

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-216

**БАКТЕРИОФАГ *ACINETOBACTER BAUMANNII ACIB_323*:
ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ГЕНОМА, ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ,
КЛОНИРОВАНИЕ И ОЦЕНКА ЕГО ДЕПОЛИМЕРАЗЫ***

**BACTERIOPHAGE *ACINETOBACTER BAUMANNII ACIB_323*:
GENOME CHARACTERIZATION, LYtic PROPERTIES,
CLONING AND EVALUATION IT'S DEPOLYMERASE¹**

А. Л. Пономарёв^{1,2}, Ю. Н. Козлова¹, И. К. Байков¹, А. В. Бардашева¹, И. В. Бабкин¹, Н. В. Тикунова¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

²Новосибирский государственный университет

A. L. Ponomarev^{1,2}, Y. N. Kozlova¹, I. K. Baykov¹, A. V. Bardasheva¹, I. V. Babkin¹, N. V. Tikunova¹

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

²Novosibirsk State University

✉ sasha.ponomaryovv@mail.ru

Аннотация

Выделен и охарактеризован фаг AcIB_323, описаны его антибактериальные свойства, проведен анализ генома. Фаг AcIB_323 обладает узким спектром хозяев, высокой липтической активностью, не имеет генов лизогении, относится к роду *Obolenskvirus* и имеет миовирусный морфотип. Создан штамм-продуцент деполимеразы фага AcIB_323 и исследована активность этого фермента.

Abstract

Phage AcIB_323 was isolated and characterized, its antibacterial properties were described, and its genome was analyzed. Phage AcIB_323 has a narrow host range, strong lytic characteristics, no lysogeny genes, belongs to the *Obolenskvirus* genus, and has a myovirus morphotype. A strain producing depolymerase of phage AcIB_323 was created and the activity of this enzyme was studied.

Acinetobacter baumannii является нозокомиальным агентом, широкое распространение которого в совокупности с быстро распространяющейся антибиотикорезистентностью (в ряде регионов до 80 % штаммов обладают MDR фенотипом) делают *A. baumannii* одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человека. В связи с этим применение бактериофагов и их липтических ферментов является перспективным вариантом борьбы с этим видом бактерий. В фаговой терапии в основном используются липтические фаги и их липтические ферменты для уничтожения соответствующих бактерий-хозяев, при этом клетки человека остаются нетронутыми, и снижается воздействие на симбионтные бактерии, что часто является результатом применения антибиотиков.

Целью работы являлось исследование антибактериальных свойств, изучение генома, проведение сравнительного анализа генома, а также получение и исследование свойств деполимеразы фага AcIB_323, специфичного к *A. baumannii*.

Фаг AcIB_323 выделен из сточных вод и способен заражать 5 штаммов *A. baumannii* из 45 протестированных. Фаг образует на чувствительных культурах прозрачные бляшки, окруженные гало, что указывает на наличие у фага белка с деполимеразной активностью. Фаг AcIB_323 сорбируется на поверхности клеточной стенки хозяйского штамма с коэффициентом сорбции $\sim 2,4 \times 10^{-9}$, что свидетельствует о наличии сотен бактериальных рецепторов, с которыми способен связываться фаг. Латентный период фага занимает 10 мин, один цикл размножения — 25 мин; размер фагового потомства составляет в среднем ~ 260 вирусных частиц. Фаг AcIB_323 проявил высокую липтическую активность, снижая концентрацию бактериальных клеток на 5 порядков за один час. Электронные микрофотографии фага показали наличие у него длинного сократимого хвоста, что позволяет отнести его к фагам с миовирусным морфотипом; форма головки фага округлая, имеет размер ~ 63 нм в диаметре, длина хвоста составляет ~ 94 нм.

Длина генома фага AcIB_323 составила 46 462 п. н., в геноме обнаружено 90 открытых рамок считывания, и для 58 из них удалось выяснить функцию. Геном фага AcIB_323 содержит два кластера генов: кластер генов,

* Исследование выполнено в рамках государственного задания Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (№ 125012300671-8).

кодирующих структурные белки и белки сборки капсида, и кластер генов, кодирующих белки репликации. В геноме обнаружены гены, кодирующие эндолизин и холин, а также белок иммунитета к суперинфекции. У фага обнаружены гены, кодирующие хвостовой белок-рулетку (*tail tape measure protein*) и белок хвостового чехла (*tail sheath protein*), что подтверждает его миовирусный морфотип. По результатам сравнительного анализа генома было выяснено, что фаг AciB_323 принадлежит к роду *Obolenskvirus*.

Биоинформационический анализ показал, что белок хвостовых шипов (*tail spike protein* — TSP) обладает деполимеразной активностью. Ген *tsp* был клонирован; белок TSP был наработан, выделен и очищен. Выход белка составил 27 мг/л культуры. Продемонстрирована способность деполимеразы AciB_323 разрушать капсулу *A. baumannii*. Минимальная концентрация, при которой белок проявлял активность, составила 0,86 мкг/мл. Была оценена способность фага AciB_323 и его деполимеразы подавлять рост плактонной культуры и биопленок *A. baumannii*.