

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 DEPOLYMERASE<sup>1</sup>**

А. Л. Пономарёв<sup>1,2</sup>, Ю. Н. Козлова<sup>1</sup>, И. К. Байков<sup>1</sup>, А. В. Бардашева<sup>1</sup>, И. В. Бабкин<sup>1</sup>, Н. В. Тикунова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет

A. L. Ponomarev<sup>1,2</sup>, Y. N. Kozlova<sup>1</sup>, I. K. Baykov<sup>1</sup>, A. V. Bardasheva<sup>1</sup>, I. V. Babkin<sup>1</sup>, N. V. Tikunova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

<sup>2</sup>Novosibirsk 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 литической активностью, не имеет генов лизогении, относится к роду *Obolenskivirus* 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 *Obolenskivirus* 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 литических ферментов является перспективным вариантом борьбы с этим видом бактерий. В фаговой терапии в основном используются литические фаги и их литические 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  $\sim 260$  вирусных частиц. Фаг AciB\_323 проявил высокую литическую 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  $\sim 63$  нм в диаметре, длина хвоста составляет  $\sim 94$  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 *Obolenskivirus*.

Биоинформатический 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*.