

АНАЛИЗ ПРОТЕОМА БАКТЕРИОФАГА, АКТИВНОГО В ОТНОШЕНИИ *ENTEROBACTER*

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

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

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

Сулдына 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: *Enterobacter*, бактериофаг, протеом, состав, белок, изоэлектрическая точка, молекулярная масса, система.

В статье представлены результаты протеомного анализа вирулентного бактериофага *Enterobacter E7* (изучение количественного состава, изоэлектрической точки белков, молекулярного веса), выделенного из объектов внешней среды, который является кандидатным для фагового биопрепарата для терапии энтеробактериальных инфекций в ветеринарной медицине. В экспериментах были использованы ресурсы систем SnapGene Viewer v.4.1.7, ExPasy (<https://web.expasy.org>), BASys (Bacterial Annotation System; <https://www.basys.ca>). В результате проведенных исследований были получены данные протеомного анализа на основании проведенного ранее сиквенса. Установлено, что в приложении SnapGene Viewer 4.1.9 у бактериофага E7 было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 139 кДа. При работе в приложении BASys (Bacterial Annotation System) нами были получены несколько иные результаты - соответственно данных секвенирования нуклеиновой кислоты бактериофага E7 был выявлен 41 белок с молекулярными массами от 4,1 до 143 кДа. При анализе соответствия протеомного состава *Enterobacter phage E7*, 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 о протеоме бактериофага *Enterobacter phage E7* дополняют информацию, необходимую для создания классификационной базы бактериофагов, изучаемых по проекту, 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

В настоящее время основное внимание уделяется фагам бактерий распространенных патогенных энтеробактерий (таких, как *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*), тогда как генетическое разнообразие бактериофагов «редких» родов - *Enterobacter*, *Yersinia* и *Proteus*, приобретающих в последнее время все большее значение для сельскохозяйственной ветеринарии, практически не исследовано, что существенно затрудняет создание современных терапевтических препаратов на их основе [1 - 4].

Благодаря особенностям своей биологии бактериофаги могут являться мощными агентами горизонтального переноса генов от бактерии к бактерии. Бактериофаги, предназначенные для целей фаготерапии и фагопрофилактики инфекционных болезней, должны быть исследованы методами геномики для определения их потенциальной спо-

собности к переносу генов бактерий. Сбор информации об их геномах является приоритетным направлением современной мировой вирусологии. Чем больше появляется подкреплённых биологическими данными сведений о геномике и протеомике известных и новых групп вирусов прокариот, тем лучше бактериофаги могут быть использованы как инструмент [5 - 10].

Цель работы – на анализе данных секвенирования выделенного бактериофага *Enterobacter* провести протеомный анализ (изучить аминокислотный состав протеинов, их качественный и количественный анализ, установить изоэлектрическую точку белков и их молекулярный вес).

Объекты и методы исследований

В исследованиях использовали вирулентный бактериофаг E7, характеризующийся свойствами: бляшкообразующие единицы - прозрачные округлой формы, $3,5 \pm 0,5$ мкм; литическая активность

Локализация белков в геноме *Enterobacter phage E7* (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

Feature	Location	Size			Type
✓ capsid and scaffold protein	795 .. 1727	933 bp	█	←	CDS
✓ collar / head-to-tail joining pr...	1829 .. 3436	1608 bp	█	←	CDS
✓ hypothetical protein-1	3447 .. 3767	321 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-2	3795 .. 4046	252 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-3	4051 .. 4245	195 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-4	4389 .. 4502	114 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ exonuclease	4484 .. 5395	912 bp	█	←	CDS exonuclease
✓ inhibitor of recBCD nuclease	5392 .. 5574	183 bp	█	←	CDS inhibitor of recBCD nuc...
✓ HNS binding protein-1	5571 .. 5780	210 bp	█	←	CDS HNS binding protein
✓ HNS binding protein-2	5777 .. 6079	303 bp	█	←	CDS HNS binding protein
✓ DNA polymerase	6096 .. 8210	2115 bp	█	←	CDS DNA polymerase
✓ hypothetical protein-5	8278 .. 8562	285 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-6	8575 .. 8787	213 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ primase/helicase protein	8886 .. 10 400	1515 bp	█	←	CDS
✓ N-acetylmuramoyl-L-alanine...	10 767 .. 11 222	456 bp	█	←	CDS
✓ endonuclease	11 215 .. 11 676	462 bp	█	←	CDS endonuclease
✓ ssDNA-binding protein	11 676 .. 12 374	699 bp	█	←	CDS ssDNA-binding protein
✓ host RNA polymerase inhibitor	12 427 .. 12 663	237 bp	█	←	CDS
✓ hypothetical protein-7	12 660 .. 12 797	138 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-8	12 784 .. 13 263	480 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-9	13 263 .. 13 520	258 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ DNA ligase	13 690 .. 14 706	1017 bp	█	←	CDS DNA ligase
✓ hypothetical protein-10	14 703 .. 15 119	417 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ dGTP triphosphohydrolase inh...	15 146 .. 15 421	276 bp	█	←	CDS
✓ hypothetical protein-11	15 421 .. 15 561	141 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein-12	15 654 .. 15 926	273 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ DNA-directed RNA polymerase	16 013 .. 18 667	2655 bp	█	←	CDS
✓ hypothetical protein-13	19 940 .. 20 089	150 bp	█	←	CDS hypothetical protein
✓ DNA packaging protein	20 334 .. 22 097	1764 bp	█	←	CDS DNA packaging protein
✓ endopeptidase-2	22 072 .. 22 524	453 bp	█	←	CDS endopeptidase
✓ DNA packaging protein A	22 614 .. 22 880	267 bp	█	←	CDS
✓ holin class II	22 884 .. 23 087	204 bp	█	←	CDS holin class II
✓ tail fibers protein	23 099 .. 25 042	1944 bp	█	←	CDS tail fibers protein
✓ internal (core) protein	25 112 .. 29 074	3963 bp	█	←	CDS internal (core) protein
✓ protein inside capsid C	29 093 .. 31 336	2244 bp	█	←	CDS protein inside capsid C
✓ protein inside capsid B	31 339 .. 31 932	594 bp	█	←	CDS protein inside capsid B
✓ protein inside capsid A	31 935 .. 32 345	411 bp	█	←	CDS protein inside capsid A
✓ tail fiber protein-1	32 419 .. 34 824	2406 bp	█	←	CDS tail fiber protein
✓ tail fiber protein-2	34 840 .. 35 430	591 bp	█	←	CDS tail fiber protein
✓ capsid and scaffold protein-1	35 509 .. 35 625	117 bp	█	←	CDS
✓ capsid and scaffold protein-2	35 643 .. 36 026	384 bp	█	←	CDS

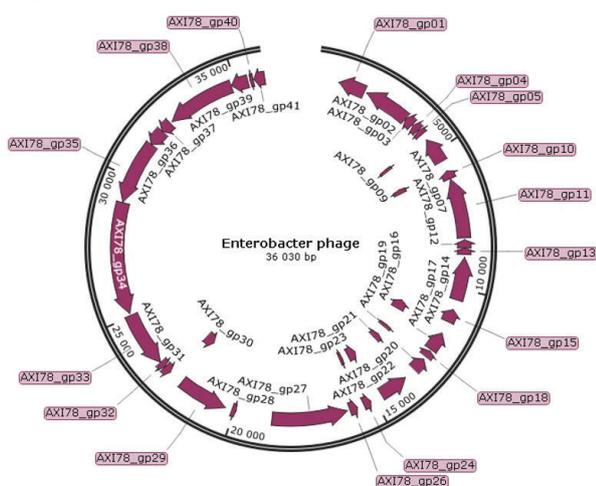


Рис. 1 - Карта линейной ДНК бактериофага *Enterobacter phage E7* с расшифровкой кодирующих областей генома (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

- титр по Грация- $2,0 \pm 0,2 \times 10^{10}$ БОЕ/мл, титр по Апельману – 10^9 ; специфичен для культур, идентифицированных как *Enterobacter spp.*; культивирование при температуре 65°C в 30 минут приводит к инаktivации [11].

Бактериофаг E7 концентрировали ультрафильтрацией с применением одноразовых ультрафильтров с пределом исключения 10 кДа, Merck (Millipore) [12 - 13]. Нуклеотидные последовательности исследуемого фага E7, специфичного для бактерий рода *Enterobacter*, 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 осуществля-

Таблица 2

Протеомный состав бактериофага E7, активного в отношении *Enterobacter* (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

Наименование	Мол. масса, Да	pI
hypothetical protein-4	4145	9,69
capsid and scaffold protein-1	4154	5,11
hypothetical protein-7	5268	5,14
hypothetical protein-13	5453	6,8
hypothetical protein-11	5902	10,93
inhibitor of recBCD nuclease	6826	3,91
HNS binding protein-1	7260	9,81
holin class II	7407	6,08
hypothetical protein-3	7458	6,57
hypothetical protein-6	7732	10
host RNA polymerase inhibitor	8840	4,85
hypothetical protein-2	8848	9,13
DNA packaging protein A	9888	4,7
hypothetical protein-9	9894	11,2
hypothetical protein-12	10312	9,38
dGTP triphosphohydrolase inhibitor	10478	7,96
hypothetical protein-5	10736	9,89
hypothetical protein-1	10914	9,7
HNS binding protein-2	11282	9,15
capsid and scaffold protein-2	13431	9,05
protein inside capsid A	15836	5,33
hypothetical protein-10	15889	9,69
N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	16900	9,03
endopeptidase-2	16947	9,41
Endonuclease	17640	9,48
hypothetical protein-8	17870	9,19
protein inside capsid B	21252	9,38
tail fiber protein-2	22234	4,48
ssDNA-binding protein	25948	9,47
capsid and scaffold protein	33744	4,28
Exonuclease	34759	4,93
DNA ligase	38425	5,15
primase/helicase protein	55813	5,07
collar / head-to-tail joining protein	58605	4,56
DNA packaging protein	66727	5,32
tail fibers protein	69955	5,08
DNA polymerase	79851	6,42
protein inside capsid C	85245	5,54
tail fiber protein-1	89818	6,2
DNA-directed RNA polymerase	98829	7,09
internal (core) protein	143526	8,41

лась нами с применением прибора Bioanalyzer 2100 и набора реагентов Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies, США) по протоколу производителя. Клональная амплификация библиотек, которые были предварительно эквимольно пулированы, проводились 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 *Enterobacter E7* в приложении SnapGene Viewer 4.1.9 соответственно данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 139 кДа. Качественный протеомный состав *Enterobacter phage* представлен в табл. 1-2 и рис. 1-4.

При анализе протеома бактериофага *Enterobacter E7* в приложении BASys (Bacterial Annotation System) соответственно данных секвенирования его нуклеиновой кислоты был выявлен 41 белок с молекулярными массами от 4,1 до 143 кДа. Качественный протеомный состав *Enterobacter phage E7* представлен в табл. 3-4 и рис. 5-7.

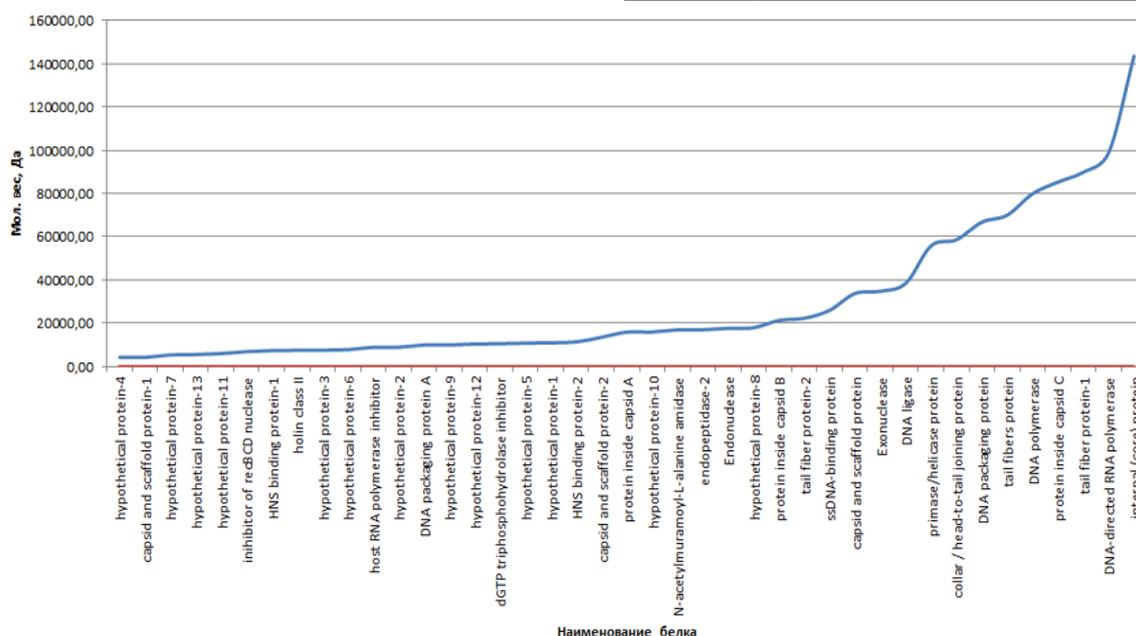


Рис. 2 - График распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по молекулярной массе (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

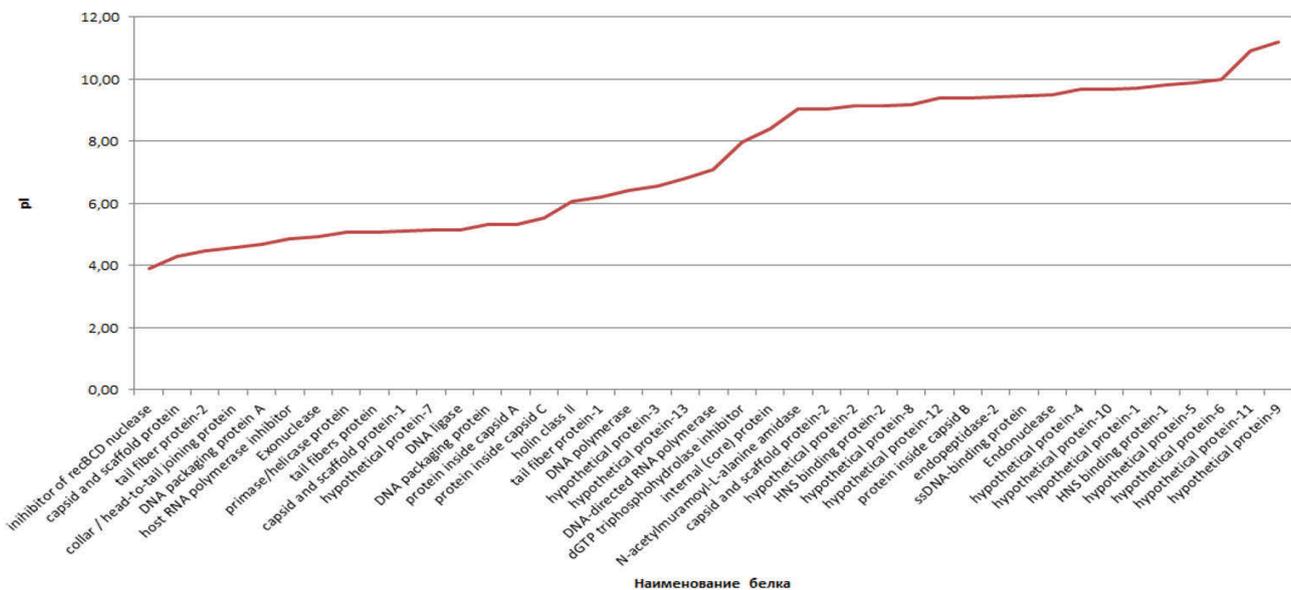


Рис. 3 - График распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по изоэлектрической точке (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

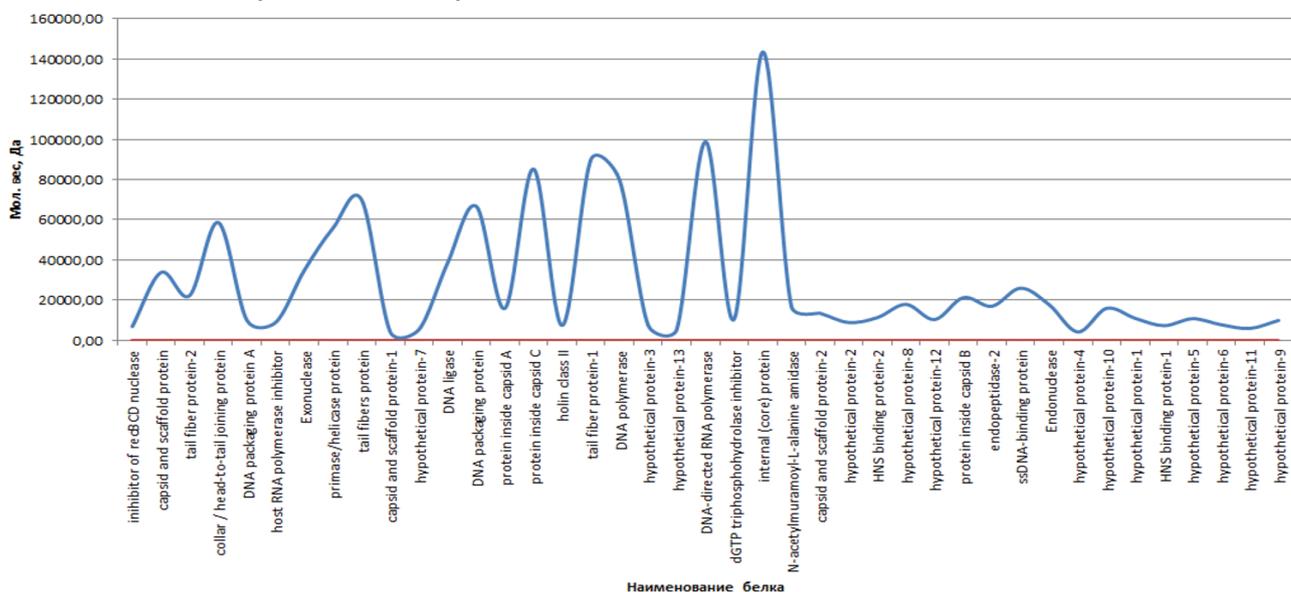


Рис. 4 - График распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по молекулярной массе в зависимости от pI (по данным приложения SnapGene Viewer 4.1.9)

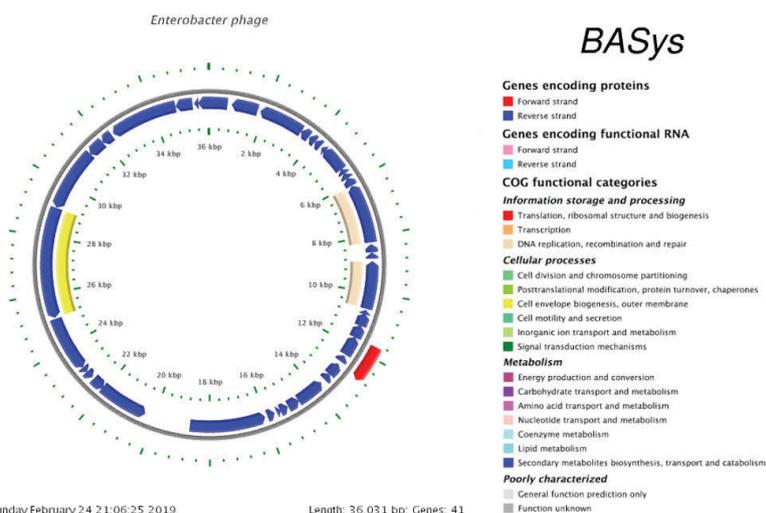


Рис. 5 - Карта линейной ДНК бактериофага *Enterobacter phage E7* с расшифровкой кодирующих областей генома (по данным приложения BASys version 1.0.)

BASys: Sunday February 24 21:06:25 2019

Таблица 3

Локализация белков в геноме *Enterobacter phage E7* (по данным приложения BASys version 1.0.)

Protein Function	Start	End	Size, bp	Strand
Capsid Assembly Protein	1727	795	932	-
Head-Tail Joining Protein	3436	1829	1607	-
Hypothetical Protein BASYS00003	3767	3447	320	-
Hypothetical Protein BASYS00004	4046	3795	251	-
Hypothetical Protein BASYS00005	4296	4051	245	-
Hypothetical Protein BASYS00006	4502	4389	113	-
Phage Exonuclease	5395	4484	911	-
Hypothetical Protein BASYS00008	5580	5392	188	-
Hypothetical Protein BASYS00009	5780	5571	209	-
Hypothetical Protein BASYS00010	6079	5777	302	-
DNA polymerase I, thermostable [H]	8210	6096	2114	-
Hypothetical Protein BASYS00012	8562	8278	284	-
Hypothetical Protein BASYS00013	8787	8575	212	-
DNA Primase/Helicase	10586	8886	1700	-
Hypothetical Protein BASYS00015	10762	10655	107	-
Uncharacterized protein HI_1494 [H]	11222	10767	455	-
Phage Endodeoxyribonuclease I	11676	11215	461	-
Hypothetical Protein BASYS00018	12374	11676	698	-
Hypothetical Protein BASYS00019	12663	12427	236	-
Hypothetical Protein BASYS00020	11664	12851	1187	+
Hypothetical Protein BASYS00021	13263	12784	479	-
Hypothetical Protein BASYS00022	13520	13263	257	-
Conserved Hypothetical Protein	14706	13690	1016	-
Bacteriophage-Related Protein	15119	14703	416	-
Hypothetical Protein BASYS00025	15430	15146	284	-
Hypothetical Protein BASYS00026	15561	15421	140	-
Hypothetical Protein BASYS00027	15926	15654	272	-
DNA-Directed RNA Polymerase	18694	16013	2681	-
Hypothetical Protein Aasi	22097	20334	1763	-
Hypothetical Protein BASYS00030	22539	22072	467	-
Hypothetical Protein BASYS00031	22880	22614	266	-
Hypothetical Protein BASYS00032	23087	22884	203	-
Phage Tail Fiber Protein	25066	23099	1967	-
Putative murein lytic transglycosylase yjbJ [H]	29074	25112	3962	-
Hypothetical Protein BASYS00035	31336	29093	2243	-
Hypothetical Protein BASYS00036	31932	31339	593	-
Hypothetical Protein BASYS00037	32345	31935	410	-
Tail Tubular Protein B	34824	32419	2405	-
Tail Tubular Protein A	35430	34840	590	-
Hypothetical Protein BASYS00040	35631	35509	122	-
Minor Capsid Protein	36038	35643	395	-

Таблица 4

Протеомный состав бактериофага E7, активного в отношении *Enterobacter* (по данным приложения BASys version 1.0.)

Наименование	Мол. масса, Да	pI
Hypothetical Protein BASYS00006	4145	10,49
Hypothetical Protein BASYS00015	4160	8,34
Hypothetical Protein BASYS00040	4372	4,8
Hypothetical Protein BASYS00026	5902	11,58
Hypothetical Protein BASYS00008	7113	3,83
Hypothetical Protein BASYS00009	7260	10,25
Hypothetical Protein BASYS00032	7407	6,67
Hypothetical Protein BASYS00013	7732	10,75
Hypothetical Protein BASYS00019	8840	4,56
Hypothetical Protein BASYS00004	8848	9,8
Hypothetical Protein BASYS00005	9368	6,24
Hypothetical Protein BASYS00031	9888	4,45
Hypothetical Protein BASYS00022	9894	11,75
Hypothetical Protein BASYS00027	10312	10,72
Hypothetical Protein BASYS00012	10737	10,61
Hypothetical Protein BASYS00025	10851	7,77
Hypothetical Protein BASYS00003	10914	10,5
Hypothetical Protein BASYS00010	11282	9,6
Hypothetical Protein BASYS00037	15836	5,2
Bacteriophage-Related Protein	15889	10,23
Uncharacterized protein HI_1494 [H]	16900	9,23
Hypothetical Protein BASYS00030	17423	9,98
Phage Endodeoxyribonuclease I	17641	10,05
Hypothetical Protein BASYS00021	17870	9,54
Hypothetical Protein BASYS00036	21252	9,86
Tail Tubular Protein A	22234	4,21
Hypothetical Protein BASYS00018	25948	4,51
Capsid Assembly Protein	33744	4,01
Phage Exonuclease	34759	4,69
Minor Capsid Protein	36277	7,32
Conserved Hypothetical Protein	38425	4,91
Hypothetical Protein BASYS00020	43828	9,7
Head-Tail Joining Protein	58606	4,29
DNA Primase/Helicase	62800	4,81
Hypothetical Protein Aasi	66728	5,17
Phage Tail Fiber Protein	70855	6,28
DNA polymerase I, thermostable [H]	79852	6,87
Hypothetical Protein BASYS00035	85246	5,34
Tail Tubular Protein B	89818	6,64
DNA-Directed RNA Polymerase	99985	7,85
Putative murein lytic transglycosylase yjbJ [H]	143527	8,92

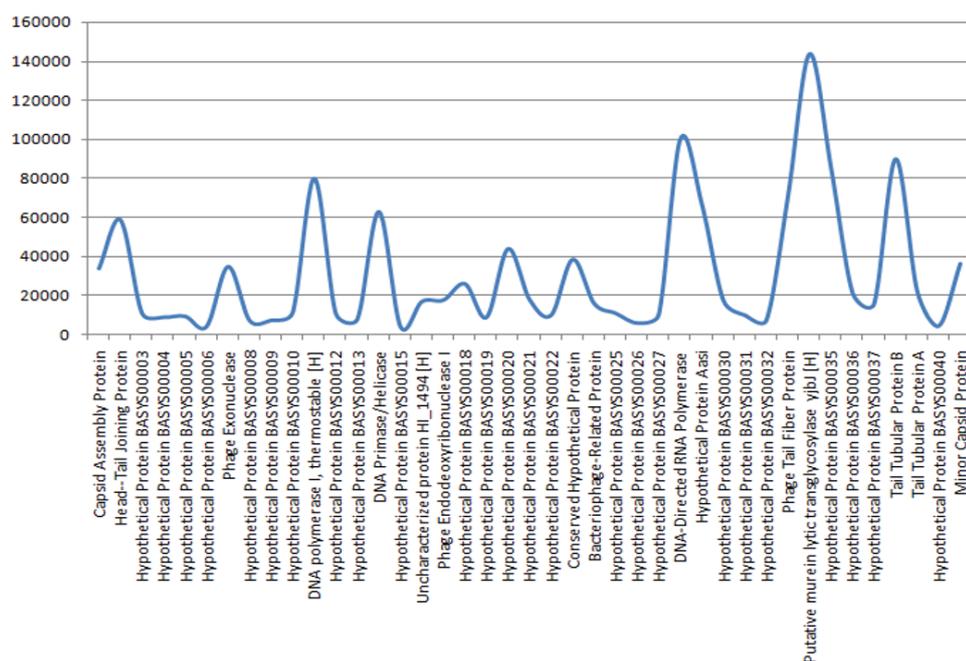


Рис. 6 - График распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по молекулярной массе (по данным приложения BASys version 1.0.)

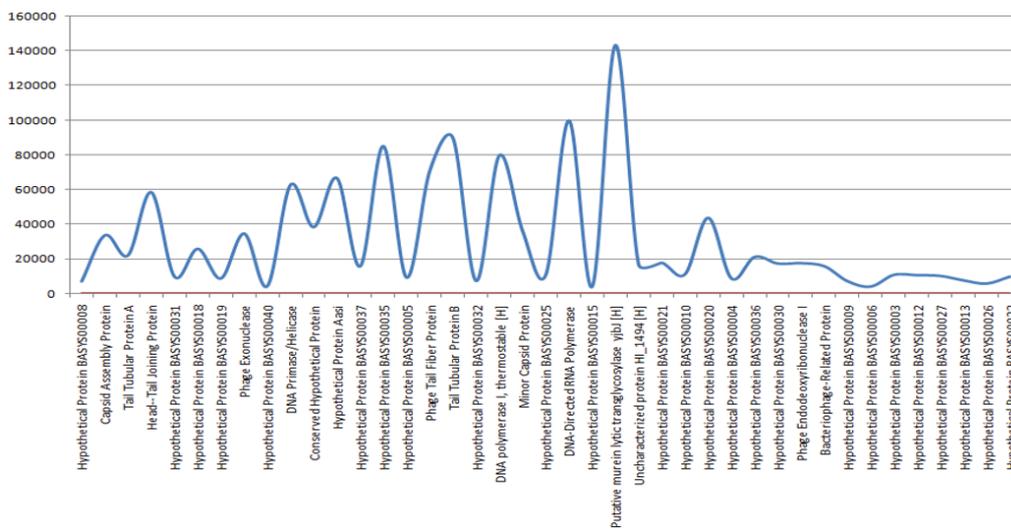


Рис. 7 - График распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по молекулярной массе в зависимости от pI (по данным приложения BASys version 1.0.)

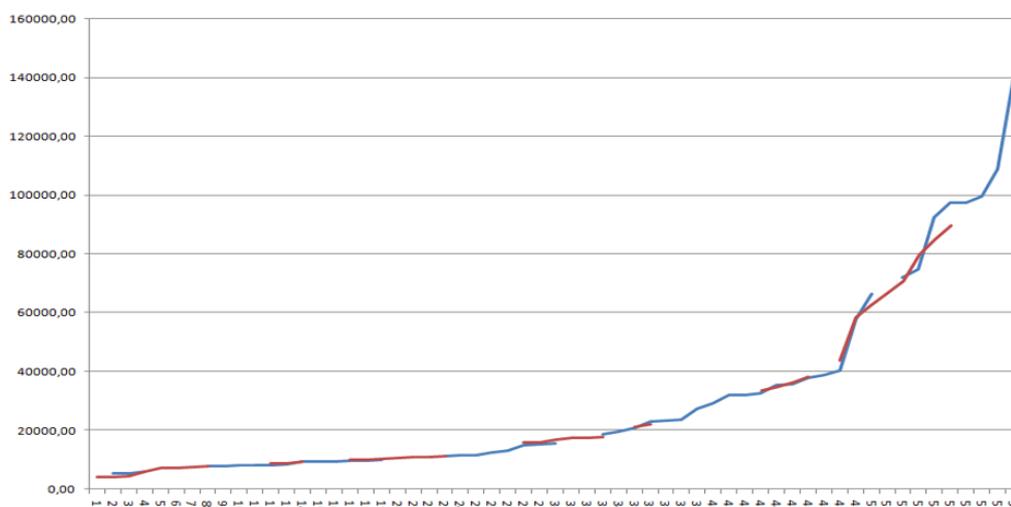


Рис. 8 - Сравнительный график распределения белкового состава *Enterobacter phage E7* по молекулярной массе по данным приложений SnapGene Viewer 4.1.9 (красный цвет) и BASys version 1.0 (синий цвет)

При анализе соответствия протеомного состава *Enterobacter phage E7*, количества белков и распределения их по молекулярным массам в биоинформационных приложениях SnapGene Viewer 4.1.9 и BASys version 1.0 выявлена их идентичность (рис. 8).

Выводы

В результате проведенного нами анализа протеома бактериофага E7, специфичного для бактерий *Enterobacter*, основанного на данных секвенирования его нуклеиновой кислоты, в приложении SnapGene Viewer 4.1.9 было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 139 кДа. При работе в приложении BASys (Bacterial Annotation System) нами были получены несколько иные результаты - соответственно данных секвенирования нуклеиновой кислоты бактериофага E7 был выявлен 41 белок с молекулярными массами от 4,1 до 143 кДа.

При анализе соответствия протеомного состава *Enterobacter phage E7*, 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 *Enterobacter phage E7* по изоэлектрической точке (pI) дает информацию о кислотности среды (pH), при которой белок не несёт электрического заряда. Данные о протеоме бактериофага *Enterobacter phage E7* 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. Ambivalent bacteriophages of different species active on *Escherichia coli* K12 and *Salmonella* sp. strains / V. N. Krylov, E. A. Pleteneva, S. V. Krylov, O. V. Shaburova, S. Miller, M. Biebl, M. Schuetz, R. Rachel // *Russian Journal of Genetics*. - 2006. - Т. 42. - № 2. - С. 106-114.
2. Чиркова, И. В. Биологические свойства бактериофагов *phagum Salmonella typhimurium* и их использование в борьбе с сальмонеллезом птиц / И.

В. Чиркова, Н. В. Пименов // Ветеринарная патология. - 2008. - № 4 (27). - С. 141-145.

3. Нифонтова, В. В. Получение бактериофагов и их применение в ветеринарии / В. В. Нифонтова, О. Е. Чугунова // Вестник Пермского научного центра. - № 2. - 2015. - С. 54-59.

4. 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.

5. 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. - Т. 15. - № 2 (87). - С. 93-100.

6. Чушков, Ю. В. Бактериофаги в лечении и профилактике инфекционных заболеваний / Ю. В. Чушков // Фарматека. - 2011. - № 6. - С. 34-41.

7. 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. - Т. 11. - № 1. - С. 52-56.

8. Молекулярно-биологические и генетические принципы селекции терапевтических бактериофагов бактерий родов *Pseudomonas* и *Staphylococcus* / К. А. Мирошников, Е.Е. Куликов, О. С. Дарбева, К. А. Лыско, Г. М. Игнатъев // Приклад-

ная биохимия и микробиология. - 2014. - Т. 50. - № 3. - С. 338.

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

10. Каттер, Э. Бактериофаги: биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; науч. ред. А. В. Летаров; [пер. с англ. Е. Е. Куликов и др.]. - Москва: Научный мир, 2012. - 636 с.

11. Бактериофаги бактерий *Enterobacter* и их основные биологические характеристики / Е. В. Сульдина, Д. А. Васильев, С. Н. Золотухин, И. И. Богданов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 4 (40). - С. 94-97.

12. Efficient identification of tubby-binding proteins by an improved system of T7 phage display / N. B. Caberoy, Y. Zhou, X. Jiang, G. Alvarado, W. Li // Journal of Molecular Recognition. - 2010. - Vol. 23. - № 1. - P. 74-83.

13. Bacteriophage lambda display systems: developments and applications / J. Nicastrò, K. Sheldon, R. A. Slavcev // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2014. - Vol. 98. - № 7. - P. 2853-2866.

14. Сульдина, Е. В. Идентификация штамма *Enterobacter spp.* и специфичного ему фага E7 методом сравнительного геномного и филогенетического анализа / Е. В. Сульдина, Д. А. Васильев, Н. А. Феоктистова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 4 (44). - С. 229-235.

ANALYSIS OF BACTERIOPHAGE PROTEOME ACTIVE AGAINST ENTEROBACTER

Feoktistova N.A., Vasiliev D. 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: Enterobacter, bacteriophage, proteome, composition, protein, isoelectric point, molecular weight, system.

The article presents results of a proteomic analysis of the virulent bacteriophage *Enterobacter E7* (study of the quantitative composition, isoelectric point of proteins, molecular weight) isolated from environmental objects, which is a candidate for phage biological preparation 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 experiments. As a result of the conducted studies, data of proteomic analysis on the basis of the previously conducted sequence were obtained. It was found that bacteriophage E7 detected 50 proteins with molecular masses from 5.5 to 139 kDa in the SnapGene Viewer 4.1.9 application. When working in the BASys application (Bacterial Annotation System), we obtained slightly different results - according to the sequencing data of the bacteriophage E7 nucleic acid, 41 proteins with molecular masses from 4.1 to 143 kDa were detected. When analyzing the compliance of the proteomic composition of *Enterobacter* phage E7, the number 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. Data on the proteome of *Enterobacter* phage E7 bacteriophage supplement the information necessary to create a classification database of bacteriophages studied according to the project, based on criteria of biological characteristics, features of phage-host interaction, features of genetic organization and characteristics of the proteome.

Bibliography

1. Ambivalent bacteriophages of different species active on *Escherichia coli* K12 and *Salmonella sp.* strains / V.N. Krylov, E.A. Pleteneva, S.V. Krylov, O.V. Shaburova, S. Miller, M. Biebl, M. Schuetz, R. Rachel // Russian Journal of Genetics. - 2006. - Vol. 42, No. 2. - P. 106-114.
2. Chirkova, I.V. Biological properties of bacteriophages of phagum *Salmonella typhimurium* and their use in the battle against bird salmonellosis / I.V. Chirkova, N.V. Pimenov // Veterinary Pathology. - 2008. - № 4 (27). - P. 141-145.
3. 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.
4. 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.
5. Genetic characteristics and spectrum of antibacterial activity of bacteriophages included in the industrial series of the drug polybacteriophage polyvalent purified / N.V. Tikunova, N.N. Voroshilova, O.A. Polygach, V.V. Morozova, A.Yu. Tikunov, A.M. Kurilshscikov, V.V. Vlasov // Epidemiology and vaccine

prevention. - 2016. - Vol. 15, No. 2 (87). - P. 93-100.

6. Chushkov, Yu.V. Bacteriophages in the treatment and prevention of infectious diseases / Yu.V. Chushkov // *Farmateka*. - 2011. - № 6. - P. 34-41.

7. 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.

8. 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.

9. 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.

10. Katter, E. Bacteriophages: biology and practical application / E. Katter, A. Sulakvelidze; scientific ed. A.V. Letarov; translation from English by E.E. Kulikov et al. - Moscow: Nauchnyi mir, 2012. - 636 p.

11. Bacteriophages of *Enterobacter* bacteria and their main biological characteristics / E.V. Suldina, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin, I.I. Bogdanov // *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. - 2017. - № 4 (40). - P. 94-97.

12. Efficient identification of tubby-binding proteins by an improved system of T7 phage display / N. B. Caberoy, Y. Zhou, X. Jiang, G. Alvarado, W. Li // *Journal of Molecular Recognition*. - 2010. - Vol. 23, № 1. - P. 74-83.

13. Nicastro, J. Bacteriophage lambda display systems: developments and applications / J. Nicastro, K. Sheldon, R.A. Slavcev // *Applied Microbiology and Biotechnology*. - 2014. - Vol. 98, № 7. - P. 2853-2866.

14. Suldina, E.V. Identification of *Enterobacter* spp. and specific to it phage E7 by comparative genomic and phylogenetic analysis / E.V. Suldina, D.A. Vasiliev, N.A. Feoktistova // *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. - 2018. - № 4 (44). - P. 229-235.