. DOI: [10.1021/acsinfecdis.5b00115](https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00115)
- Newman D.J., Cragg G.M. 2016. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. Journal of Natural Products 79: 629–661. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.5b01055](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055)
- Pandey K.D., Patel A.K., Singh M. et al. 2021. Secondary metabolites from bacteria and viruses. In: Nayik G.A., Gull A. (Eds.), Natural Bioactive Compounds. Academic Press, pp. 19–40. DOI: [10.1016/B978-0-12-820655-3.00002-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00002-1)
- Pierrat O.A., Maxwell A. 2003. The action of the bacterial toxin microcin B17. Insight into the cleavage-religation reaction of DNA gyrase. Journal of Biological Chemistry 278: 35016–35023. DOI: [10.1074/jbc.M301370200](https://doi.org/10.1074/jbc.M301370200)
- Qiu Z., Zhu Y., Zhang Q. et al. 2024. Unravelling biosynthesis and biodegradation potentials of microbial dark matters in hypersaline lakes. Environmental Science and Ecotechnology 20: 100359. DOI: [10.1016/j.ese.2023.100359](https://doi.org/10.1016/j.ese.2023.100359)

Rabara R.C., Kudithipudi C., Timko M.P. 2023. Identification of Terpene-Related Biosynthetic Gene Clusters in Tobacco through Computational-Based Genomic, Transcriptomic, and Metabolic Analyses. *Agronomy* 13: 1632. DOI: [10.3390/agronomy13061632](https://doi.org/10.3390/agronomy13061632)

Santana-Pereira A.L.R., Sandoval-Powers M., Monsma S. et al. 2020. Discovery of Novel Biosynthetic Gene Cluster Diversity From a Soil Metagenomic Library. *Frontiers in Microbiology* 11: 585398. DOI: [10.3389/fmicb.2020.585398](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.585398)

Setiawan A., Amini M.K., Fidyandini H.P. et al. 2025. Environmental Effect on the Growth and Enzyme Activity of Fucoidanase-Producing Bacteria *Cytobacillus kochii* GSD. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 17: 438–452. DOI: [10.20473/jipk.v17i2.69263](https://doi.org/10.20473/jipk.v17i2.69263)

Sharma P., Rekhi P., Debnath M. 2022. Removal of Heavy Metal by Biosurfactant Producing Novel Halophilic *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium* Strain SE I Isolated from Sambhar Salt Lake. *ChemistrySelect* 7: e202202970. DOI: [10.1002/slct.202202970](https://doi.org/10.1002/slct.202202970)

Tarasov K., Yakhnenko A., Zarubin M. et al. 2022. *Cytobacillus pseudoceanisediminis* sp. nov., a novel facultative methylotrophic bacterium with high heavy metal resistance isolated from the deep underground saline spring. *Current Microbiology* 80: 31. DOI: [10.1007/s00284-022-03141-8](https://doi.org/10.1007/s00284-022-03141-8)

Travin D.Y., Watson Z.L., Metelev M. et al. 2019. Structure of ribosome-bound azole-modified peptide phazolicin rationalizes its species-specific mode of bacterial translation inhibition. *Nature Communications* 10: 4563. DOI: [10.1038/s41467-019-12589-5](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12589-5)

Wang J., Liu R., Zhao S. et al. 2025. Construction of an efficient polystyrene-degrading microbial consortium based on degrading and nondegrading bacteria predominant in biofilms of marine plastic debris. *Frontiers in Marine Science* 12: 1569583. DOI: [10.3389/fmars.2025.1569583](https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1569583)

Wang H., Fewer D.P., Holm L. et al. 2014. Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 9259–9264. DOI: [10.1073/pnas.1401734111](https://doi.org/10.1073/pnas.1401734111)

Yamada Y., Kuzuyama T., Komatsu M. et al. 2015. Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: 857–862. DOI: [10.1073/pnas.1422108112](https://doi.org/10.1073/pnas.1422108112)

# Изучение генетического потенциала *Cytobacillus pseudoceanisediminis* из глубокого подземного минерального источника для биосинтеза биологически активных веществ

Краткое сообщение

LIMNOLOGY  
FRESHWATER  
BIOLOGYЯхненко А.\*<sup>ORCID</sup>, Тарасов К., Кравченко Е.

Международная межправительственная научно-исследовательская организация Объединенный институт ядерных исследований, ул. Жолио-Кюри, 6, г. Дубна, 141980, Россия

**АННОТАЦИЯ.** Микроорганизмы играют фундаментальную роль в функционировании глобальных экосистем, выполняя ключевые функции в биогеохимических циклах и продуцируя разнообразные биологически активные вторичные метаболиты. Экстремофилы представляют собой перспективные источники новых метаболитов благодаря их адаптации к агрессивным условиям окружающей среды. В данном исследовании изучался потенциал к биосинтезу вторичных метаболитов термофильной, устойчивой к тяжелым металлам бактерии *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, выделенной из глубокого подземного минерального источника. Геномный анализ выявил шесть биосинтетических кластеров генов (БКГ): предшественник терпена, поликетидсинтаза III типа (ПКС III типа), азолсодержащий РиПП-терпен, терпен, нерибосомная пептидсинтаза (НРПС) и НРПС-независимый (НН) сидерофорный кластер. Сравнительный анализ показал высокую гомологию (>95% идентичности последовательностей) для пяти БКГ (ПКС III типа, РиПП-терпен, терпен, НРПС, НН-сидерофор) с морским штаммом *C. pseudoceanisediminis* 2691, выделенным из донных осадков, и родственными видами рода *Cytobacillus*, что указывает на эволюционную консервативность этих кластеров в пределах рода. Кластер предшественник терпена показал низкую гомологию (52,3% идентичности) и соответствовал видам, не относящимся к *Cytobacillus*, что предполагает возможность горизонтального переноса генов. Транскриптомный анализ в стандартных лабораторных условиях (среда LB, 37°C) выявил конститутивную экспрессию (>90% генов) для всех БКГ, за исключением кластера НН-сидерофора (экспрессируются 51,7% генов). Конститутивная экспрессия указывает на значимость данных метаболитов для базовой физиологии клетки или адаптации к природной стрессовой среде и упрощает потенциальное применение продуктов биосинтеза. Наличие кластеров НРПС и сидерофора коррелирует с исключительной устойчивостью штамма к тяжелым металлам. Данное исследование подчеркивает перспективность использования штамма *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> как источника консервативных и потенциально новых БКГ, обладающих значительным биотехнологическим потенциалом, в частности, для биоремедиации. В ходе дальнейших исследований планируется охарактеризовать продуцируемые метаболиты и исследовать экспрессию БКГ в стрессовых условиях.

**Ключевые слова:** *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, биосинтетические кластеры генов, вторичные метаболиты, экстремофилы, горизонтальный перенос генов, конститутивная экспрессия

Для цитирования: Яхненко А., Тарасов К., Кравченко Е. Изучение генетического потенциала *Cytobacillus pseudoceanisediminis* из глубокого подземного минерального источника для биосинтеза биологически активных веществ // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - С. 907-918. DOI: [10.31951/2658-3518-2025-A-4-907](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2025-A-4-907)

## 1. Введение

Функционирование глобальных экосистем, фундаментальное для жизни на Земле, невозможно без микроорганизмов. Их незаменимая роль проявляется в поддержании биогеохимических циклов,

обеспечении пищевых цепей и сохранении здоровья растений и животных (Bahram et al., 2018; Falkowski et al., 2008). Метаболические возможности микроорганизмов, в частности способность к деградации загрязнителей и продуцированию биологически активных соединений (вторичных метаболитов),

\*Автор для переписки.

Адрес e-mail: [yakhnenkoas@gmail.com](mailto:yakhnenkoas@gmail.com) (А. Яхненко)

Поступила: 29 июля 2025; Принята: 20 августа 2025;

Опубликована online: 31 августа 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



имеют ключевое значение (Amina and Lotfi, 2024; Alamer et al., 2025). В природе бактериальные вторичные метаболиты осуществляют экологические взаимодействия, выступая в роли защитных или сигнальных молекул, и обеспечивают адаптацию к различным местообитаниям (Santana-Pereira et al., 2020; Pandey et al., 2021). Биологически активные вещества, выделенные из бактерий, играют решающую роль в медицине, сельском хозяйстве и промышленности. В настоящее время до 80% антибиотиков, используемых в медицине, получены из микроорганизмов (Newman and Cragg, 2016). Вторичные метаболиты также применяются в качестве противоопухолевых средств, иммуномодуляторов и противопаразитарных препаратов (Austin and Noel, 2003; Kamran et al., 2022; Gabriel et al., 2018), способны связывать двухвалентные катионы тяжелых металлов и используются в биоремедиации (Gomes et al., 2024). Большинство вторичных метаболитов, продуцируемых бактериями, синтезируются мультиферментными комплексами, кодируемыми биосинтетическими кластерами генов (БКГ). Эти кластеры представляют собой компактные генетические локусы, содержащие гены, ответственные за построение углеродного скелета молекулы, его модификацию и регуляцию экспрессии (Austin and Noel, 2003). Полногеномное секвенирование является наиболее передовым подходом для идентификации БКГ у микроорганизмов (Qiu et al., 2024). В сочетании с транскриптомным анализом появляется возможность изучать потенциал биосинтеза вторичных метаболитов в лабораторных условиях (Rabara et al., 2023). Этот подход позволит открывать новые метаболические пути, способствуя развитию более устойчивых и экологически безопасных технологий в условиях растущего экологического давления.

Изучение и открытие новых БКГ высоко актуально с использованием экстремофильных организмов, так как выживание в суровых условиях требует специфических адаптаций. Следовательно, вторичные метаболиты, полученные от экстремофилов, могут быть более стабильными в агрессивных средах и перспективны для различных биотехнологических применений (Maccari et al., 2015; Mashakhtri et al., 2024; Amina and Lotfi, 2024).

Среди представителей рода *Cytobacillus*, населяющих широкий спектр условий окружающей среды, включая экстремальные, продемонстрирована способность к биосинтезу биологически активных веществ с потенциалом для различных биотехнологических применений. К ним относятся липопептидные биосурфактанты, проявляющие антимикробную активность против патогенных грибов, идентифицированные у *Cytobacillus firmus* и *C. oceanisediminis* (Alyousif and Al-Luaibi, 2025). Также перспективны *Cytobacillus kochii*, продуцирующие ферменты, используемые в производстве противовирусных препаратов (Setiawan et al., 2025), разрушающий цепациан штамм *Cytobacillus* sp. Dbc1 для борьбы с патогенными биоотходами на медицинских устройствах (Ghosh et al., 2024), и штамм *Cytobacillus* sp. HMBC3, способный к деградации

полиэтилена низкой плотности (Alamer et al., 2025). Среди представителей рода *Cytobacillus* выделяется *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, выделенный из глубокого подземного минерального источника в неиспользуемой части подземного туннеля Баксанской нейтринной обсерватории ИЯИ РАН (Россия) (Tarasov et al., 2022). Он представляет собой интересную мишень для поиска генов кластеров, участвующих в синтезе биологически активных веществ. Представители этого вида также были выделены из морских осадков и частиц микропластика в морской воде (Lee et al., 2012; Wang et al., 2025). Этот штамм - грамположительный аэроб, обитающий при повышенных температурах (> 40°C), демонстрирующий способность утилизировать C1-соединения в качестве источника углерода и проявляющий выдающуюся устойчивость к тяжелым металлам, включая свинец, кадмий и медь, что делает его перспективным для биоремедиации и биотехнологии (Tarasov et al., 2022).

Целью данного исследования является комплексный анализ генома и транскриптома *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> для идентификации биосинтетических кластеров генов (BGC) биологически активных веществ и анализа экспрессии генов в этих кластерах в лабораторных условиях.

## 2. Материалы и методы

Поиск генов кластеров, кодирующих биологически активные вещества, проводился с использованием сервиса AntiSMASH 8.0.1 (Blin et al., 2025) в геномах *Cytobacillus pseudoceanisediminis* (штамм BNO CP097349.1, штамм 2691 NZ\_CP015506.1, база данных GenBank NCBI).

Для эксперимента использовали штамм *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, ранее выделенный из горячего подземного минерального источника в неиспользуемом участке туннеля БНО (Tarasov et al., 2022). Его культивировали в жидкой среде Миллера LB при 37°C и 160 об/мин.

Транскрипты, принадлежащие БКГ, идентифицировали следующим образом: 3 мл ночной культуры *Cytobacillus pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> разбавляли в 10 раз свежей средой в трех повторностях. Через 3 часа из каждой колбы отбирали по 10 мл. Образцы центрифугировали при 10 000 g в течение 5 минут. Тотальную РНК немедленно выделяли из осадка с использованием TRIzol (Chomczynski, 1993). РНК обрабатывали ДНКазой. Библиотеки готовили с использованием набора TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero (Illumina). Секвенирование проводили на платформе Illumina NovaSeq 6000 (2 x 100 bp), генерируя 10 миллионов ридов на образец. Демультимплексирование ридов выполняли с использованием Illumina bcl2fastq v2.20. Адаптеры удаляли с помощью Skewer v0.2.2 (Jiang et al., 2014). Качество FASTQ файлов оценивали с помощью FastQC v0.12 (Andrews, 2010) и MultiQC (Ewels et al., 2016). Рибосомные РНК (rРНК) удаляли с помощью SortMeRNA v4.3.6. Низкокачественные риды удаляли с помощью Trimmomatic (Bolger



et al., 2014). Риды картировали на референсный геном *C. pseudoceanisediminis* с использованием STAR (Dobin et al., 2013).

### 3. Результаты и обсуждение

В геноме *C. pseudoceanisediminis* BNO (GenBank NCBI CP097349.1) идентифицировано шесть генных кластеров биосинтеза биологически активных соединений (Таблица 1, Рис. 1).

**1. Предшественник терпена:** Все 22 гена экспрессировались конститутивно в лабораторных условиях. Анализ ClusterBlast выявил наилучшее соответствие с кластером НРПС/НРПС-подобного типа у *Enterococcus thailandicus* (Таблица 1). Однако гомология была низкой: только 8 из 22 генов имели >45% идентичности, со средней идентичностью 52.3% среди этих генов. Другие лучшие совпадения включали *Enterococcus faecium*, *Enterococcus lactis* и *Ligilactobacillus salivarius* с еще более низким уровнем гомологии. Терпеноиды представляют собой наиболее разнообразный класс вторичных метаболитов, включающий более 70 000 соединений, таких как витамины, каротиноиды, феромоны и лекарственные средства с противоопухолевыми и противомаларийными свойствами (Yamada et al., 2015; Kamran et al., 2022; Gabriel et al., 2018).

**2. Кластер типа III поликетидсинтазы (ПКС III):** Все 48 генов экспрессировались конститутивно. ClusterBlast выявил высокую гомологию с несколькими геномами, включая *Bacillus* sp. (99.3% идентичности, 100% генов), *C. oceanisediminis* CK22 (99.3%), *C. oceanisediminis* YPW-V2 (99.29%), *C. firmus* B12 (98.2%) и *C. pseudoceanisediminis* 2691 (99.3%, 98% генов). Ферменты ПКС III представляют собой гомодимерные кетосинтазы, продуцирующие разнообразные вторичные метаболиты, часто являющиеся предшественниками флавоноидов, каннабиноидов, восков и алкалоидов, встречающихся у растений, грибов и бактерий (Katsuyama and Ohnishi, 2012; Bisht et al., 2021).

**3. Азол-содержащий-РиПП-Терпеновый кластер:** 32 из 33 генов экспрессировались конститутивно. Лучшие совпадения по ClusterBlast: *C. oceanisediminis* YPW-V2 (97.9% идентичности, 72.7% генов), *C. oceanisediminis* 179-M (97.75%), *Bacillus* sp. 2\_A\_57\_CT2 (97.7%), *C. oceanisediminis* CK22 (97.75%) и *C. firmus* A88 (97.9%). *C. pseudoceanisediminis* 2691 занял 6-е место (97.85%, 72.7% генов). Этот кластер продуцирует терпены и азол-содержащие пептиды (РиППы). Азол-содержащие пептиды проявляют антибактериальную активность посредством таких механизмов, как ингибирование ферментов, нарушение целостности мембраны и воздействие на рибосомы (Travin et al., 2019; Arnison et al., 2013; Pierrat and Maxwell, 2003; Molohon et al., 2016; Metelev et al., 2017).

**4. Терпеновый кластер:** 21 из 22 генов экспрессировались конститутивно. Лучшие совпадения по ClusterBlast включали *C. oceanisediminis* 179-M (97.4% идентичности, 100% генов), *C. oceanisediminis* CK22 (97.68%), *C. firmus* M41 (95.6%), *C. firmus* B12 (96.27%) и *C. pseudoceanisediminis* 2691 (97.45%).

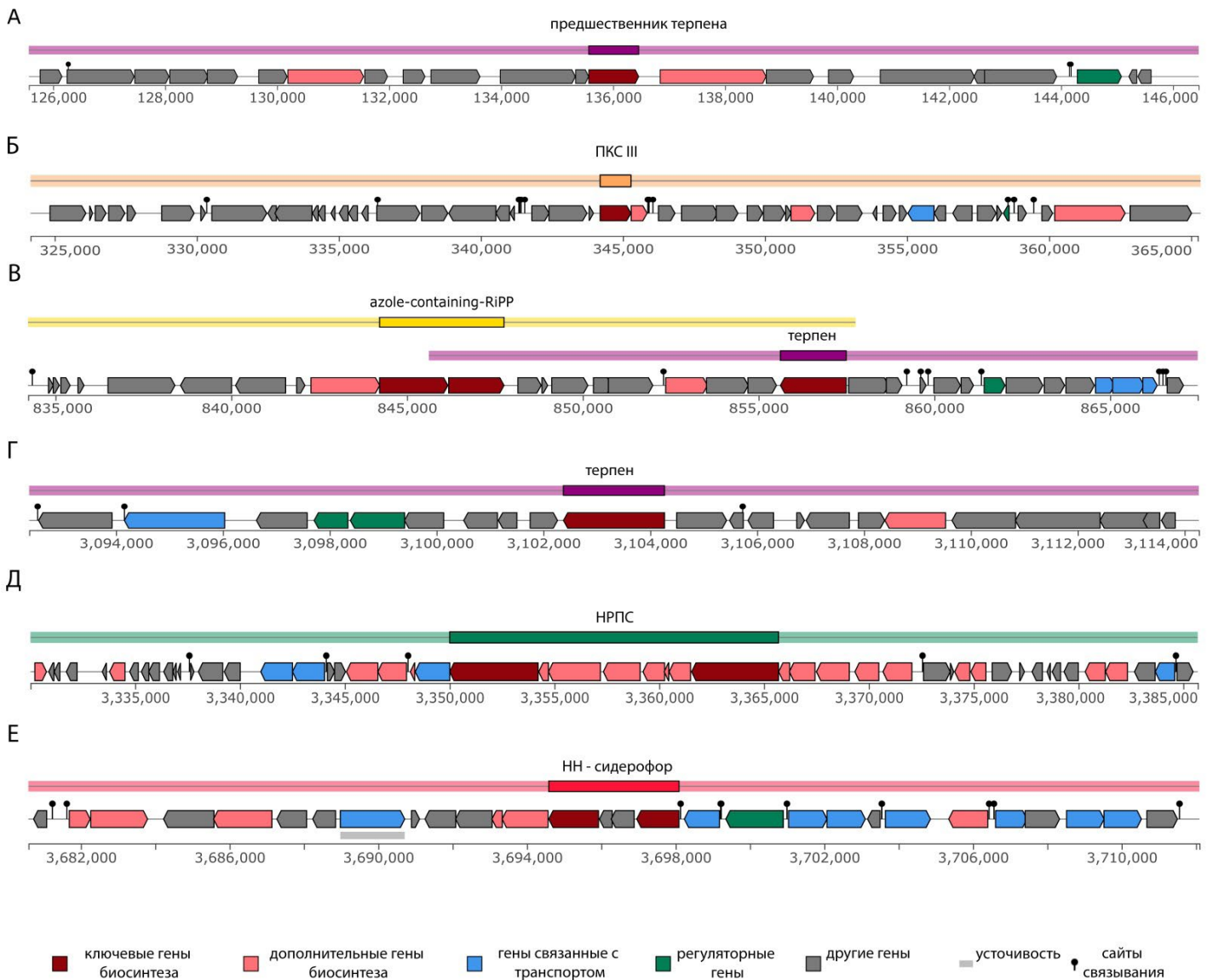
**5. Кластер нерибосомной пептид синтазы (НРПС):** 49 из 51 генов экспрессировались конститутивно. Лучшие совпадения по ClusterBlast: *C. oceanisediminis* 2691 (98.75% идентичности, 96% генов), *C. firmus* A88 (99.3%, 94%), *C. firmus* B12 (97.39%, 84%), *C. firmus* M41 (97.76%, 84%) и *Bacillus cereus* VKM (63.52%, 49%). НРПС представляют собой мультиферментные комплексы, синтезирующие разнообразные метаболиты, такие как сидерофоры, токсины, антибиотики, пигменты и биосурфактанты, широко используемые в промышленности и биоремедиации тяжелых металлов (Bushley and Turgeon, 2010; Wang et al., 2014; Sharma et al., 2022).

**6. НРПС-независимый (НН) сидерофорный кластер:** 15 из 29 генов (51.7%) экспрессировались конститутивно. Лучшие совпадения по ClusterBlast показали очень высокую гомологию: *C. firmus* A88 (99.89% идентичности, 100% генов), *C. pseudoceanisediminis* 2691 (99.79%), *C. oceanisediminis* CK22 (99.75%), *C. oceanisediminis* YPW-V2 (99.5%) и *Bacillus* sp. (99.5%). Сидерофоры представляют собой низкомолекулярные хелаторы железа, жизненно важные для его усвоения, регуляция которых зависит от уровня железа в окружающей среде (Hider and Kong, 2010). Они используются в медицине в качестве антимикробных средств и как «Троянские кони» для преодоления антибиотикорезистентности (Górska et al., 2014). Некоторые сидерофоры также связывают двухвалентные катионы тяжелых металлов, что делает их перспективными агентами для биоремедиации (Hofmann et al., 2021; Gomes et al., 2024).

Все идентифицированные БКГ в геноме *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>o</sup>, за исключением кластера предшественника терпена, демонстрируют высокую гомологию (>95% идентичности) с другим представителем этого вида, *Cytobacillus pseudoceanisediminis* 2691, выделенным из морских осадков в Южной Корее (Jung et al., 2016). Это указывает на то, что эти генные кластеры консервативны в пределах вида *C. pseudoceanisediminis* и, вероятно, играют важную роль в его базовой физиологии или экологической нише, независимо от местообитания, что дополнительно подтверждается конститутивной экспрессией большинства генов кластера. Эти БКГ не являются случайными приобретениями, специфичными для одного штамма. Высокая гомология также наблюдалась с видами *Cytobacillus oceanisediminis*, *Cytobacillus firmus* и *Bacillus* sp., что предполагает общее эволюционное происхождение этих кластеров в пределах рода *Cytobacillus*.

**Таблица 1.** БГК, выявленные в геноме *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>†</sup> (CP097349.1).

Кластер	Тип	От*	До*	Лучшие совпадения ClusterBlast (Номер доступа)	% идентичности	% найденных генов	% экспрессирующихся генов
1	Предшественник терпена	125,567	146,457	<i>Enterococcus thailandicus</i> strain OF20-18ACA (NZ_JAQEWG01000001.1)	52.3	36.4	100%
2	ПКС III	324,152	365,233	<i>Bacillus</i> sp. (NZ_GL635752)	99.3	100	100%
3	Азол-содержащий-РиПП-терпен	834,221	867,494	<i>Cytobacillus oceanisediminis</i> strain YPW-V2 (NZ_CP062790)	97.9	72.7	96.9%
4	Терпен	3,092,376	3,114,268	<i>Cytobacillus oceanisediminis</i> strain 179-M (NZ_JAHHWV010000003)	97.4	100	95.4%
5	НРПС	3,330,009	3,385,692	<i>Cytobacillus pseudoceanisediminis</i> 2691 (NZ_CP015506)	98.75	96	96%
6	НН-сидерофор	3,680,590	3,712,092	<i>Cytobacillus firmus</i> strain A88 (NZ_JANTPI010000022)	99.89	100	51.7%



**Рис.1.** Схематическое представление доменной композиции и организации идентифицированных БГК: (А) генный кластер предшественника терпена, (В) генный кластер ПКС III, (С) генный кластер азол-содержащего-РИПП и терпена, (D) генный кластер терпена, (E) генный кластер НРПС, (F) генный кластер НН-сидерофора. Легенда: ключевые биосинтетические гены | дополнительные биосинтетические гены | гены, связанные с транспортом | регуляторные гены | другие гены | устойчивость | сайт связывания.

Кластер синтеза предшественника терпена показал чрезвычайно низкую гомологию (52.3% средней идентичности для ключевых генов) с последовательностями в базе данных. Ни один из топ-5 совпадений ClusterBlast не принадлежал к роду *Cytobacillus*, что предполагает потенциальный горизонтальный перенос генов (ГПГ) этого кластера (Choufa et al., 2024) или чрезвычайно высокую вариативность в данной области ДНК.

Для всех генных кластеров, за исключением кластера НН-сидерофора, продемонстрирована конститутивная экспрессия >90% генов в стандартных лабораторных условиях (среда LB, 37°C). Это позволяет предположить, что продукты этих генных кластеров важны для базового метаболизма *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup> или являются частью его стратегии адаптации для выживания в потенциально стрессовых условиях его нативной экологической ниши. Конститутивная экспрессия генов БКГ в лабораторных условиях облегчает выделение целевых продуктов биосинтеза и их потенциальное биотехнологическое применение. Эта область обладает значительным потенциалом и требует дальнейшего исследования. Вопрос об изменениях в экспрессии генов биосинтеза вторичных метаболитов в условиях стресса остается открытым. Присутствие кластеров НРПС и сидерофора коррелирует с показанной ранее устойчивостью штамма к тяжелым металлам (Tarasov et al., 2022), что предполагает вовлеченность продуктов биосинтеза в хелатирование или детоксикацию металлов.

#### 4. Выводы

Комплексный геномный и транскриптомный анализ подтвердил наличие консервативного набора БКГ у экстремофильного штамма *C. pseudoceanisediminis* BNO<sup>T</sup>, гены которого активно экспрессируются в стандартных условиях, подчеркивая их потенциальную важность для его физиологии и адаптации. Конститутивная экспрессия облегчает потенциальное биотехнологическое использование. Кластеры НРПС и сидерофора, вероятно, связаны с его исключительной устойчивостью к тяжелым металлам. Кластер предшественника терпена потенциально является результатом горизонтального переноса генов. Для дальнейшего выяснения потенциала идентифицированных БКГ будущая работа должна включать анализ изменений экспрессии генов в условиях стресса (например, тяжелые металлы, повышенная температура, С1-субстраты), а также выделение и характеристику биосинтетических продуктов выявленных БКГ.

#### Благодарности

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект РНФ № 24-24-00003).

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список литературы

- Alamer N.J., Aldayel M.F., Khalifa A. 2025. *Cytobacillus* sp. Strain HMBC3 from Saudi Arabian Soil Degrades Low-Density Polyethylene. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 6:35:e2409023. DOI: [10.4014/jmb.2409.09023](https://doi.org/10.4014/jmb.2409.09023)
- Amina M., Lotfi G. 2024. An Overview of Extremophile: Microbial Diversity, Adaptive Strategies, and Potential Applications. *Microbiology and Biotechnology Letters* 52: 520. DOI: [10.48022/mb.2412.05020](https://doi.org/10.48022/mb.2412.05020)
- Andrews S. 2010. FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. [Software]. URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
- Alyouisif N., Al-Luaibi Y. 2025. Molecular Detection and Occurrence of Lipopeptide Biosurfactant Genes in Different Bacillus Related Species. *Acta microbiologica bulgarica* 41: 203–211. DOI: [10.59393/amb25410209](https://doi.org/10.59393/amb25410209)
- Arnison P.G., Bibb M.J., Bierbaum G. et al. 2013. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. *Natural Product Reports* 30: 108–160. DOI: [10.1039/c2np20085f](https://doi.org/10.1039/c2np20085f)
- Austin M.B., Noel J.P. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Product Reports* 20(1): 79–110. DOI: [10.1039/b100917f](https://doi.org/10.1039/b100917f) PMID: 12636085
- Bahram M., Hildebrand F., Forslund S.K. et al. 2018. Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature* 560: 233–237. DOI: [10.1038/s41586-018-0386-6](https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6)
- Bisht R., Bhattacharyya A., Shrivastava A. et al. 2021. An Overview of the Medicinally Important Plant Type III PKS Derived Polyketides. *Frontiers in Plant Science* 12: 746908. DOI: [10.3389/fpls.2021.746908](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.746908)
- Blin K., Shaw S., Vader L. et al. 2025. antiSMASH 8.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. *Nucleic Acids Research* 53: 32–38. DOI: [10.1093/nar/gkaf334](https://doi.org/10.1093/nar/gkaf334)
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114–2120. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu170](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170)
- Bushley K.E., Turgeon B.G. 2010. Phylogenomics reveals subfamilies of fungal nonribosomal peptide synthetases and their evolutionary relationships. *BMC Evolutionary Biology* 10: 26. DOI: [10.1186/1471-2148-10-26](https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-26)
- Chomczynski P. 1993. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. *BioTechniques* 15: 532–534.
- Choufa C., Gascht P., Leblond H. et al. 2024. Conjugation Mediates Large-Scale Chromosomal Transfer in *Streptomyces* Driving Diversification of Antibiotic Biosynthetic Gene Clusters. *Molecular Biology and Evolution* 41: msae236. DOI: [10.1093/molbev/msae236](https://doi.org/10.1093/molbev/msae236)
- Dobin A., Davis C.A., Schlesinger F. et al. 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics* 29: 15–21. DOI: [10.1093/bioinformatics/bts635](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts635)
- Ewels P., Magnusson M., Lundin S. et al. 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* 32: 3047–3048. DOI: [10.1093/bioinformatics/btw354](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354)
- Falkowski P.G., Fenchel T., DeLong E.F. 2008. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science* 320: 1034–1039. DOI: [10.1126/science.1153213](https://doi.org/10.1126/science.1153213)

- Gabriel H.B., Sussmann R.A.C., Kimura E.A. et al. 2018. Terpenes as Potential Antimalarial Drugs. In: Perveen S. (Ed.), *Terpenes and Terpenoids*. IntechOpen. DOI: [10.5772/intechopen.75108](https://doi.org/10.5772/intechopen.75108)
- Ghosh D., Seth M., Mondal P. et al. 2024. Cepacian degrading *Cytobacillus* sp. strain Dbc1 with anti-biofilm activity potentiating antibiotic efficacy against *Burkholderia cepacia* biofilm development. *Journal of Environmental Biology* 45: 25–35. DOI: [10.22438/jeb/45/1/MRN-5165](https://doi.org/10.22438/jeb/45/1/MRN-5165)
- Gomes A.F.R., Almeida M.C., Sousa E. et al. 2024. Siderophores and metallophores: Metal complexation weapons to fight environmental pollution. *Science of The Total Environment* 932: 173044. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2024.173044](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173044)
- Górska A., Sloderbach A., Marszałł M.P. 2014. Siderophore–drug complexes: potential medicinal applications of the ‘Trojan horse’ strategy. *Trends in Pharmacological Sciences* 35: 442–449. DOI: [10.1016/j.tips.2014.06.007](https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.06.007)
- Hider R.C., Kong X. 2010. Chemistry and biology of siderophores. *Natural Product Reports* 27: 637–657. DOI: [10.1039/b906679a](https://doi.org/10.1039/b906679a)
- Hofmann M., Heine T., Malik L. et al. 2021. Screening for Microbial Metal-Chelating Siderophores for the Removal of Metal Ions from Solutions. *Microorganisms* 9: 111. DOI: [10.3390/microorganisms9010111](https://doi.org/10.3390/microorganisms9010111)
- Jiang H., Lei R., Ding S.W. et al. 2014. Skewer: a fast and accurate adapter trimmer for next-generation sequencing paired-end reads. *BMC Bioinformatics* 15: 182. DOI: [10.1186/1471-2105-15-182](https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-182)
- Jung J., Jeong H., Kim H.J. et al. 2016. Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes. *Marine Genomics* 30: 73–76. DOI: [10.1016/j.margen.2016.07.002](https://doi.org/10.1016/j.margen.2016.07.002)
- Kamran S., Sinniah A., Abdulghani M.A.M. et al. 2022. Therapeutic Potential of Certain Terpenoids as Anticancer Agents: A Scoping Review. *Cancers* 14: 1100. DOI: [10.3390/cancers14051100](https://doi.org/10.3390/cancers14051100)
- Katsuyama Y., Ohnishi Y. 2012. Type III Polyketide Synthases in Microorganisms. *Methods in Enzymology* 515: 359–377. DOI: [10.1016/B978-0-12-394290-6.00017-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394290-6.00017-3)
- Lee Y.J., Lee S.J., Jeong H. et al. 2012. Draft genome sequence *Bacillus oceanisediminis* 2691. *Journal of Bacteriology* 194: 6351–6352. DOI: [10.1128/jb.01643-12](https://doi.org/10.1128/jb.01643-12)
- Maccari L., Sanguino L., Vogel T.M. et al. 2015. Snow and ice ecosystems: not so extreme. *Research in Microbiology* 166: 782–795. DOI: [10.1016/j.resmic.2015.09.002](https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.09.002)
- Mashkhetri K., Aishwarya C., Prusty T. et al. 2024. Secondary Metabolites from Extremophiles. In: Shah M.P., Dey S. (Eds.), *Trends in Biotechnology of Polyextremophiles*. Cham: Springer. DOI: [10.1007/978-3-031-55032-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-55032-4_8)
- Meteliev M., Serebryakova M., Ghilarov D. et al. 2017. Klebsazolicin inhibits 70S ribosome by obstructing the peptide exit tunnel. *Nature Chemical Biology* 13: 1129–1136. DOI: [10.1038/nchembio.2480](https://doi.org/10.1038/nchembio.2480)
- Molohon K.J., Blair P.M., Park S. et al. 2016. Plantazolicin is an ultra-narrow spectrum antibiotic that targets the *Bacillus anthracis* membrane. *ACS Infectious Diseases* 2: 207–220. DOI: [10.1021/acsinfecdis.5b00115](https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00115)
- Newman D.J., Cragg G.M. 2016. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products* 79: 629–661. DOI: [10.1021/acs.jnatprod.5b01055](https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055)
- Pandey K.D., Patel A.K., Singh M. et al. 2021. Secondary metabolites from bacteria and viruses. In: Nayik G.A., Gull A. (Eds.), *Natural Bioactive Compounds*. Academic Press, pp. 19–40. DOI: [10.1016/B978-0-12-820655-3.00002-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00002-1)
- Pierrat O.A., Maxwell A. 2003. The action of the bacterial toxin microcin B17. Insight into the cleavage-religation reaction of DNA gyrase. *Journal of Biological Chemistry* 278: 35016–35023. DOI: [10.1074/jbc.M301370200](https://doi.org/10.1074/jbc.M301370200)
- Qiu Z., Zhu Y., Zhang Q. et al. 2024. Unravelling biosynthesis and biodegradation potentials of microbial dark matters in hypersaline lakes. *Environmental Science and Ecotechnology* 20: 100359. DOI: [10.1016/j.ese.2023.100359](https://doi.org/10.1016/j.ese.2023.100359)
- Rabara R.C., Kudithipudi C., Timko M.P. 2023. Identification of Terpene-Related Biosynthetic Gene Clusters in Tobacco through Computational-Based Genomic, Transcriptomic, and Metabolic Analyses. *Agronomy* 13: 1632. DOI: [10.3390/agronomy13061632](https://doi.org/10.3390/agronomy13061632)
- Santana-Pereira A.L.R., Sandoval-Powers M., Monsma S. et al. 2020. Discovery of Novel Biosynthetic Gene Cluster Diversity From a Soil Metagenomic Library. *Frontiers in Microbiology* 11: 585398. DOI: [10.3389/fmicb.2020.585398](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.585398)
- Setiawan A., Amini M.K., Fidyandini H.P. et al. 2025. Environmental Effect on the Growth and Enzyme Activity of Fucoidanase-Producing Bacteria *Cytobacillus kochii* GSD. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 17: 438–452. DOI: [10.20473/jipk.v17i2.69263](https://doi.org/10.20473/jipk.v17i2.69263)
- Sharma P., Rekhi P., Debnath M. 2022. Removal of Heavy Metal by Biosurfactant Producing Novel Halophilic *Staphylococcus sciuri* subsp. *rodentium* Strain SE I Isolated from Sambhar Salt Lake. *ChemistrySelect* 7: e202202970. DOI: [10.1002/slct.202202970](https://doi.org/10.1002/slct.202202970)
- Tarasov K., Yakhnenko A., Zarubin M. et al. 2022. *Cytobacillus pseudoceanisediminis* sp. nov., a novel facultative methylotrophic bacterium with high heavy metal resistance isolated from the deep underground saline spring. *Current Microbiology* 80: 31. DOI: [10.1007/s00284-022-03141-8](https://doi.org/10.1007/s00284-022-03141-8)
- Travin D.Y., Watson Z.L., Meteliev M. et al. 2019. Structure of ribosome-bound azole-modified peptide phazolicin rationalizes its species-specific mode of bacterial translation inhibition. *Nature Communications* 10: 4563. DOI: [10.1038/s41467-019-12589-5](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12589-5)
- Wang J., Liu R., Zhao S. et al. 2025. Construction of an efficient polystyrene-degrading microbial consortium based on degrading and nondegrading bacteria predominant in biofilms of marine plastic debris. *Frontiers in Marine Science* 12: 1569583. DOI: [10.3389/fmars.2025.1569583](https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1569583)
- Wang H., Fewer D.P., Holm L. et al. 2014. Atlas of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic pathways reveals common occurrence of nonmodular enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 9259–9264. DOI: [10.1073/pnas.1401734111](https://doi.org/10.1073/pnas.1401734111)
- Yamada Y., Kuzuyama T., Komatsu M. et al. 2015. Terpene synthases are widely distributed in bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: 857–862. DOI: [10.1073/pnas.1422108112](https://doi.org/10.1073/pnas.1422108112)