

**Особенности получения концентрированных и очищенных препаратов
бактериофага ϕ 24В**

Научный руководитель – Летаров Андрей Викторович

Кузнецов Александр Сергеевич

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

E-mail: alexbluesking@gmail.com

Бактериофаги, или вирусы бактерий, имеют несколько вариантов жизненного цикла, включая лизогенную конверсию, в результате которой клетка-хозяин может приобретать новые фенотипические свойства. В геноме распространённого умеренного *stx*-конвертирующего бактериофага ϕ 24В присутствует ген шигаподобного токсина, который может экспрессироваться в лизогенных по данному фагу клетках *Escherichia coli*.

Ключевым событием для лизогенизации оказывается адсорбция вирусной частицы на поверхности клетки-хозяина. Известные естественные лизогены по ϕ 24В представлены штаммами *E. coli* серотипа O157. В условиях *in vitro* этот бактериофаг способен лизогенизировать широкий спектр штаммов, поражая при этом преимущественно штаммы с нарушенным синтезом О-антигена (rough-штаммы или rough-мутанты). Несмотря на важную роль *stx*-конвертирующих бактериофагов в экологии симбиотической микробиоты человека и животных, молекулярные механизмы его адсорбции пока неясны. Помочь в изучении этой проблемы может криоэлектронная реконструкция вирусной частицы, в частности, адсорбционного аппарата фага.

Для получения изображений методом криоэлектронной микроскопии с последующей обработкой и созданием 3D-структуры вириона необходимо иметь концентрированный препарат бактериофага, очищенный до получения гомогенных по морфологии частиц. Наши ранние работы по получению такого препарата позволили получить информацию о методических особенностях работы с ϕ 24В.

Мы получили фаговые лизаты путем индукции профага из rough-лизогенов митомцином С, при этом наиболее высокий титр вируса наблюдался в результате индукции в условиях низкой аэрации. Далее препараты концентрировали методом ультрацентрифугирования, после чего проводили очистку центрифугированием в градиенте плотности CsCl и градиенте вязкости сахарозы. При изучении электронных микрофотографий мы обнаружили, что фаговые частицы устойчиво соочищаются с бактериальными жгутиками.

Аналогичным образом мы приготовили препараты из фаголизата ранее выделенного нами штамма 4s, не имеющего жгутиков [1], после чего получили изображения методом криоэлектронной микроскопии. Концентрации вирионов оказалось недостаточно для построения криоэлектронной реконструкции. Это, предположительно, связано с адсорбцией фаговых частиц на дебрисе лизированных клеток. Такое явление может быть обусловлено отсутствием в использованном нами штамме О-антигена, который способен экранировать конечный рецептор бактериофага [2].

В ходе данной работы нами были получены изображения вирионов ϕ 24В, с большим разрешением описана морфология частиц. Также полученные в ходе приготовления препаратов данные позволили лучше понять взаимодействие бактериофага ϕ 24В с клеткой-хозяином, а также предположить и разработать способы преодоления адсорбционной инактивации бактериофага на дебрисе лизированных клеток.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, грант № 15-15-00134П.

Источники и литература

- 1) 1. Knirel Y. A. et al. Variations in O-antigen biosynthesis and O-acetylation associated with altered phage sensitivity in Escherichia coli 4s //Journal of bacteriology. – 2015. – Т. 197. – №. 5. – С. 905-912.
- 2) 2. Kulikov E.E. et al. High-throughput LPS profiling as a tool for revealing of bacteriophage infection strategies. //Scientific Reports. – 2019. – Т. 9. – №. 1. – 2958.