

**ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИОФАГА YE3-F2, СПЕЦИФИЧНОГО
ДЛЯ БАКТЕРИЙ YERSINIA ENTEROCOLITICA**

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Мастиленко Андрей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Сутьдина Екатерина Владимировна, ассистент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; 8(8422)55-95-47

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: бактериофаг, *Yersinia enterocolitica*, белок, состав, протеом, молекулярная масса, изоэлектрическая точка, система

В статье представлены результаты анализа протеома бактериофага Ye3-f2, специфичного для бактерий *Yersinia enterocolitica* (изучение количественного состава, изоэлектрической точки белков, молекулярного веса), выделенного из объектов внешней среды, который в перспективе войдет в состав фазового биопрепарата, используемого для терапии энтеробактериальных инфекций в ветеринарной медицине. В исследованиях были использованы ресурсы систем SnapGene Viewer v.4.1.7, ExPasy (<https://web.expasy.org/>), BASys (Bacterial Annotation System; <https://www.basys.ca>). Исследования проводились, опираясь на данные секвенсирования иерсиниозного фага Ye3-f2 в приложении BASys (Bacterial Annotation System) - был выявлен 41 белок с молекулярными массами от 4,1 до 143 кДа. При анализе соответствия протеомного состава *Yersinia enterocolitica* Ye3-f2, количества белков и распределения их по молекулярным массам в биоинформационных приложениях SnapGene Viewer 4.1.9 и BASys version 1.0 выявлена их идентичность. Данные анализа протеома бактериофага *Yersinia enterocolitica* Ye3-f2 являются составляющей частью классификационной базы кандидатных бактериофагов, составляемой на основе критериев биологических характеристик, особенностей взаимодействия фаг-хозяин, особенностей генетической организации и характеристик протеома.

Исследования проводятся при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект «Геномика и биология кандидатных бактериофагов для терапии энтеробактериальных инфекций в ветеринарной медицине» №16-44-732038.

Введение

Геномика бактериофагов служит практически неисчерпаемым резервуаром информации для изучения эволюции, генетической изменчивости и популяционной динамики как собственно фагов, так и прокариотических организмов-хозяев. Существует общемировая тенденция подробного изучения молекулярных взаимодействий и регуляции процессов в геномах и протеомах высших организмов (в особенности человека) и сим-

биотических популяций («постгеномика»). В этом контексте бактериофаги со сравнительно несложно организованным генетическим аппаратом становятся удобным модельным объектом для выявления закономерностей строения генома, переноса генетического материала, регулирования транскрипции генов, пост-трансляционной модификации белков, их укладки в биологически активную третичную структуру (фолдинга), формирования многобелковых комплексов и

Таблица 2

Протеомный состав бактериофага Ye3-f2, активного в отношении бактерий *Yersinia* (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

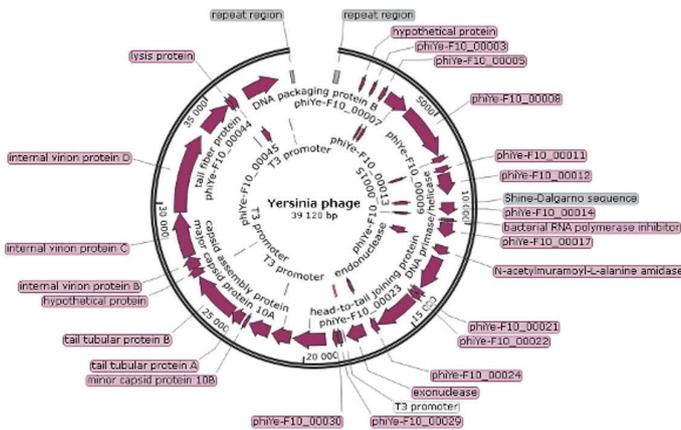


Рис. 1 - Карта линейной ДНК бактериофага *Yersinia* phage Ye3-f2 с расшифровкой кодирующих областей (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

Таблица 1

Локализация белков в геноме *Yersinia* phage Ye3-f2 (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

Feature	Location	Size	Type
✓ repeat region	1 .. 235	235 bp	repeat_region
✓ hypothetical protein-1	993 .. 1358	366 bp	CDS
✓ hypothetical protein-2	1358 .. 1507	150 bp	CDS
✓ hypothetical protein-3	1935 .. 2087	153 bp	CDS
✓ hypothetical protein-4	2358 .. 2474	117 bp	CDS
✓ hypothetical protein-5	2471 .. 2668	198 bp	CDS
✓ hypothetical protein-6	2655 .. 2825	171 bp	CDS
✓ hypothetical protein-7	2840 .. 3949	1110 bp	CDS
✓ hypothetical protein-8	4020 .. 6674	2655 bp	CDS
✓ hypothetical protein-9	6761 .. 7033	273 bp	CDS
✓ hypothetical protein-10	7126 .. 7266	141 bp	CDS
✓ hypothetical protein-11	7266 .. 7541	276 bp	CDS
✓ hypothetical protein-12	7621 .. 8652	1032 bp	CDS
✓ hypothetical protein-13	8825 .. 9082	258 bp	CDS
✓ hypothetical protein-14	9082 .. 9654	573 bp	CDS
✓ hypothetical protein-15	9641 .. 9778	138 bp	CDS
✓ bacterial RNA polymerase inhi...	9850 .. 10 011	162 bp	CDS
✓ hypothetical protein-16	10 064 .. 10 762	699 bp	CDS
✓ endonuclease	10 762 .. 11 223	462 bp	CDS endonuclease
✓ N-acetylmuramoyl-L-alanine...	11 216 .. 11 671	456 bp	CDS
✓ DNA primase/helicase	11 852 .. 13 552	1701 bp	CDS
✓ hypothetical protein-17	13 651 .. 13 863	213 bp	CDS
✓ hypothetical protein-18	13 876 .. 14 160	285 bp	CDS
✓ hypothetical protein-19	14 228 .. 16 342	2115 bp	CDS
✓ hypothetical protein-20	16 359 .. 16 658	300 bp	CDS
✓ hypothetical protein-21	16 658 .. 16 867	210 bp	CDS
✓ hypothetical protein-22	16 864 .. 17 046	183 bp	CDS
✓ exonuclease	17 043 .. 17 957	915 bp	CDS exonuclease
✓ hypothetical protein-23	17 936 .. 18 049	114 bp	CDS
✓ hypothetical protein-24	18 194 .. 18 388	195 bp	CDS
✓ hypothetical protein-25	18 393 .. 18 644	252 bp	CDS
✓ host specificity protein B	18 672 .. 18 992	321 bp	CDS
✓ head-to-tail joining protein	19 003 .. 20 610	1608 bp	CDS
✓ capsid assembly protein	20 712 .. 21 644	933 bp	CDS
✓ major capsid protein A	21 801 .. 22 844	1044 bp	CDS
✓ minor capsid protein B	22 952 .. 23 116	165 bp	CDS
✓ tail tubular protein A	23 228 .. 23 818	591 bp	CDS
✓ tail tubular protein B	23 834 .. 26 239	2406 bp	CDS
✓ hypothetical protein-26	26 312 .. 26 722	411 bp	CDS
✓ internal virion protein B	26 725 .. 27 318	594 bp	CDS
✓ internal virion protein C	27 354 .. 29 564	2211 bp	CDS
✓ internal virion protein D	29 583 .. 33 545	3963 bp	CDS
✓ tail fiber protein	33 911 .. 35 560	1650 bp	CDS tail fiber protein
✓ lysis protein	35 572 .. 35 775	204 bp	CDS lysis protein
✓ hypothetical protein-27	35 779 .. 36 045	267 bp	CDS
✓ hypothetical protein-28	36 188 .. 36 586	399 bp	CDS
✓ DNA packaging protein	36 561 .. 38 324	1764 bp	CDS

Наименование	Мол. масса, Да	pI
bacterial RNA polymerase inhibitor	6094	4,6
capsid assembly protein	33769	4,29
DNA packaging protein	66672	5,32
DNA primase/helicase	62837	5,05
Endonuclease	17640	9,48
Exonuclease	34816	4,88
head-to-tail joining protein	58649	4,54
host specificity protein B	10988	9,78
hypothetical protein-1	13957	3,74
hypothetical protein-10	5832	10,58
hypothetical protein-11	10513	7,94
hypothetical protein-12	39034	5,22
hypothetical protein-13	9894	11,2
hypothetical protein-14	21309	8,95
hypothetical protein-15	5268	5,14
hypothetical protein-16	25980	4,78
hypothetical protein-17	7732	10
hypothetical protein-18	10749	9,89
hypothetical protein-19	79847	6,42
hypothetical protein-2	5603	4,43
hypothetical protein-20	11167	7,76
hypothetical protein-21	7260	9,81
hypothetical protein-22	6826	3,91
hypothetical protein-23	4195	9,52
hypothetical protein-24	7458	6,57
hypothetical protein-25	8879	9,13
hypothetical protein-26	15848	5,33
hypothetical protein-27	9888	4,7
hypothetical protein-28	14936	8,82
hypothetical protein-3	5877	9,51
hypothetical protein-4	4333	4,65
hypothetical protein-5	7680	10,5
hypothetical protein-6	6547	11,4
hypothetical protein-7	42515	8,06
hypothetical protein-8	98788	7,09
hypothetical protein-9	10343	9,48
internal virion protein B	21220	9,38
internal virion protein C	84071	5,53
internal virion protein D	143612	8,41
lysis protein	7407	6,08
major capsid protein A	36866	6,26
minor capsid protein B	5211	4,78
N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	16944	8,79
tail fiber protein	58514	5,92
tail tubular protein A	22234	4,48
tail tubular protein B	89821	6,11

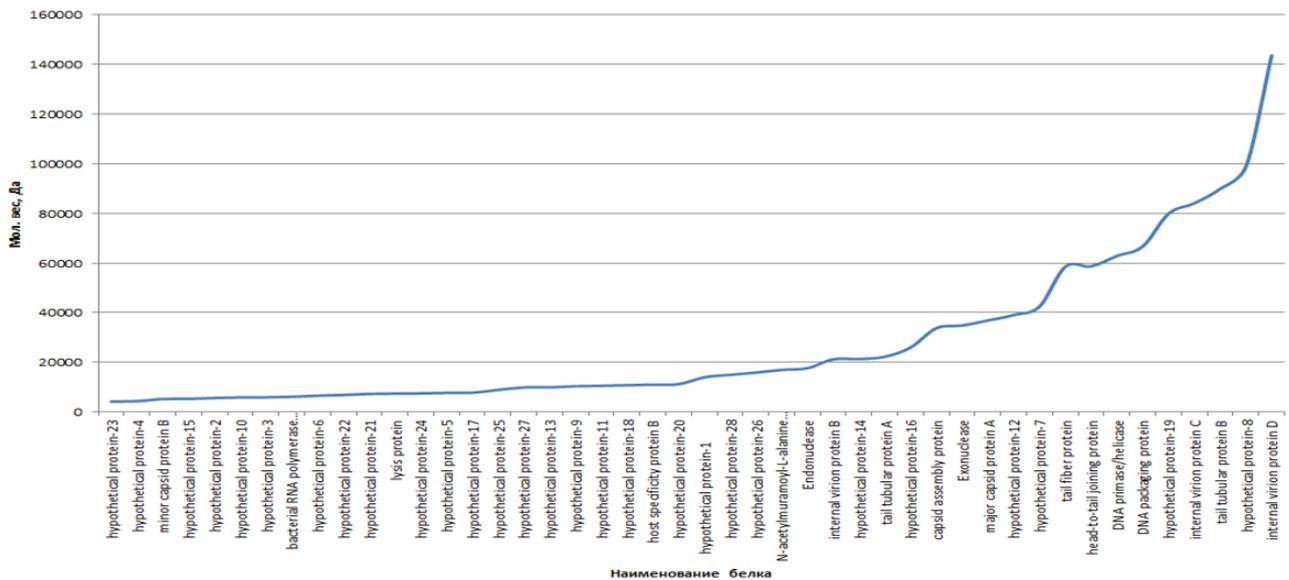


Рис. 2 - График распределения белкового состава Yersinia phage Ye3-f2 по молекулярной массе (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

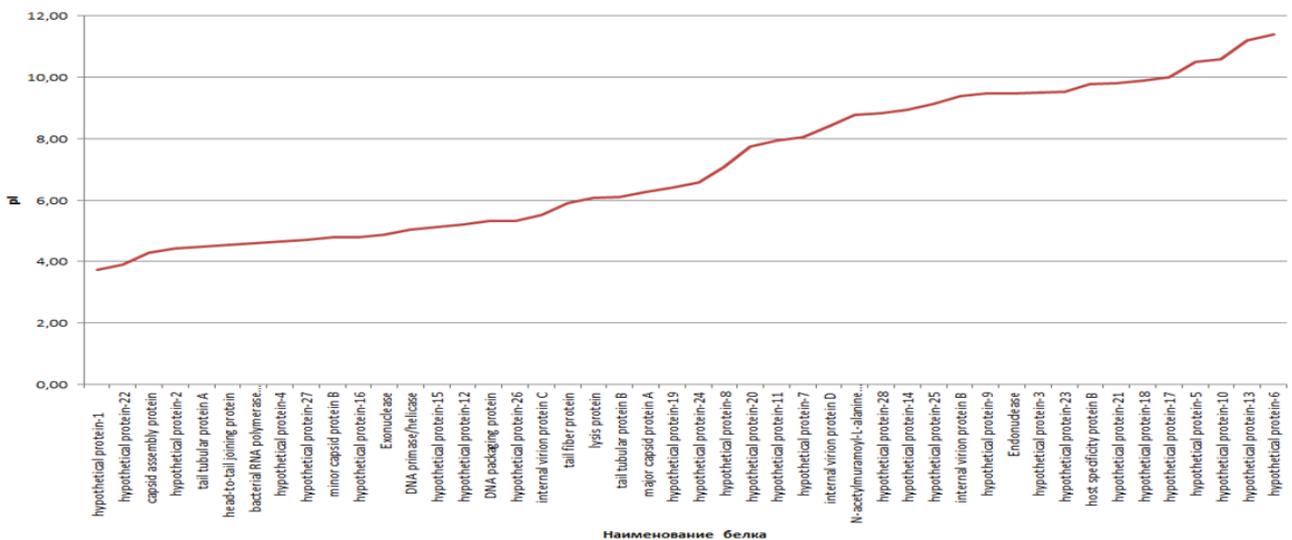


Рис. 3 - График распределения белкового состава Yersinia phage Ye3-f2 по изоэлектрической точке (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

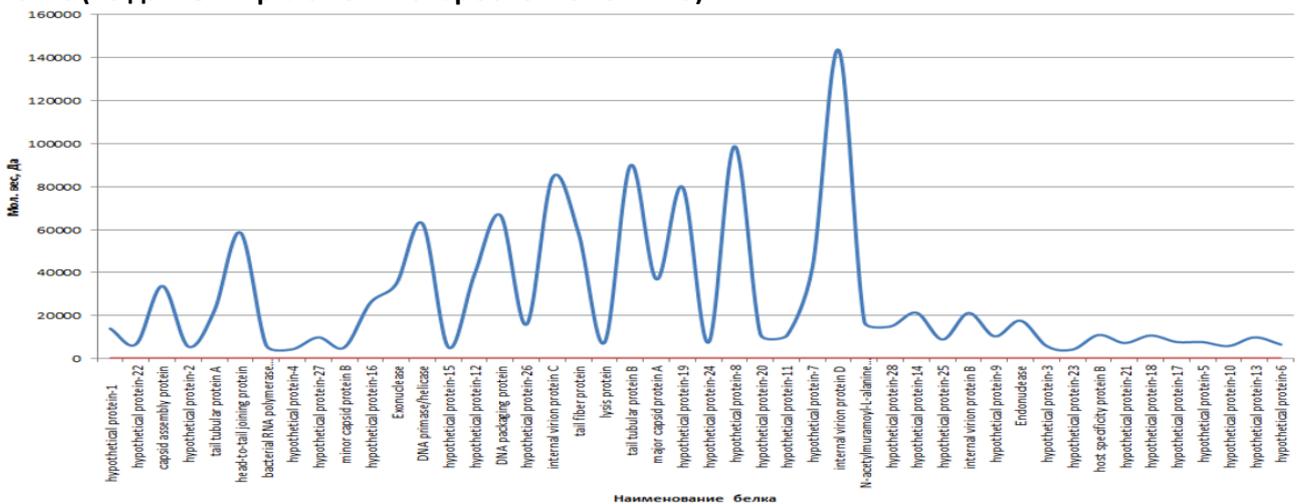


Рис. 4 - График распределения белкового состава Yersinia phage Ye3-f2 по молекулярной массе в зависимости от pI (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

множества других аспектов современной биохимии [1].

По литературным данным, за последние десятилетия наблюдается стремительный рост количества и разнообразия штаммов бактерий, которые устойчивы к низкомолекулярным антибиотикам, что стимулировало учеными поиск альтернативных методов лечения и профилактики бактериальных инфекций [2-4]. Для эффективного применения бактериофагов в ветеринарии и сельском хозяйстве требуется глубокое их изучение и систематизация на геномном уровне, а также высокая степень очистки применяемых фаговых препаратов [5-12].

Цель работы – проведение протеомного анализа бактериофага Ye3-f2, специфичного для бактерий *Yersinia enterocolitica* (изучить аминокислотный состав протеинов, их качественный и количественный анализ, установить изоэлектрическую точку белков и их молекулярный вес).

Объекты и методы исследований

Объект исследований - вирулентный бактериофаг Ye3-f2, характеризующийся следующими свойствами: бляшкообразующие единицы - прозрачные, без зоны неполного лизиса, $1,0 \pm 1,5$ см; литическая активность - титр по Грация - $1,5 \pm 0,1 \times 10^{10}$ БОЕ/мл, титр по Аппельману - 10^6 ; специфичен для культур, идентифицированных как *Yersinia enterocolitica*; культивирование при температуре 58°C в 30 минут приводит к инаktivации [13].

Бактериофаг Ye3-f2 концентрировали ультрафильтрацией с применением одноразовых ультрафильтров с пределом исключения 10 кДа, Merck (Millipore) [14]. Нуклеотидные последовательности исследуемого фага Ye3-f2, специфичного для бактерий *Yersinia enterocolitica*, изучали методом полупроводникового секвенирования на платформе IonTorrent (Thermo Fisher Scientific, США), используя набора реагентов Ion PI Sequencing 200 Kit v3 на чипе Ion PI ChipKit v2 секвенатора IonProton (ThermoFisherScientific, США) согласно протоколу производителя. Оценка распределения длин фрагментов библиотек и их концентрация осуществлялась нами с применением прибора Bioanalyzer 2100 и набора реагентов Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent

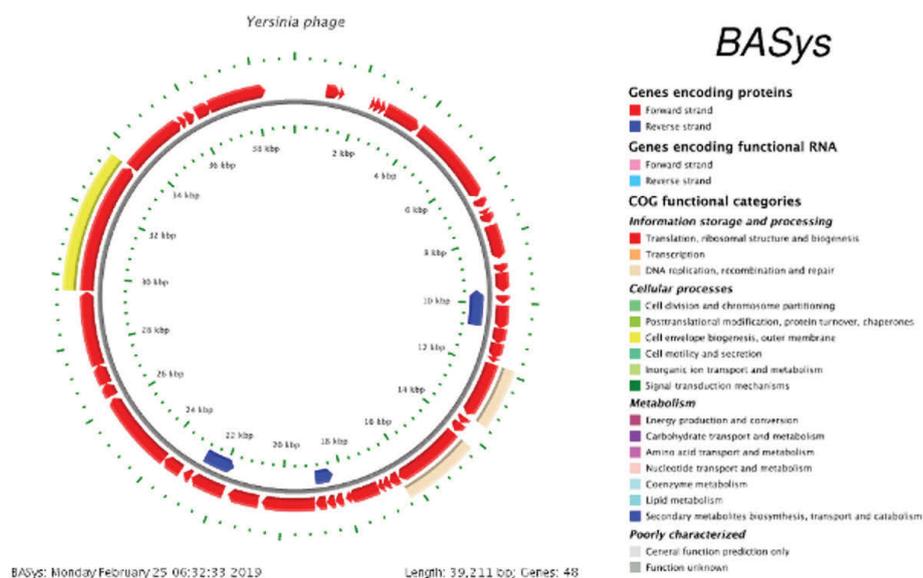


Рис. 5 - Карта линейной ДНК бактериофага *Yersinia phage Ye3-f2* с расшифровкой кодирующих областей генома (по данным приложения BASys version 1.0.)

Technologies, США) по протоколу производителя. Клональная амплификация библиотек, которые были предварительно эквимольно пулированы, проводилась нами с использованием набора Ion PI Template OT2 200 Kit v3 (Thermo Fisher Scientific, США) по протоколу производителя. Для сборки фагового генома *de novo* мы применяли риды с качеством прочтения нуклеотидов не ниже Q20 и длиной не менее 50 оснований. Сборку генома проводили с применением программного обеспечения Newbler (Roche/454 GS-FLX) [14]. Для протеомного анализа нами были использованы ресурсы систем SnapGene Viewer v.4.1.7, ExPasy (<https://web.expasy.org>), BASys (Bacterial Annotation System; <https://www.basys.ca>).

Результаты исследований

При анализе протеома бактериофага *Yersinia enterocolitica* Ye3-f2 в приложении SnapGene Viewer 4.1.9 соответственно данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 46 белков с молекулярными массами от 4,1 до 144 кДа. Качественный протеомный состав *Yersinia phage* представлен в таблицах 1 и 2 и рис. 1-4.

При анализе протеома бактериофага *Yersinia Ye3-f2* в приложении BASys (Bacterial Annotation System) соответственно данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 48 белков с молекулярными массами от 4,1 до 143 кДа. Качественный протеомный состав *Yersinia phage* представлен в таблицах 3-4 и рис. 5-7.

При анализе соответствия протеомного состава *Yersinia phage Ye3-f2*, количества белков и распределения их по молекулярным массам

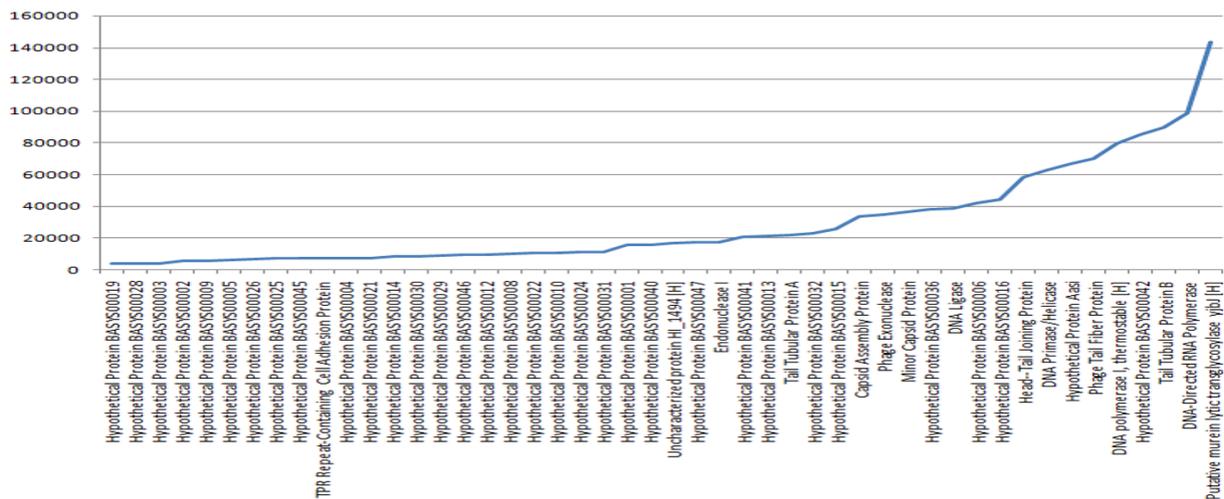


Рис. 6 - График распределения белкового состава *Yersinia phage* Ye3-f2 по молекулярной массе (по данным приложения BASys version 1.0.)

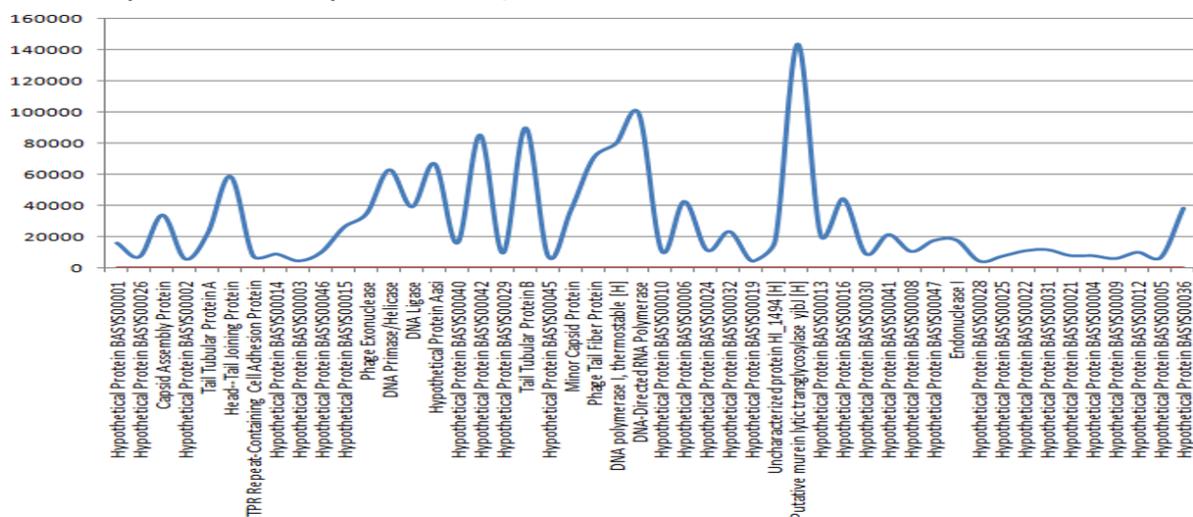


Рис. 7 - График распределения белкового состава *Yersinia phage* Ye3-f2 по молекулярной массе в зависимости от pI (по данным приложения BASys version 1.0.)

Рис. 8 - Сравнительный график распределения белкового состава *Yersinia phage* Ye3-f2 по молекулярной массе по данным приложений SnapGene Viewer 4.1.9 (красный цвет) и BASys version 1.0 (синий цвет)

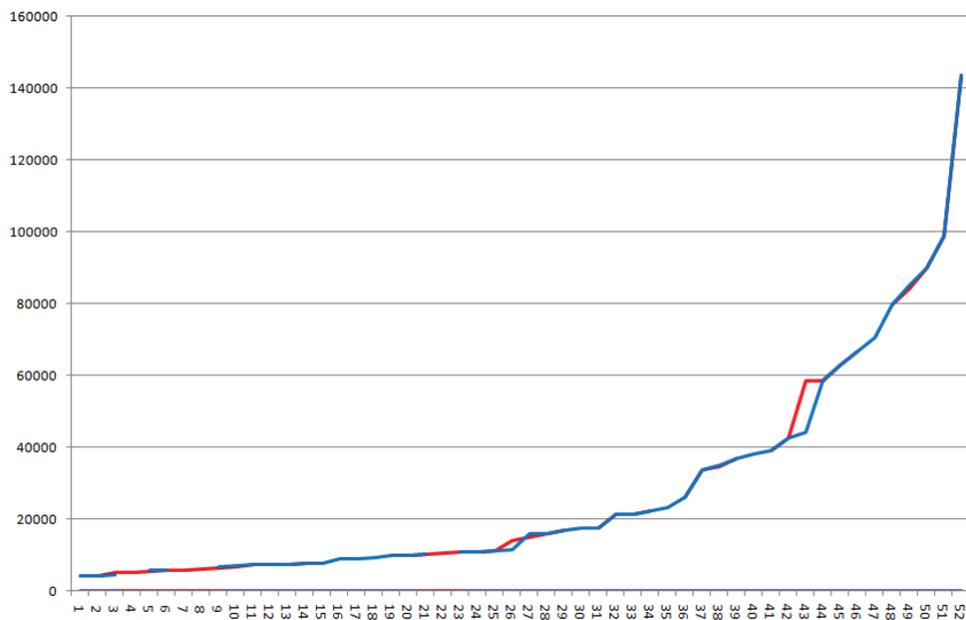


Таблица 3

Локализация белков в геноме *Yersinia* phage Ye3-f2 (по данным приложения BASys version 1.0.)

Protein Function	Start	End	Size, bp	Strand
Hypothetical Protein BASYS00001	945	1358	413	+
Hypothetical Protein BASYS00002	1358	1507	149	+
Hypothetical Protein BASYS00003	2358	2474	116	+
Hypothetical Protein BASYS00004	2471	2668	197	+
Hypothetical Protein BASYS00005	2655	2825	170	+
Hypothetical Protein BASYS00006	2840	3949	1109	+
DNA-Directed RNA Polymerase	4020	6674	2654	+
Hypothetical Protein BASYS00008	6761	7033	272	+
Hypothetical Protein BASYS00009	7126	7266	140	+
Hypothetical Protein BASYS00010	7257	7541	284	+
DNA Ligase	7621	8652	1031	+
Hypothetical Protein BASYS00012	8825	9082	257	+
Hypothetical Protein BASYS00013	9082	9654	572	+
Hypothetical Protein BASYS00014	9775	10011	236	+
Hypothetical Protein BASYS00015	10064	10762	698	+
Hypothetical Protein BASYS00016	10774	9587	1187	-
Endonuclease I	10762	11223	461	+
Uncharacterized protein HI_1494 [H]	11216	11671	455	+
Hypothetical Protein BASYS00019	11676	11783	107	+
DNA Primase/Helicase	11852	13552	1700	+
Hypothetical Protein BASYS00021	13651	13863	212	+
Hypothetical Protein BASYS00022	13876	14160	284	+
DNA polymerase I, thermostable [H]	14228	16342	2114	+
Hypothetical Protein BASYS00024	16359	16658	299	+
Hypothetical Protein BASYS00025	16658	16867	209	+
Hypothetical Protein BASYS00026	16858	17046	188	+
Phage Exonuclease	17043	17957	914	+
Hypothetical Protein BASYS00028	17936	18049	113	+
Hypothetical Protein BASYS00029	18143	18388	245	+
Hypothetical Protein BASYS00030	18393	18644	251	+
Hypothetical Protein BASYS00031	18657	18992	335	+
Hypothetical Protein BASYS00032	18905	18300	605	-
Head-Tail Joining Protein	19003	20610	1607	+
Capsid Assembly Protein	20712	21644	932	+
Minor Capsid Protein	21801	22844	1043	+
Hypothetical Protein BASYS00036	22787	21753	1034	-
TPR Repeat-Containing Cell Adhesion Protein	22883	23116	233	+
Tail Tubular Protein A	23228	23818	590	+
Tail Tubular Protein B	23834	26239	2405	+
Hypothetical Protein BASYS00040	26312	26722	410	+
Hypothetical Protein BASYS00041	26725	27318	593	+
Hypothetical Protein BASYS00042	27321	29564	2243	+
Putative murein lytic transglycosylase yjbj [H]	29583	33545	3962	+
Phage Tail Fiber Protein	33593	35560	1967	+
Hypothetical Protein BASYS00045	35572	35775	203	+
Hypothetical Protein BASYS00046	35779	36045	266	+
Hypothetical Protein BASYS00047	36119	36586	467	+
Hypothetical Protein Aasi	36561	38324	1763	+

в биоинформационных приложениях SnapGene Viewer 4.1.9 и BASys version 1.0 выявлена их идентичность (рис. 8).

Выводы

Изучение протеома бактериофага Ye3-f2, специфичного для бактерий *Yersinia*, основанного на данных секвенирования его нуклеиновой кислоты, в приложении SnapGene Viewer 4.1.9 позволило выявить 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 139 кДа. Несколько иные данные были получены нами при работе с данными секвенирования иерсиниозного фага Ye3-f2 в приложении BASys (Bacterial Annotation System) - был выявлен 41 белок с молекулярными массами от

Таблица 4

Протеомный состав бактериофага Ye3-f2, активного в отношении *Yersinia* (по данным приложения BASys version 1.0.)

Protein Function	Molecular Weight [Daltons]	pI
Hypothetical Protein BASYS00001	15790	3,55
Hypothetical Protein BASYS00002	5603	4,19
Hypothetical Protein BASYS00003	4333	4,42
Hypothetical Protein BASYS00004	7680	11,05
Hypothetical Protein BASYS00005	6547	11,94
Hypothetical Protein BASYS00006	42516	8,04
DNA-Directed RNA Polymerase	98789	7,51
Hypothetical Protein BASYS00008	10343	9,9
Hypothetical Protein BASYS00009	5833	11,31
Hypothetical Protein BASYS00010	10886	7,73
DNA Ligase	39035	4,99
Hypothetical Protein BASYS00012	9894	11,75
Hypothetical Protein BASYS00013	21309	8,96
Hypothetical Protein BASYS00014	8817	4,39
Hypothetical Protein BASYS00015	25980	4,51
Hypothetical Protein BASYS00016	44305	9,48
Endonuclease I	17641	10,05
Uncharacterized protein HI_1494 [H]	16944	8,86
Hypothetical Protein BASYS00019	4160	8,68
DNA Primase/Helicase	62837	4,81
Hypothetical Protein BASYS00021	7732	10,75
Hypothetical Protein BASYS00022	10750	10,61
DNA polymerase I, thermostable [H]	79848	6,87
Hypothetical Protein BASYS00024	11167	8,22
Hypothetical Protein BASYS00025	7260	10,25
Hypothetical Protein BASYS00026	7113	3,83
Phage Exonuclease	34816	4,63
Hypothetical Protein BASYS00028	4195	10,11
Hypothetical Protein BASYS00029	9368	6,24
Hypothetical Protein BASYS00030	8879	9,8
Hypothetical Protein BASYS00031	11560	10,68
Hypothetical Protein BASYS00032	23152	8,61
Head-Tail Joining Protein	58650	4,27
Capsid Assembly Protein	33769	4,01
Minor Capsid Protein	36866	6,73
Hypothetical Protein BASYS00036	38163	12
TPR Repeat-Containing Cell Adhesion Protein	7424	4,33
Tail Tubular Protein A	22234	4,21
Tail Tubular Protein B	89821	6,53
Hypothetical Protein BASYS00040	15848	5,2
Hypothetical Protein BASYS00041	21220	9,86
Hypothetical Protein BASYS00042	85188	5,42
Putative murein lytic transglycosylase yjbj [H]	143614	8,92
Phage Tail Fiber Protein	70515	6,75
Hypothetical Protein BASYS00045	7407	6,67
Hypothetical Protein BASYS00046	9888	4,45
Hypothetical Protein BASYS00047	17423	9,98
Hypothetical Protein Aasi	66673	5,17

4,1 до 143 кДа.

При анализе соответствия протеомного состава *Yersinia* phage Ye3-f2, количества белков и распределения их по молекулярным массам в биоинформационных приложениях SnapGene Viewer 4.1.9 и BASys version 1.0 выявлена их идентичность. Гистограмма распределения белкового состава *Yersinia* Ye3-f2 по изоэлектрической точке (pI) дает информацию о кислотности среды (pH), при которой белок не несёт электрического заряда. Данные о протеоме бактериофага *Yersinia* Ye3-f2 дополняют информацию, которая необходима для создания классификационной базы бактериофагов, изучаемых по проекту, на основе

критериев биологических характеристик, особенностей взаимодействия фаг-хозяин, особенностей генетической организации и характеристик протеома.

Библиографический список

1. Мирошников, Константин Анатольевич. Геномика и протеомика литических бактериофагов *Pseudomonas aeruginosa*: автореф. дис. ... д-ра химических наук: 03.01.04, 03.01.06 / К.А. Мирошников. – М., 2013. – 52 с.
2. Колосова, Н.Г. Подходы к терапии бактериальных инфекций дыхательных путей с учетом современных данных о микробиоме / Н.Г. Колосова, Н.А. Геппе, И.А. Дронов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2019. - № 1(64). – С. 125-129.
3. Variability in antibiotic prescribing for community-acquired pneumonia / L.K. Handy, M. Bryan, J.S. Gerber [et al.] // Pediatrics. – 2017. – Vol. 4, № 139. - P. 2016-2331.
4. Prevalence and determinants of antibiotic exposure in infants: A population-derived Australian birth cohort study / H. Anderson, P. Vuillermin, K. Jachno [et al.] // J. Paediatr Child Health. – 2017. – Vol. 53, № 10. – P. 942-949.
5. Gill, J.J. Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy / J.J. Gill, P. Hyman // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2010. – Vol. 11. - P. 2-14.
6. Aleshkin, A.V. Bacteriophages in therapy and prevention of acute intestinal infections in children / A.V. Aleshkin, M.V. Zeigarnik, S.S. Bochkareva // Вопросы практической педиатрии. - 2016. - Том 11, № 1. - С. 52-56.
7. Вакарина, А.А. Бактериофаги. Современные аспекты их применения / А.А. Вакарина, Л.В. Катаева // Важнейшие вопросы инфекционных и паразитарных болезней: сборник научных работ. - Ижевск, 2016. - С. 28-35.
8. Conrotto, P. Proteomic approaches in biological and medical sciences: principles and applications / P. Conrotto, S. Souchelnytskyi // Exp. Oncol. - 2008. - Vol. 30, № 3. - P. 171–180.
9. Молекулярно-биологические и генетические принципы селекции терапевтических бактериофагов бактерий родов *Pseudomonas* и *Staphylococcus* / К.А. Мирошников, Е.Е. Куликов, О.С. Дарбеева, К.А. Лыско, Г.М. Игнатъев // Прикладная биохимия и микробиология. - 2014. - Том 50, № 3. - С. 338.
10. Генетическая характеристика и спектр антибактериальной активности бактериофагов, входящих в состав промышленных серий лекарственного препарата пиобактериофаг поливалентный очищенный / Н.В. Тикунова, Н.Н. Ворошилова, О.А. Польша, В.В. Морозова, А.Ю. Тикунов, А.М. Курильщиков, В.В. Власов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2016. - Том 15, № 2 (87). - С. 93-100.
11. Bernhardt, T.G. Genetic evidence that the bacteriophage fX174 lysis protein inhibits cell wall synthesis / T.G. Bernhardt, W.D. Roof, R. Young // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2000. – Vol. 97. – P. 4297-4302.
12. Нифонтова, В.В. Получение бактериофагов и их применение в ветеринарии / В.В. Нифонтова, О.Е. Чугунова // Вестник Пермского научного центра. – 2015. - № 2. — С. 54-59.
13. Геномика и биология кандидатных бактериофагов для терапии энтеробактериальных инфекций в сельскохозяйственной ветеринарии: монография / Д.А. Васильев [и др.]. - Ульяновск: УлГАУ, 2019. - 1294 с.
14. Феоктистова, Н.А. Протеиновые бактериофаги: изучение некоторых биологических свойств / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. - № 4(40). – С. 75-80.

PROTEOMIC ANALYSIS OF YE3-F2 BACTERIOPHAGE, SPECIFIC FOR YERSINIA ENTEROCOLITICA BACTERIA

Vasiliev D.A., Feoktistova N.A., Mastilenko A.V., Suldina E.V.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU
432017, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, 1; 8 (8422) 55-95-47
e-mail: feokna@yandex.ru

Key words: bacteriophage, *Yersinia enterocolitica*, protein, composition, proteome, molecular weight, isoelectric point, system

The article presents results of the analysis of the proteome of Ye3-f2 bacteriophage, specific for bacteria *Yersinia enterocolitica* (study of the quantitative composition, isoelectric point of proteins, molecular weight) isolated from environmental objects, which will eventually be included in the phage biologic preparation used for treatment of enterobacterial infections in veterinary medicine. The resources of SnapGene Viewer v.4.1.7, ExPasy (<https://web.expasy.org>), BASys (Bacterial Annotation System; <https://www.basys.ca>) were used in the studies. Research was conducted based on the data of the Ye3-f2 sequence. Using SnapGene Viewer 4.1.9 application, the bacteriophage Ye3-f2 detected 46 proteins with molecular masses from 4.1 to 144 kDa. A bit different different data was obtained when working with sequencing data of Yersiniosis Ye3-f2 phage in the BASys application (Bacterial Annotation System) - 41 proteins with molecular weights from 4.1 to 143 kDa were detected. When analyzing the conformity of the proteomic composition of *Yersinia enterocolitica* Ye3-f2, the amount of proteins and their distribution by molecular masses in the bio-information applications SnapGene Viewer 4.1.9 and BASys version 1.0, their identity was revealed. The analysis of the proteome of *Yersinia enterocolitica* Ye3-f2 bacteriophage is an integral part of the classification base of candidate bacteriophages, based on the criteria of biological characteristics, features of phage-host interaction, features of the genetic organization and characteristics of the proteome.

Bibliography

1. Miroshnikov, Konstantin Anatolyevich. Genomics and proteomics of the lytic *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages: author's abstract dissertation

of Doctor of Chemical Sciences: 03.01.04, 01.03.06 / K.A. Miroshnikov. - M., 2013. - 52 p.

2. Kolosova, N.G. Approaches to treatment of bacterial infections of the respiratory tract based on current data on the microbiome / N.G. Kolosova, N.A. Geppe, I.A. Dronov // *Russian vestnik of Perinatology and Pediatrics*. - 2019. - № 1 (64). - P. 125-129.

3. Variability in antibiotic prescribing for community-acquired pneumonia / L.K. Handy, M. Bryan, J.S. Gerber [et al.] // *Pediatrics*. - 2017. - Vol. 4, № 139. - P. 2016-2331.

4. Prevalence and determinants of antibiotic exposure in infants: A population-derived Australian birth cohort study / H. Anderson, P. Vuillermin, K. Jachno [et al.] // *J. Paediatr Child Health*. - 2017. - Vol. 53, № 10. - P. 942-949.

5. Gill, J.J. Phage choice, isolation, and preparation for phage therapy / J.J. Gill, P. Hyman // *Curr. Pharm. Biotechnol.* - 2010. - Vol. 11. - P. 2-14.

6. Aleshkin, A.V. Bacteriophages in therapy and prevention of acute intestinal infections in children / A.V. Aleshkin, M.V. Zeigarnik, S.S. Bochkareva // *Practical Pediatrics Issues*. - 2016. - Vol. 11, No. 1. - P. 52-56.

7. Vakarina, A.A. Bacteriophages. Modern aspects of their application / A.A. Vakarina, L.V. Kataeva // *Major issues of infectious and parasitic diseases: Collection of scientific works*. - Izhevsk, 2016. - P. 28-35.

8. Conrotto, P. Proteomic approaches in biological and medical sciences: principles and applications / P. Conrotto, S. Souchelnytskyi // *Exp. Oncol.* - 2008. - Vol. 30, № 3. - P. 171-180.

9. Molecular biological and genetic principles for selection of therapeutic bacteriophages of bacteria of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* genera / K.A. Miroshnikov, E.E. Kulikov, O.S. Darbeeva, K.A. Lysko, G.M. Ignatiev // *Applied biochemistry and microbiology*. - 2014. - Volume 50, No. 3. - P. 338.

10. Genetic characteristics and spectrum of antibacterial activity of bacteriophages that are included in industrial series of the medication, named polybacteriophage polyvalent purified / N.V. Tikunova, N.N. Voroshilova, O.A. Polygach, V.V. Morozova, A.Yu. Tikunov, A.M. Kurilshchikov, V.V. Vlasov // *Epidemiology and vaccine prevention*. - 2016. - Vol. 15, No. 2 (87). - P. 93-100.

11. Bernhardt, T.G. Genetic evidence that the bacteriophage fX174 lysis protein inhibits cell wall synthesis / T.G. Bernhardt, W.D. Roof, R. Young // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 2000. - Vol. 97. - P. 4297-4302.

12. Nifontova, V.V. Obtaining bacteriophages and their use in veterinary medicine / V.V. Nifontova, O.E. Chugunova // *Vestnik of Perm Scientific Center*. - 2015. - № 2. - P. 54-59.

13. Genomics and biology of candidate bacteriophages for treatment of enterobacterial infections in agricultural veterinary medicine: monograph / D.A. Vasiliev [et al.]. - Ulyanovsk: UISAU, 2019. - 1294 p.

14. Feoktistova, N.A. Protein bacteriophages: the study of some biological properties / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin // *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. - 2017. - № 4 (40). - P. 75-80.