

Исследование потенциальных белков адсорбционного аппарата бактериофага phi24B

Научный руководитель – Летаров Андрей Викторович

Кузнецов Александр Сергеевич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия
E-mail: alexbluesking@gmail.com

Бактериофаги - одна из наиболее многочисленных и разнообразных групп вирусов. Способность бактериофагов к лизогении — такому варианту жизненного цикла, при котором происходит сохранение и репликация генетического материала в виде профага без лизиса клеток и размножения вируса — позволяет инфицированным лизогенным клеткам приобретать новые признаки вследствие экспрессии генов бактериофага.

Бактериофаг 24B - умеренный (то есть способный к лизогенному циклу) фаг, представитель семейства Podoviridae (фаги с коротким несократимым хвостом). Этот фаг может эффективно лизогенизировать разные штаммы *Escherichia coli*. Геном его естественного изолята содержит ген шигаподобного токсина, что делает лизогенов по этому фагу патогенами, которые могут наносить серьезный ущерб крупному рогатому скоту [1].

Известно, что 24B распознает экспонированный на поверхности клетки белок BamA. Предполагается наличие как минимум двух фаговых структурных белков, обеспечивающих адсорбцию данного бактериофага на поверхности клетки — gp56 и gp61.

Мы получили эти белки в рекомбинантном виде, включив соответствующие гены в вектор pGEX4T3 и создав таким образом экспрессионные конструкции. Для получения клеток, экспрессирующих р56, лигазная смесь была трансформирована в штамм *E. coli* MC1061 BamAΔ, имеющий функциональный, но не узнаваемый фагом 24B белок BamA. Трансформация обычного штамма для клонирования, имеющего BamA дикого типа, не дала клонов, экспрессирующих gp56, что может говорить о токсичности продукта экспрессии, а следовательно и о том, что именно gp56 осуществляет связывание с конечным рецептором, а не gp61, как предполагалось ранее [2].

Также была верифицирована гипотеза о возможном программируемом сдвиге рамки считывания в области гена 61, что может привести к образованию двух форм белка: классический gp61 и альтернативный gp61, с ковалентно связанным участком, соответствующим продукту гена 59 (р61-59). Трансформация, экспрессия, выделение, очистка и анализ белкового продукта методами вертикального электрофореза в ПААГ и масс-спектропии показали наличие двух форм белка, отличающихся по молекулярной массе и составу.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о том, что р56 взаимодействует с конечным рецептором, белком BamA, в то время, как р61, возможно, распознает первичный рецептор (вероятно, O-антиген), а также подтверждают наличие программируемого сдвига рамки считывания при синтезе белка р61.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 15-15-00134П.

Источники и литература

- 1) Geue L, Menge C, Eichhorn I, Semmler T, Wieler LH, Pickard D, Berens C, Barth SA. Evidence for Contemporary Switching of the O-Antigen Gene Cluster between Shiga

Toxin-Producing Escherichia coli Strains Colonizing Cattle. *Front – Microbiol.* 2017 Mar 21;8:424.

- 2) 2. Smith DL, James CE, Sergeant MJ, Yaxian Y, Saunders JR, McCarthy AJ, Allison HE. Short-tailed stx phages exploit the conserved YaeT protein to disseminate Shiga toxin genes among enterobacteria. – *J Bacteriol.* 2007 Oct;189(20):7223-33.