

# ПЦР-СКРИНИНГ бактериальных КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ из ПРЕСНОВОДНОЙ ГУБКИ *Lubomirskia baicalensis*, на НАЛИЧИЕ ГЕНОВ СИНТЕЗА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

**В составе микробных сообществ губок часто присутствуют продуценты биоактивных метаболитов. Из губки *Lubomirskia baicalensis* обитающей в оз. Байкал, были выделены 14 бактериальных культур, принадлежащих филумам Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria.**

**Культуры идентифицировали с помощью молекулярных методов. Для анализа штаммов на наличие генов синтеза вторичных метаболитов: поликетидсинтаз (PKS) и нерибосомных пептидсинтаз (NRPS), применен ПЦР-скрининг с использованием вырожденных праймеров.**

## Введение

**М**икроорганизмы водных сообществ являются важнейшим ресурсом для поиска новых природных метаболитов. Губки (тип Porifera), являясь сидячими фильтраторами, аккумулируют в своём теле огромное разнообразие различных микроорганизмов, таких как гетеротрофные бактерии, цианобактерии, микроскопические водоросли, археи, динофлагелляты, грибы [1]. Бактерии составляют до 40% биомассы некоторых морских губок, а их известное разнообразие включает 25 различных филумов (phylum) [2]. Сообщества морских губок многие годы активно исследуются в качестве перспективного источника фармацевтически и биотехнологически значимых химических компонентов [3-5]. При этом известно, что бактериальные штаммы, полученные из необычных и неисследованных сообществ, часто являются продуктивным источником биологически-активных веществ (БАВ) [6]. Большое

**О.В. Калюжная\***,

кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

**И.А. Липко**,

кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

**В.Б. Ицкович**,

кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

**О.В. Калюжная**,

инженер, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук

видовое разнообразие губок, обитающих в оз. Байкал (18 видов, 14 из которых являются эндемиками), связывают с многообразием экологических ниш и условий обитания. В этой связи исследование способности микроорганизмов байкальских губок вырабатывать БАВ, является на сегодняшний день весьма актуальным.

На сегодняшний день известно, что многие метаболиты бактериального происхождения являются поликетидами или циклопептидами и синтезируются мультиферментными комплексами — поликетидсинтазами (PKS) и нерибосомными пептидсинтазами (NRPS) [7]. Ферменты или мультиферментные комплексы PKS синтезируют поликетиды (такие как антибиотики, токсины или статины) и используют в качестве субстрата мономеры ацил-коэнзима-А [8]. Данные ферментативные системы состоят из нескольких белков — «строительных блоков». Каждый белок имеет доменное строение и, соответственно, несколько центров, обладающих разными каталитическими активностями. Группа доменов, отвечающая за один цикл конденсации, образует «модуль», состоящий минимум из трёх доменов: кетосинтазного (KS-домен), ацилтрансферазного (AT) и ацилпереносящего (ACP) [9]. У бактерий работа системы биосинтеза PKS часто происходит совместно с нерибосомными пептидсинтазами, NRPS. Оба типа ферментов могут формировать гибридный биосинтетический комплекс — гибридные синтетазы. NRPS синтезируют ряд природных соединений (нерибосомных пептидов) с очень широким спектром биологической активности и различными лекарственными свойствами [7, 10]. В качестве субстрата для синтеза олигопептидов NRPS используют аминокислотные мономеры. Количество и порядок модулей и тип имеющихся в модуле доменов каждой NRPS определяет структурное разнообразие образующихся в результате пептидных продуктов. Модули содержат АТФ-зависимый домен аденилирования (А-домен), пептидил-

\*Адрес для корреспонденции: x-sun77@rambler.ru

переносимый домен (PCP) и конденсирующий (C) домен. Собранный молекула освобождается из ферментного комплекса с помощью тииоэстеразного (TE) домена. Наиболее консервативным является А-домен [3].

Поскольку последовательности модулей в PKS и NRPS системах соответствуют кластерам генов в геномах микроорганизмов, обнаружить способность сообществ микроорганизмов и их отдельных штаммов продуцировать биоактивные компоненты можно с помощью ПЦР-детекции данных генов. Задачи данного исследования включали идентификацию бактериальных штаммов, выделенных из эндемичной байкальской губки *L. baicalensis*, а также ПЦР-скрининг штаммов на наличие в их геномах фрагментов гена KS-домена PKS и А-домена NRPS.

## Материалы и методы исследования

Образцы *Lubomirskia baicalensis* были собраны в апреле 2010 г. в районе пос. Листвянка (юго-западное побережье оз. Байкал) с глубины 15 м с помощью водолазной техники. Выделение бактериальных штаммов из губки проводили на среде R2A агар «Vecton Dickinson» (США) по методу, опубликованному ранее [11]. ДНК из бактериальных культур выделяли с использованием набора «РибоСорб» (АмплиСенс) по инструкции производителя.

Идентификацию штаммов осуществляли путём анализа последовательностей генов 16S рРНК. Для этого на основе ДНК каждого штамма с использованием эубактериальных праймеров 9F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1525R (5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3') [12] проводили амплификацию последовательностей фрагментов рибосомной РНК в следующем режиме: активация полимеразы (5 мин при 94 °С); 35 циклов, включающих денатурацию ДНК (30 с при 94 °С), отжиг праймеров (60 с при 56 °С) и элонгацию (90 с при 72 °С); финальная элонгация (10 мин при 72 °С). Индивидуальные ПЦР-фрагменты анализировали путем электрофореза в 0,8% геле агарозы, после чего экстрагировали, используя набор «PCR clean-up Gel extraction NucleoSpin Extract II» («Macherey-Nagel») по методике производителя. Определение нуклеотидных последовательностей (размером около 1500 п.н.) проводили на автоматическом секвенаторе CEQ 8800 («Beckman Coulter Inc.»).

Подбор праймеров для ПЦР-скрининга генов поликетидсинтаз (PKS) и нерибосомных

**В.В. Парфёнова**, кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией водной микробиологии, ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук

пептидсинтаз (NRPS) осуществлялся на основе литературных данных, посвященных исследованию генов БАВ в микробных сообществах морских губок. [8]. В результате были выбраны следующие праймеры:

DKF(PKS)  
5'-GTGCCGGTNCRTGNGYYTC-3',  
DKR(PKS)  
5'-GCGATGGAYCCNCARCARYG-3',  
MTF(NRPS)  
5'-GCNGGYGGYGCNTAYGTNCC-3',  
MTR(NRPS) 5'-CCNCGDATYTTNACYTG-3'.

Амплификацию генов PKS и NRPS проводили в следующем режиме: активация полимеразы (5 мин при 94 °С); 35 циклов, включающих денатурацию ДНК (45 с при 94 °С), отжиг праймеров (50 с при 60 °С) и элонгацию (60 с при 72 °С); финальная элонгация (10 мин при 72 °С). ПЦР-продукты визуализировали в 1% геле агарозы. Сравнение с базами данных нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы BLASTX сервера NCBI [13].

## Результаты и их обсуждение

Метод ПЦР-скрининга позволяет осуществить отбор штаммов, потенциально способных продуцировать вторичные метаболиты, по наличию генов их синтеза. Это даёт возможность в дальнейшем более адресно проводить поиск продуцентов БАВ с применением микробиологических и биохимических методов. Данный подход был применен нами для анализа культур, выделенных из байкальской губки. Селекцию праймеров осуществляли на основе гомологии наиболее консервативным участкам генных кластеров PKS и NRPS: KS-домену поликетидсинтаз и А-домену нерибосомных пептидсинтаз. Для удобства анализа продуктов амплификации в агарозном геле учитывали также размер предполагаемых ПЦР-фрагментов: размер участка гена PKS составлял 700 п.н., NRPS — 1000 п.н. На начальном этапе исследования 14 бактериальных культур, выделенных в 2010 г. из пресноводной губки *L. baicalensis*, были идентифицированы молекулярными методами. На основе последовательностей полноразмерных генов 16S рРНК была определена видовая принадлежность штаммов к нескольким систематическим группам: филуму Firmicutes (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. weihenstephanensis*, *B. amyloliquefaciens*), филуму Actinobacteria (*Rhodococcus cercidiphylli*, *Kocuria carniphila*, *Curtobacterium* sp.), классу alpha-Proteobacteria

(*Brevundimonas vesicularis*, *Kaistia* sp.), классу beta-Proteobacteria (*Variovorax paradoxus*), классу gamma-Proteobacteria (*Pseudomonas fluorescens*). В табл. 1 приводится гомология полученных последовательностей 16S рРНК с опубликованными в базе данных Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) последовательностями рибосомных генов известных бактериальных штаммов.

Следует отметить, что при анализе сравнительно небольшой выборки штаммов выявлены представители восьми родов, принадлежащие трём бактериальным филумам, что говорит о присутствии в составе сообщества *L. baicalensis* значительного разнообразия культивируемых микроорганизмов. В числе выделенных из губки культур находятся представители филумов Actinobacteria и Proteobacteria, которые, по данным наших предыдущих исследований [14] являются доминирующими в сообществе *L. baicalensis*.

В результате скрининга в 9 из 14 штаммов был отмечен положительный ПЦР-сигнал. В пяти случаях продукты амплификации, соответствующие ожидаемым размерам как PKS, так и NRPS генов были выявлены у видов рода *Bacillus*. В штаммах *Pseudomonas fluorescens* 16-Lb10 и *Curtobacterium* sp. 32-Lb10 также было обнаружено оба ПЦР-продукта. Присутствие единственного ПЦР-фрагмента гена PKS было выявлено в штамме *Variovorax paradoxus* 09-Lb10. У штамма *Rhodococcus cercidiphylli* 05-Lb10, напротив, был обнаружен продукт амплификации только гена NRPS.

Присутствие генов синтеза БАВ в штаммах рода *Bacillus* является закономерным, поскольку

**Ключевые слова:** пресноводные губки, *Lubomirskia baicalensis*, штаммы микроорганизмов, гены синтеза биологически-активных метаболитов, ПЦР-скрининг

ку многие представители данного рода известны как продуценты разнообразных биоактивных метаболитов, в том числе антибиотиков и токсинов. В их числе липопептид микосубтилин, итурин А, бацилломицин. По результатам ряда работ установлено, что 4% генома *B. subtilis* составляют кластеры синтеза поликетидов и нерибосомных пептидов. Штаммы этого вида являются продуцентами бактериоцинов, пептидаз, лигаз и разнообразных антибиотиков. В геноме *B. amyloliquefaciens* были обнаружены генные кластеры PKS, участвующих в синтезе диффицидина, макролактин и маиилена [15].

Штамм *Pseudomonas fluorescens* 16-Lb10 также потенциально способен к синтезу БАВ, поскольку известно, что бактерии рода *Pseudomonas* продуцируют целый ряд антибактериальных, противовирусных и цитотоксических соединений поликетидной природы [16]. Из почвенных штаммов *P. fluorescens* получают такие известные антибиотические вещества, как мупироцин и пиолутеорин [17, 18], а в геноме комменсала растений *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 обнаружены гены синтеза производных токсина ризоксина [19]. В водном сообществе Байкала представители рода *Pseudomonas* широко распространены и ранее были обнаружены в различных видах губок [11, 20]. Показано, что проявляющий антагонистическую активность штамм *P. fluorescens* 28Bb-06, выделенный из байкальской губки *Baikalospongia bacillifera*, содержит в своем геноме четыре различных гена PKS [21].

Наличие положительного ПЦР-сигнала по PKS и NRPS генам у актинобактерии

**Таблица 1**

Бактериальные штаммы, изолированные из пресноводной губки *L. baicalensis*

Штамм	Ближайший гомолог (номер доступа NCBI)	% гомол.	Систематическая группа	ПЦР-сигнал	
				PKS	NRPS
03-Lb0410	<i>Bacillus subtilis</i> (AB680489)	100	Firmicutes	+	+
04-Lb0410	<i>Bacillus subtilis</i> (AB680489)	100	Firmicutes	+	+
05-Lb0410	<i>Rhodococcus cercidiphylli</i> (HQ588861)	99	Actinobacteria	-	+
07-Lb0410	<i>Kocuria carniphila</i> (NR_027193)	99	Actinobacteria	-	-
09-Lb0410	<i>Variovorax paradoxus</i> (CP002417)	99	β-Proteobacteria	+	-
12-Lb0410	<i>Bacillus subtilis</i> (AB680489)	100	Firmicutes	+	+
14-Lb0410	<i>Bacillus cereus</i> (AB679980)	100	Firmicutes	+	+
15-Lb0410	<i>Bacillus cereus</i> (AB679980)	100	Firmicutes	-	-
16-Lb0410	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (HQ288938)	99	γ-Proteobacteria	+	+
25-Lb0410	<i>Bacillus weihenstephanensis</i> (CP000903)	98	Firmicutes	-	-
26-Lb0410	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (CP000560)	99	Firmicutes	+	+
28-Lb0410	<i>Brevundimonas vesicularis</i> (FM955876)	99	α-Proteobacteria	-	-
30-Lb0410	<i>Kaistia</i> sp. (AM409365)	99	α-Proteobacteria	-	-
32-Lb0410	<i>Curtobacterium</i> sp. (AB042093)	98	Actinobacteria	+	+

*Curtobacterium* sp. 32-Lb10 также может свидетельствовать о биотехнологическом потенциале данного штамма, поскольку известно, что виды рода *Curtobacterium* способны вырабатывать эндофицины — токсины, подавляющие рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая патогены человека и растений [22]. Семейство Microbacteriaceae (филум Actinobacteria), к которому принадлежит род *Curtobacterium*, объединяет аэробные бактерии, способные формировать ассоциации с растениями и животными в водной и наземной среде [23, 24].

В геноме другого актинобактериального штамма *Rhodococcus cercidiphylli* 05-Lb10 был выявлен единичный ПЦР-продукт, соответствующий фрагменту участка А-домена NRPS. Данный вид является бактерией-эндофитом, многие представители которого обладают способностью подавлять рост патогенных бактерий, грибов и вирусов. Различные штаммы *Rhodococcus* участвуют в синтезе биоактивных стероидов [25], а также в биодеградации широкого спектра органических компонентов, в том числе опасных для окружающей среды токсинов, гербицидов, нафтадена, толуена, бифенила и др. [26].

*Variovorax paradoxus* 09-Lb10, у которого удалось амплифицировать фрагмент гена PKS, также перспективен для дальнейших исследований, поскольку представители этого вида принимают непосредственное участие в процессах биодеградации и являются продуцентами различных биоактивных молекул [27].

Определение последовательностей амплифицированных генов, а также выявление антибиотической активности отобранных штаммов (по отношению к тест-культурам условно-патогенных микроорганизмов) является следующим этапом данного исследования.

## Заключение

**В** настоящей работе на примере коллекции бактериальных штаммов проведён ПЦР-скрининг потенциальной способности микроорганизмов вырабатывать вторичные метаболиты, в синтезе которых принимают участие генные кластеры PKS и NRPS. Данный подход впервые применен для изучения культур бактерий, выделенных из пресноводной губки. Предложенный метод удобен для предварительного анализа большого количества систематически-разнородных штаммов. В дальнейшем биологическая активность штаммов, демонстрирующих положительный ПЦР-сигнал, может

быть исследована с помощью микробиологических, биохимических и аналитических методов. Проведённое исследование важно для понимания принципов и стратегий взаимоотношения микроорганизмов, сосуществующих в тесных ассоциациях в условиях водной среды.

*Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ №11-04-00323-а и Целевой программы РАН «Поддержка вивариев, коллекций, клеточных и бактериальных культур».*

## Литература

1. Taylor M.W. Sponge associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential / Taylor M.W., Radax R., Steger D., Wagner M. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007. V. 71. №2. P. 295–347.
2. Webster N.S. Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships / Webster N.S., Taylor M.W. // *Environ. Microbiol.* 2012. V. 14. №2. P. 335–346.
3. Kennedy J. Diversity of microbes associated with the marine sponge, *Haliclona simulans*, isolated from Irish waters and identification of polyketide synthase genes from the sponge metagenome / Kennedy J., Codling C.E., Jones B.V., Dobson A.D., Marchesi J.R. // *Environ. Microbiol.* 2008. V. 10, №7. P. 1888–1902.
4. Sipkema D. Multiple approaches to enhance the cultivability of bacteria associated with the marine sponge *Haliclona (gellius) sp.* / Sipkema D., Schippers K., Maalcke W.J., Yang Y., Salim S., Blanch H.W. // *Appl. Environ. Microb.* 2011. V. 77. №6. P. 2130–2140.
5. Hentschel U. Genomic insights into the marine sponge microbiome / Hentschel U., Piel J., Degnan S.M., Taylor M.W. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2012. V. 10. №9. P. 641–654.
6. Jenke-Kodama H. Evolution of metabolic diversity: insights from microbial polyketide synthases / Jenke-Kodama H., Dittmann E. // *Phytochemistry.* 2009. V. 70. №15-16. P. 1858–1866.
7. Nikolouli K. Bioactive compounds synthesized by non-ribosomal peptide synthetases and type-I polyketide synthases discovered through genome-mining and metagenomics / Nikolouli K., Mossialos D. // *Biotechnol. Lett.* 2012. V. 34. №8. P. 1393–1403.
8. Ehrenreich I. Distribution and diversity of natural product genes in marine and freshwater cyanobacterial cultures and genomes / Ehrenreich I., Waterbury J., Webb E. // *Appl. Environ. Microb.* 2005. V. 71. №11. P. 7401–7413.
9. Schirmer A. Metagenomic analysis reveals diverse polyketide synthase gene clusters in microorganisms associated with the marine sponge *Discodermia dissolute* / Schirmer A., Gadkari R., Reeves C., Ibrahim F., Edward F. DeLong E., Hutchinson R. // *Appl. Environ. Microb.* 2005. V. 71. №8. P. 4840–4849.

10. Valerio E. Diversity and impact of prokaryotic toxins on aquatic environments: a review / Valerio E., Chaves S., Tenreiro R. // *Toxins (Basel)*. 2010. V. 2. №10. P. 2359–2410.
11. Парфенова В.В. Микробное сообщество пресноводных губок озера Байкал / Парфенова В.В., Теркина И.А., Косторнова Т.Я., Никулина И. Г., Черных В. И., Максимова Э.А. // *Изв. РАН. Серия биол.* 2008. №4. С. 435–441.
12. Bano N. Phylogenetic composition of bacterioplankton assemblages from the Arctic Ocean / Bano N., Hollibaugh J.T. // *Appl. Environ. Microb.* 2002. V. 68. №2. P. 505–518.
13. Altschul S.F. Basic local alignment search tool / Altschul S.F., Warren G., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. // *Mol. Biol.* 1990. V. 215. №3. P. 403–410.
14. Калюжная О.В. Разнообразие генов 16S рРНК в метагеномном сообществе пресноводной губки *Lubomirskia baicalensis* / Калюжная О.В., Кривич А.А., Ицкович В.Б. // *Генетика*. 2012. Т.48. №8. 851–854.
15. Fickers P. Antibiotic compounds from *Bacillus*: why are they so amazing? // *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 2012. V. 8. №1. P. 40–46.
16. Isnansetyo A. Bioactive substances produced by marine isolates of *Pseudomonas* / Isnansetyo A., Kamei Y. // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2009. V. 36. №10. P. 1239–1248.
17. Gurney R. Mupirocin: biosynthesis, special features and applications of an antibiotic from a gram negative bacterium / Gurney R., Thomas C.M. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 90. №1. P. 11–21.
18. Kidarsa T.A. Phloroglucinol mediates crosstalk between the pyoluteorin and 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic pathways in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 / Kidarsa T.A., Goebel N.C., Zabriskie T.M., Loper J.E. // *Mol. Microbiol.* 2011. V. 81. №2. 395–414.
19. Brendel N. A cryptic PKS-NRPS gene locus in the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 codes for the biosynthesis of an antimetabolic rhizoxin complex / Brendel N., Partida-Martinez L.P., Scherlach K., Hertweck C. // *Org. Biomol. Chem.* 2007. V. 5. №14. P. 2211–2213.
20. Павлова О.Н. Особенности распространения бактерий рода *Pseudomonas* в озере Байкал / Павлова О.Н., Дрюккер В.В., Косторнова Т.Я., Никулина И.Г. // *Сиб. экол. журнал*. 2003. №3. С. 267–272.
21. Липко И.А. Идентификация генов поликетидсинтазы (PKS) в геноме штамма *Pseudomonas fluorescens* 28bBb-06 из пресноводной губки *Baikalospongia bacillifera* / Липко И.А., Калюжная О.В., Кравченко О.С., Парфенова В.В. // *Молекулярная биология*. 2012. Т. 46. №4. С. 677–679.
22. Lacava P.T. The Endophyte *Curtobacterium flaccumfaciens* reduces symptoms caused by *Xylella fastidiosa* in *Catharanthus roseus* / Lacava P.T., Li W., Araujo W.L., Azevedo J.L., Hartung J.S. // *J. Microbiol.* 2007. V. 45. №5. P. 388–393.
23. Hahn M.W. Isolation of novel ultramicrobacteria classified as actinobacteria from five freshwater habitats in Europe and Asia / Hahn M.W., Lünsdorf H., Wu Q., Schauer M., Höfle M.G., Boenigk J., Stadler P. // *Appl. Environ. Microb.* 2003. V. 69. №3. P. 1442–1451.
24. Karojet S. *Microbacterium yamicii* sp. nov., isolated from Arabidopsis thaliana roots / Karojet S., Kunz S., van Dongen J.T. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2012. V. 62. №4. P. 822–826.
25. Haroune N. Metabolism of 2-mercaptobenzothiazole by *Rhodococcus rhodochrous* / Haroune N., Combourieu B., Besse P., Sancelme M., Kloepfer A., Reemtsma T., De Wever H., Delort A.M. // *Appl. Environ. Microb.* 2004. V. 70. №10. P. 6315–6319.
26. Zhao K. The diversity and anti-microbial activity of endophytic actinomycetes isolated from medicinal plants in *Panxi plateau*, China / Zhao K., Penttinen P., Guan T., Xiao J., Chen Q., Xu J., Lindström K., Zhang L., Zhang X., Strobel G.A. // *Curr. Microbiol.* 2011 V. 62. №1. P. 182–190.
27. Carbajal-Rodriguez I. Aerobic Degradation of mercaptosuccinate by the Gram-negative bacterium *Variovorax paradoxus* strain B4 / Carbajal-Rodriguez I., Stoveken N., Satola B., Wubbeler J.H., Steinbuchel A. // *J. Bacteriol.*, 2011. V. 193. №2. P. 527–539.

О.В. Калюжная, И.А. Липко, В.В. Ицкович, О.В. Калюжная, В.В. Парфенова

## PCR-SCREENING OF BACTERIA ISOLATED FROM FRESHWATER SPONGE LUBOMIRSKIA BAICALENSIS FOR DETECTION OF GENES OF SECONDARY METABOLITES

In microbial communities of freshwater sponges there are producers of bioactive metabolites often. 14 bacterial cultures belonging to Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria phylums were isolated from freshwater sponge *Lubomirskia baicalensis* habitant in the Baikal Lake. The bacteria were identified with molecular methods. Analysis of strain genes of secondary metabolites such as polyketide synthases (PKS) and non-ribosomal peptide synthases (NRPS) was carried out with PCR-screening using degenerated primers.

**Key words:** sponges, *Lubomirskia baicalensis*, strains of microorganisms, genes of bioactive metabolite synthesis, PCR-screening