

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА *LISTERIA FL.M 4* УЛГАУ

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

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

**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»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017. г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; 89374545651

e-mail: e.suldina2006@yandex.ru

**Ключевые слова:** *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, листериум, листериоз, пищевые патогены, фаг, бактериофаги, бактерии.

В статье представлены результаты геномных и протеомных исследований листериозного бактериофага FL.m. 4 УлГАУ. Изучаемый фаг обладает рядом биологических свойств, необходимых для производственно-перспективного бактериофага: высокая литическая активность (по методу агаровых слоев по Грациа  $2,9 \pm 0,1 \times 10^{10}$  БОЕ/мл, по методу Аппельмана  $10^{-9}$ ), широкий спектр литического действия (86,8 %) и специфичность. Для подтверждения безопасности и оригинальной природы фага FL.m. 4 серии УлГАУ был секвенирован и проанализирован методами геномной биоинформатики. Полученную таким образом генетическую последовательность фаговой ДНК сравнивали с данными генетическими последовательностями, представленными в системе NCBI. Установлено, что наиболее близким по гомологии оказался геном *Listeria phage LP-083-2*. На основании генетических исследований был проведен анализ протеома бактериофага *Listeria phage FLm4* и составлена его карта в соответствии с аннотированными геномами бактерий и вирусов на основе триплетной кодировки аминокислот. Каждый из выявленных 109 протеомных компонентов *Listeria phage FLm4* был сопоставлен с аналогами и составлено его филогенетическое картирование для поиска подобия возможных локусов патогенности. При анализе полученных данных генетических и протеомных исследований бактериофага *Listeria phage FLm4* серии УлГАУ локусов патогенности и их гомологов не выявлено. Эти результаты подтверждают его оригинальность и безопасность и свидетельствуют о возможности его дальнейшего использования в качестве средства обработки плодоовощной и другой готовой к употреблению продукции с целью увеличения сроков ее хранения и профилактики пищевых отравлений.

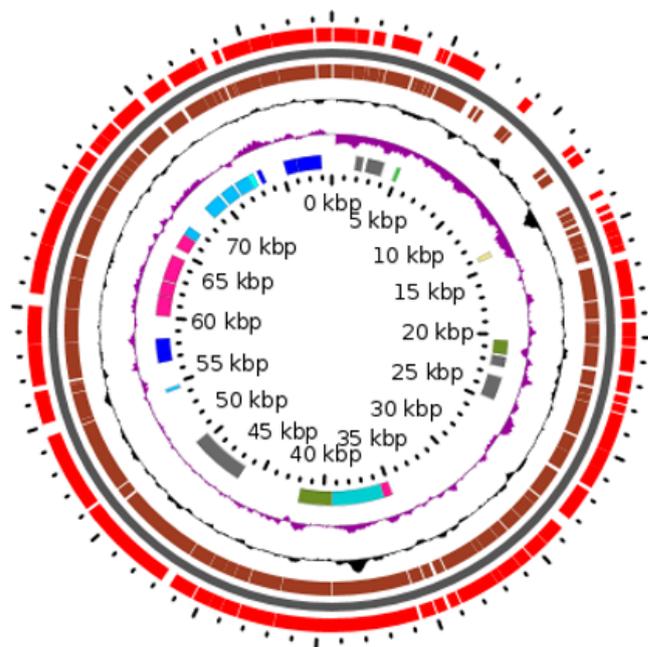
**Исследования проводятся в соответствии с Тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2019 году.**

### Введение

Сегодня микробиологическая безопасность пищевых продуктов все больше основана на применении «натуральных» (биологических) противомикробных препаратов, которые позволяют контролировать микробное загрязнение пищевых продуктов [1]. Бактериофаги (фаги), вирусы, убивающие бактерии, являются старейшими и наиболее вездесущими биологическими системами на Земле [2] и являются наиболее подходящими кандидатами для экологически безопасного биоконтроля патогенов [3, 4], передающихся через пищевые продукты. Высокая специфичность бактериофага по отношению к бактерии-хозяину, способность противостоять разнообразным факторам, возникающим при

обработке пищи [5, 6], а также их низкая токсичность и длительный срок хранения делают фаги хорошей альтернативой дезинфицирующим средствам, антибиотикам и/или пищевым консервантам [3, 4, 7].

Для обеспечения безопасности пищевых продуктов фаги используются как средство борьбы с патогенами на разных этапах производства; в животноводстве их применяют в качестве терапевтических препаратов, что в том числе предотвращает попадание патогенов в среду обработки пищевых продуктов; в пищевой промышленности они используются в качестве агентов биоконтроля для очистки и дезинфекции [8, 9], тем самым уменьшая образование колоний и / или биопленок, а также в качестве биоконсер-



- Listeria phage\_FLm4.gb
- Listeria phage\_LP\_083\_2.gb
- GC content
- GC skew

Рис. 1 - Сравнительный анализ гомологии геномов листериозных бактериофагов FLm4 УлГАУ и LP-083-2

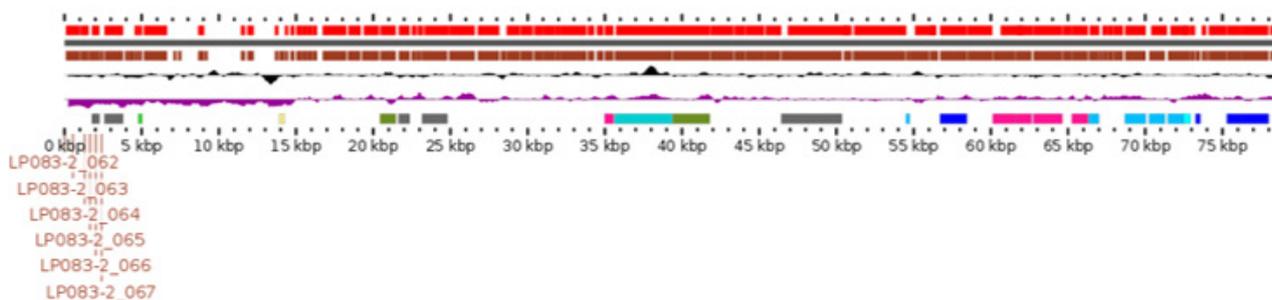


Рис. 2 - Линейная диаграмма гомологии геномов листериозных бактериофагов FLm4 УлГАУ и LP-083-2

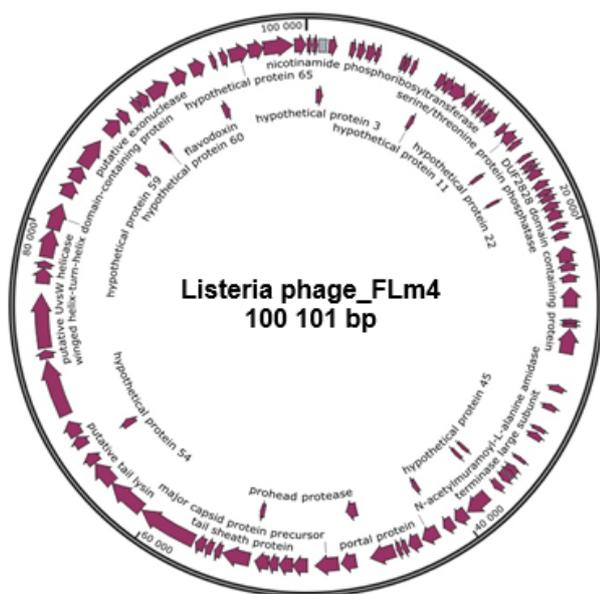


Рис.3 - Протеомная карта гомологии исследуемого бактериофага Listeria phage FLm4 с генетическим маркером, аннотированным в системе NCBI

вантов [10]. Они также добавляются в пищевые продукты или наносятся на поверхность пищи [3] для подавления и / или уничтожения роста патогенов [6, 11, 12] и микроорганизмов, вызывающих порчу [13-14], тем самым обеспечивая продление сроков годности готовых к употреблению продуктов [15].

Однако, чтобы рекомендовать бактериофаг для использования в качестве средства обработки плодоовощной и другой готовой к употреблению продукции с целью увеличения сроков ее хранения и профилактики пищевых отравлений, необходима его молекулярно-генетическая оценка.

В связи с этим целью наших исследований стало проведение молекулярно – генетических и протеомных исследований бактериофага FL.m. 4 УлГАУ, активного в отношении опасного пищевого патогена - *Listeria monocytogenes* для подтверждения его оригинальности и безопасности.

**Объекты и методы исследования:**

В ходе работы авторов было выделено 5

## Анализ состава протеома Listeria phage FLm4

Sequence: Listeria monocytogenes phage FLm4-2019.dna (Circular / 100 101 bp)  
 Features: 110 total

Feature	Location	Size			Type	
✓ hypothetical protein 1	81 .. 344	264 bp		→	CDS	hypothetical protein 1
✓ hypothetical protein 2	428 .. 703	276 bp		→	CDS	hypothetical protein 2
✓ hypothetical protein 3	779 .. 1231	453 bp		→	CDS	hypothetical protein 3
✓ DNA modification protein Mom-like protein	779 .. 1231	453 bp		⊥	misc_feature	
✓ hypothetical protein 4	1386 .. 1865	480 bp		→	CDS	hypothetical protein 4
✓ hypothetical protein 5	2682 .. 3023	342 bp		→	CDS	hypothetical protein 5
✓ hypothetical protein 6	3143 .. 3592	450 bp		→	CDS	hypothetical protein 6
✓ hypothetical protein 7	3694 .. 4236	543 bp		→	CDS	hypothetical protein 7
✓ hypothetical protein 8	4261 .. 4539	279 bp		→	CDS	hypothetical protein 8
✓ hypothetical protein 9	5850 .. 6110	261 bp		→	CDS	hypothetical protein 9
✓ gp110	6124 .. 6411	288 bp		→	CDS	gp110
✓ hypothetical protein 10	6566 .. 6838	273 bp		→	CDS	hypothetical protein 10
✓ hypothetical protein 11	8008 .. 8316	309 bp		→	CDS	hypothetical protein 11
✓ hypothetical protein 12	8309 .. 8800	492 bp		→	CDS	hypothetical protein 12
✓ hypothetical protein 13	8803 .. 9309	507 bp		→	CDS	hypothetical protein 13
✓ hypothetical protein 14	9320 .. 10 234	915 bp		→	CDS	hypothetical protein 14
✓ hypothetical protein 15	10 368 .. 10 598	231 bp		→	CDS	hypothetical protein 15
✓ hypothetical protein 16	10 616 .. 10 906	291 bp		→	CDS	hypothetical protein 16
✓ hypothetical protein 17	11 088 .. 11 435	348 bp		→	CDS	hypothetical protein 17
✓ hypothetical protein 18	11 467 .. 11 727	261 bp		→	CDS	hypothetical protein 18
✓ hypothetical protein 19	11 807 .. 12 139	333 bp		→	CDS	hypothetical protein 19
✓ gp131	12 140 .. 12 535	396 bp		→	CDS	gp131
✓ hypothetical protein 20	13 088 .. 13 447	360 bp		→	CDS	hypothetical protein 20
✓ serine/ threonine protein phosphatase	13 491 .. 14 198	708 bp		←	CDS	serine/threonine protein phosphatase
✓ hypothetical protein 21	14 277 .. 14 597	321 bp		←	CDS	hypothetical protein 21
✓ hypothetical protein 22	14 590 .. 14 898	309 bp		←	CDS	hypothetical protein 22
✓ hypothetical protein 23	15 284 .. 15 568	285 bp		←	CDS	hypothetical protein 23
✓ hypothetical protein 24	15 758 .. 16 039	282 bp		←	CDS	hypothetical protein 24
✓ hypothetical protein 25	16 099 .. 16 323	225 bp		←	CDS	hypothetical protein 25
✓ hypothetical protein 26	16 324 .. 16 866	543 bp		←	CDS	hypothetical protein 26
✓ hypothetical protein 27	16 863 .. 17 090	228 bp		←	CDS	hypothetical protein 27
✓ hypothetical protein 28	17 093 .. 17 584	492 bp		←	CDS	hypothetical protein 28
✓ hypothetical protein 29	17 686 .. 18 063	378 bp		←	CDS	hypothetical protein 29
✓ hypothetical protein 30	18 065 .. 18 487	423 bp		←	CDS	hypothetical protein 30
✓ hypothetical protein 31	18 552 .. 19 040	489 bp		←	CDS	hypothetical protein 31
✓ DUF4379 domain-containing protein	19 046 .. 19 678	633 bp		←	CDS	DUF4379 domain-containing protein
✓ hypothetical protein 32	19 868 .. 20 287	420 bp		←	CDS	hypothetical protein 32
✓ putative phosphoesterase	20 460 .. 20 933	474 bp		←	CDS	putative phosphoesterase
✓ putative RNA ligase	21 420 .. 22 361	942 bp		←	CDS	putative RNA ligase
✓ hypothetical protein 33	22 375 .. 22 911	537 bp		←	CDS	hypothetical protein 33
✓ DUF1768 domain containing protein	23 100 .. 23 603	504 bp		←	CDS	DUF1768 domain containing protein
✓ tRNA-splicing ligase	23 921 .. 25 132	1212 bp		←	CDS	tRNA-splicing ligase
✓ hypothetical protein 34	25 882 .. 26 106	225 bp		←	CDS	hypothetical protein 34
✓ helix-turn-helix XRE-family like protein	26 120 .. 26 362	243 bp		←	CDS	helix-turn-helix XRE-family like protein
✓ DUF2828 domain containing protein	26 465 .. 27 988	1524 bp		←	CDS	DUF2828 domain containing protein
✓ hypothetical protein 35	29 985 .. 30 392	408 bp		←	CDS	hypothetical protein 35
✓ hypothetical protein 36	31 219 .. 31 590	372 bp		←	CDS	hypothetical protein 36
✓ DUF2829 domain containing protein	32 762 .. 33 037	276 bp		←	CDS	DUF2829 domain containing protein
✓ hypothetical protein 37	33 161 .. 33 592	432 bp		←	CDS	hypothetical protein 37
✓ hypothetical protein 38	34 955 .. 35 191	237 bp		←	CDS	hypothetical protein 38
✓ hypothetical protein 39	35 607 .. 35 951	345 bp		←	CDS	hypothetical protein 39
✓ hypothetical protein 40	35 967 .. 36 236	270 bp		←	CDS	hypothetical protein 40
✓ hypothetical protein 41	36 331 .. 36 738	408 bp		→	CDS	hypothetical protein 41
✓ hypothetical protein 42	36 722 .. 36 994	273 bp		→	CDS	hypothetical protein 42
✓ hypothetical protein 42	37 000 .. 37 416	417 bp		→	CDS	hypothetical protein 42
✓ putative terminase, small subunit	37 416 .. 37 697	282 bp		→	CDS	putative terminase, small subunit
✓ terminase large subunit	38 047 .. 39 600	1554 bp		→	CDS	terminase large subunit

Feature	Location	Size			Type
✓ hypothetical protein 43	39 699 .. 40 508	810 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 43
✓ hypothetical protein 44	40 700 .. 41 338	639 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 44
✓ hypothetical protein 45	41 328 .. 41 708	381 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 45
✓ N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	41 772 .. 42 797	1026 bp	■	→	CDS   N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase
✓ 3D domain containing protein	42 970 .. 43 698	729 bp	■	→	CDS   3D domain containing protein
✓ hypothetical protein 46 gp	43 822 .. 44 121	300 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 46 gp
✓ hypothetical protein 47 gp	44 204 .. 44 473	270 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 47 gp
✓ portal protein	44 616 .. 46 133	1518 bp	■	→	CDS   portal protein
✓ prohead protease	46 256 .. 47 026	771 bp	■	→	CDS   prohead protease
✓ hypothetical protein 48	47 019 .. 47 921	903 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 48
✓ major capsid protein precursor	48 091 .. 49 497	1407 bp	■	→	CDS   major capsid protein precursor
✓ hypothetical protein 49	49 966 .. 50 847	882 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 49
✓ hypothetical protein 50	50 865 .. 51 683	819 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 50
✓ hypothetical protein 51	51 734 .. 52 300	567 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 51
✓ hypothetical protein 52	52 313 .. 53 152	840 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 52
✓ hypothetical protein 53	53 152 .. 53 472	321 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 53
✓ tail sheath protein	53 476 .. 55 164	1689 bp	■	→	CDS   tail sheath protein
✓ tail tube protein	55 232 .. 55 654	423 bp	■	→	CDS   tail tube protein
✓ tail tape measure protein	55 806 .. 56 249	444 bp	■	→	CDS   tail tape measure protein
✓ RNA polymerase	56 305 .. 56 904	600 bp	■	→	CDS   RNA polymerase
✓ putative tail lysin	57 047 .. 60 694	3648 bp	■	→	CDS   putative tail lysin
✓ putative tail lysin	60 740 .. 63 127	2388 bp	■	→	CDS   putative tail lysin
✓ putative tail fiber	63 145 .. 64 677	1533 bp	■	→	CDS   putative tail fiber
✓ hypothetical protein 53	64 715 .. 65 428	714 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 53
✓ hypothetical protein 54	65 415 .. 65 966	552 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 54
✓ putative baseplate protein	65 953 .. 66 663	711 bp	■	→	CDS   putative baseplate protein
✓ putative baseplate assembly protein	66 728 .. 67 723	996 bp	■	→	CDS   putative baseplate assembly protein
✓ hypothetical protein 55	68 167 .. 71 688	3522 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 55
✓ hypothetical protein 56	71 805 .. 72 326	522 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 56
✓ putative tail protein	72 460 .. 75 798	3339 bp	■	→	CDS   putative tail protein
✓ hypothetical protein 57	76 416 .. 77 360	945 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 57
✓ hypothetical protein 58	77 368 .. 77 802	435 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 58
✓ putative UvsW helicase	78 037 .. 79 782	1746 bp	■	→	CDS   putative UvsW helicase
✓ winged helix-turn-helix domain-containing pro...	79 797 .. 81 437	1641 bp	■	→	CDS   winged helix-turn-helix domain-conta..
✓ helicase DnaB-like	81 962 .. 82 918	957 bp	■	→	CDS   helicase DnaB-like
✓ exonuclease	83 032 .. 83 985	954 bp	■	→	CDS   exonuclease
✓ putative exonuclease	84 080 .. 85 963	1884 bp	■	→	CDS   putative exonuclease
✓ hypothetical protein 59	85 983 .. 86 573	591 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 59
✓ DNA primase	86 573 .. 87 634	1062 bp	■	→	CDS   DNA primase
✓ putative deoxyuridine nucleotidohydrolase	87 729 .. 88 328	600 bp	■	→	CDS   putative deoxyuridine 5'-triphosphate..
✓ hypothetical protein 60	88 546 .. 88 869	324 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 60
✓ hypothetical protein 61	88 862 .. 89 284	423 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 61
✓ hypothetical protein 62	89 287 .. 89 907	621 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 62
✓ ribonucleotide reductase	90 004 .. 91 371	1368 bp	■	→	CDS   ribonucleotide reductase
✓ ribonucleotide-diphosphate reductase subunit...	91 717 .. 92 613	897 bp	■	→	CDS   ribonucleotide-diphosphate reductase..
✓ ribonucleotide-diphosphate reductase subunit...	92 957 .. 93 820	864 bp	■	→	CDS   ribonucleotide-diphosphate reductase..
✓ flavodoxin	93 817 .. 94 269	453 bp	■	→	CDS   flavodoxin
✓ hypothetical protein 63	94 272 .. 94 568	297 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 63
✓ hypothetical protein 64	94 878 .. 95 288	411 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 64
✓ hypothetical protein 65	95 431 .. 96 618	1188 bp	■	→	CDS   hypothetical protein 65
✓ ribose-phosphate pyrophosphokinase	96 627 .. 97 529	903 bp	■	→	CDS   ribose-phosphate pyrophosphokinase
✓ nicotinamide phosphoribosyltransferase	97 540 .. 99 333	1794 bp	■	→	CDS   nicotinamide phosphoribosyltransferas
✓ PcfD domain-containing protein	99 420 .. 8	690 bp	■	→	CDS   PcfD domain-containing protein

изолятов бактериофагов, специфичных к бактериям *Listeria spp.*: *L.m 1* УлГАУ, *L.m 2* УлГАУ, *L.m 4* УлГАУ, *L.m 6* УлГАУ, *L.m 12* УлГАУ. Литическая активность данных фагов составляла от  $1,2 \pm 0,1 \times 10^7$  до  $2,9 \pm 0,1 \times 10^{10}$  по Грациа и от  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$  по методу Аппельмана. Диапазон литического действия находился в пределах от 37,5% до 86,8%. Опираясь на изученные биологические свойства для молекулярно-генетического исследования, нами был отобран бактериофаг *FL.m. 4* УлГАУ, обладающий следующими характеристиками:

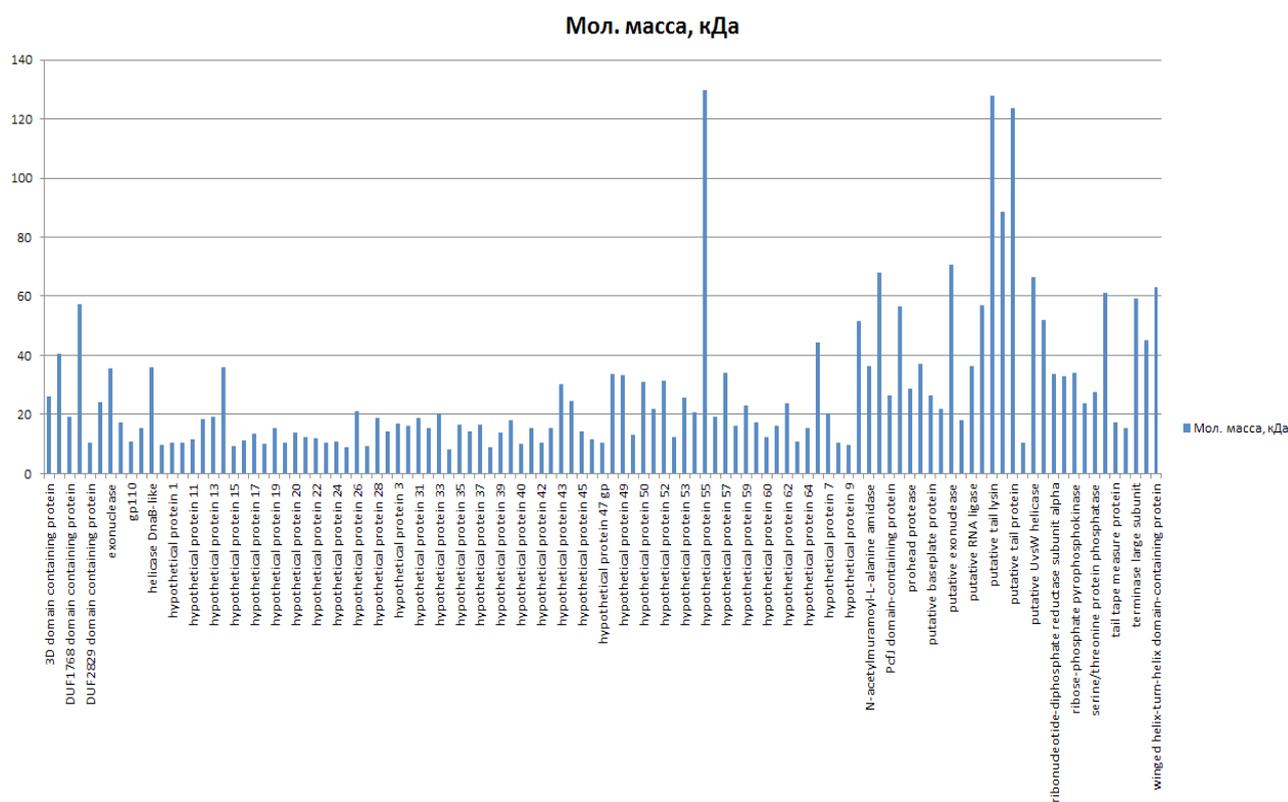
- негативные колонии диаметром 0,5-0,7 см округлые, прозрачные, без зоны неполного лизиса;
- литическая активность по методу агаровых слоев по Грациа  $2,9 \pm 0,1 \times 10^{10}$  БОЕ (бляшкообразующих единиц) /мл,
- литическая активность по методу Ап-

пельмана  $10^{-9}$ ;

- спектр литического действия составляет 86,8 % (изучался на 53 культурах *Listeria spp.*).
- не активен в отношении бактерий гетерологических родов;
- умеренно устойчив к воздействию температуры;
- не теряет активность при 45 минутном воздействии хлороформа.

Для получения полноразмерной нуклеотидной последовательности генома листериозного бактериофага *FL.m. 4* УлГАУ фаголизат очищали от бактериальной ДНК ультрафильтрацией. Выделение нуклеиновых кислот фагов проводили при помощи набора К-Сорб (ООО «НПФ Синтол», Россия).

Секвенирование осуществляли при помощи платформы IonTorrent (Thermo Fisher



**Рис. 4 - Диаграмма распределения протеомов исследуемого бактериофага *Listeria phage FLm4* соответственно молекулярным массам**

Scientific, США), используя набор реагентов Ion PI Sequencing 200 Kit v3 на чипе Ion PI ChipKit v2 секвенатора IonProton (ThermoFisherScientific, США) согласно рекомендациям производителя. Оценка распределения длин фрагментов библиотек и их концентрация осуществлялась с помощью прибора Bioanalyzer 2100 и набора Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies, США). Для сборки фагового генома *de novo* использовали риды с качеством прочтения не ниже Q20 и длиной не менее 50 оснований. Сборку генома осуществляли с применением программного обеспечения Newbler (Roche/454 GS-FLX). Для исследования протеома использовали ресурсы SnapGene Viewer v.4.1.7, ExPasy (<https://web.expasy.org>), BASys (Bacterial Annotation System; <https://www.basys.ca>).

#### Результаты исследований

Исследования генома и протеома листериозного бактериофага *FL.m. 4* УлГАУ включали в себя: анализ соответствия его генетической последовательности, данным представленным в системе NCBI и определение возможных гомологов, составление карты протеомов бактериофага в соответствии с аннотированными геномами бактерий и вирусов на основе триплетной кодировки аминокислот, исследование про-

теомов бактериофага на предмет соответствия локусам патогенности и составление филогенетической схемы каждого из протеомов исследуемого фага.

Изучение этих данных позволит подтвердить оригинальность и безопасность бактериофага *FL.m. 4* УлГАУ.

Полноразмерные нуклеотидные последовательности генома фага получали при помощи ионного полупроводникового секвенирования. Бактериофаг был секвенирован трехкратно, данные каждого исследования были проанализированы методами геномной биоинформатики, что позволило собрать геном фага с высокой достоверностью.

Полученную таким образом генетическую последовательность листериозного бактериофага сопоставили с аннотированными данными системы NCBI и провели сравнительный анализ с эталонным геномом листериозного бактериофага. Наиболее близким по гомологии оказался геном *Listeria phage LP-083-2*. Результаты представлены на рисунках 1-2.

На основании генетических данных был проведен анализ протеома бактериофага *Listeria phage FLm4*. Результаты соответствия генома и протеома (на основе генетического кода

аминокислот, характерного для бактерий и вирусов) представлены на рисунке 3 и в таблице 1.

Каждый из выявленных протеомных компонентов *Listeria phage FLm4* был сопоставлен с аналогами и составлено его филогенетическое картирование для поиска подобия возможных локусов патогенности.

По проведенным исследованиям генетического и протеомного картирования *Listeria phage FLm4* локусов патогенности не выявлено.

#### Выводы

При анализе полученных данных генетических и протеомных исследований бактериофага *Listeria phage FLm4* серии УлГАУ локусов патогенности не выявлено. Эти результаты подтверждают его оригинальность и безопасность, свидетельствуют о возможности его дальнейшего использования для разработки средства биоконтроля плодоовощной и другой готовой к употреблению продукции с целью увеличения сроков ее хранения и профилактики пищевых отравлений.

#### Библиографический список

1. Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on Salmonella population in final ground products / Y. Yeh [et al.] // Meat science. – 2017. – Т. 127. – С. 30-34.
2. Verma, D. K. Utilization of Bacteriophages Targeting *Listeria monocytogenes* in the Dairy and Food Industry / D. K. Verma, A. R. Patel, P. P. Srivastav // Bioprocessing Technology in Food and Health: Potential Applications and Emerging Scope. – Apple Academic Press, 2018. – С. 231-252.
3. Bacteriophage applications for fresh produce food safety / López- O. Cuevas [et al.] // International journal of environmental health research. – 2019. – С. 1-16. DOI: 10.1080/09603123.2019.1680819
4. Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods / M. N. Perera [et al.] // Food microbiology. – 2015. – Т. 52. – С. 42-48.
5. Liu, J. Efficacy of *Listeria Phage* in Reducing *Listeria monocytogenes* under Both Experimental and Food Processing Conditions / J. Liu. – 2018. P. – 55.
6. Environmental conditions and serotype affect *Listeria monocytogenes* susceptibility to phage treatment in a laboratory cheese model / L. O. Henderson [et al.] // Journal of dairy science. – 2019. – Т. 102, № 11. – С. 9674-9688.
7. Preservation of ready-to-eat salad: A study with combination of sanitizers, ultrasound, and essential oil-containing  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex / C. S. Marques [et al.] // LWT. – 2019. – Т. 115. – С. 108433.
8. Biopreservation approaches to reduce *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables / B. Ramos [et al.] // Food microbiology. – 2020. – Т. 85. – С. 103282.
9. Synthesis and Anti-*Listeria* Properties of Odorless Hybrid Bio-Based n-Phenolic Vegetable Branched-Chain Fatty Acids / H. Ngo [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2019. – Т. 96, № 10. – С. 1093-1101.
10. Role of biological control agents and physical treatments in maintaining the quality of fresh and minimally-processed fruit and vegetables / C. Leneveu-Jenvrin [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2019. – С. 1-19. DOI: 10.1080/10408398.2019.1664979
11. Moye, Z. D. Bacteriophage applications for food production and processing / Z. D. Moye, J. Woolston, A. Sulakvelidze // Viruses. – 2018. – Т. 10, № 4. – С. 205.
12. Biopreservation approaches to reduce *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables / B. Ramos [et al.] // Food microbiology. – 2020. – Т. 85. – С. 103282.
13. Sillankorva, S. M. Bacteriophages and their role in food safety / S. M. Sillankorva, H. Oliveira, J. Azeredo // International journal of microbiology. – 2012. – Т. 2012. DOI:10.1155/2012/863945
14. Sulakvelidze, A. Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens / A. Sulakvelidze // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2013. – Т. 93, № 13. – С. 3137-3146.
15. Evaluation of pulsed light for inactivation of foodborne pathogens on fresh-cut lettuce: Effects on quality attributes during storage / T. Tao [et al.] // Food Packaging and Shelf Life. – 2019. – Т. 21. – С. 100358.

## MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF LISTERIA FL.M 4 ULGAU BACTERIOPHAGE

**Suldina E.V., Mastilenko A.V., Feoktistova N.A., Vasiliev D.A.**  
**FSBEI HE Ulyanovsk State Agrarian University**  
**432017. Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1; 89374545651**  
**e-mail: e.suldina2006@yandex.ru**

*Key words:* Listeria, Listeria monocytogenes, listeria, listeriosis, foodborne pathogens, phage, bacteriophages, bacteria.

The article presents results of genomic and proteomic studies of listeriosis bacteriophage FL.m. 4 ULGAU. The studied phage possesses a number of biological properties necessary for a production advanced bacteriophage: high lytic activity (according to agar layer method by Grazia  $2.9 \pm 0.1 \times 10^{10}$  PFU / ml, according to Appelman 10-9), a wide spectrum of lytic activity (86.8%) and specificity. To confirm safety and original nature, FL.m. 4 ULGAU phage was sequenced and analyzed by genomic bioinformatics. The phage DNA genetic sequence thus obtained was compared with these genetic sequences presented in NCBI system. It was established that Listeria LP-083-2 phage gene turned out to be closest in homology. Based on genetic studies, the proteome of Listeria phage FLm4 bacteriophage was analyzed and its chart was compiled in accordance with the annotated genomes of bacteria and viruses based on triplet coding of amino acids. Each of the identified 109 proteomic components of Listeria phage FLm4 was compared with analogues and its phylogenetic mapping was compiled to look for similarities of possible pathogenicity loci. When analyzing the data of genetic and proteomic studies of bacteriophage Listeria phage FLm4 of ULGAU series, pathogenicity loci and their homologs were not detected. These results confirm its originality and safety and indicate the possibility of its further usage as a means of treating fruit and vegetable and other ready-to-eat products in order to increase storage life and prevent food poisoning.

### Bibliography

1. Bacteriophage application on red meats and poultry: Effects on Salmonella population in final ground products / Y. Yeh [et al.] // Meat science. – 2017. – T. 127. – C. 30-34.
2. Verma, D. K. Utilization of Bacteriophages Targeting Listeria monocytogenes in the Dairy and Food Industry / D. K. Verma, A. R. Patel, P. P. Srivastav // Bioprocessing Technology in Food and Health: Potential Applications and Emerging Scope. – Apple Academic Press, 2018. – C. 231-252.
3. Bacteriophage applications for fresh produce food safety / López- O. Cuevas [et al.] // International journal of environmental health research. – 2019. – C. 1-16. DOI: 10.1080/09603123.2019.1680819
4. Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates Listeria monocytogenes contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods / M. N. Perera [et al.] // Food microbiology. – 2015. – T. 52. – C. 42-48.
5. Liu, J. Efficacy of Listeria Phage in Reducing Listeria monocytogenes under Both Experimental and Food Processing Conditions / J. Liu. – 2018. P. – 55.
6. Environmental conditions and serotype affect Listeria monocytogenes susceptibility to phage treatment in a laboratory cheese model / L. O. Henderson [et al.] // Journal of dairy science. – 2019. – T. 102, № 11. – C. 9674-9688.
7. Preservation of ready-to-eat salad: A study with combination of sanitizers, ultrasound, and essential oil-containing  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex / C. S. Marques [et al.] // LWT. – 2019. – T. 115. – C. 108433.
8. Biopreservation approaches to reduce Listeria monocytogenes in fresh vegetables / B. Ramos [et al.] // Food microbiology. – 2020. – T. 85. – C. 103282.
9. Synthesis and Anti-Listeria Properties of Odorless Hybrid Bio-Based n-Phenolic Vegetable Branched-Chain Fatty Acids / H. Ngo [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 2019. – T. 96, № 10. – C. 1093-1101.
10. Role of biological control agents and physical treatments in maintaining the quality of fresh and minimally-processed fruit and vegetables / C. Leneveu-Jenvrin [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2019. – C. 1-19. DOI: 10.1080/10408398.2019.1664979
11. Moye, Z. D. Bacteriophage applications for food production and processing / Z. D. Moye, J. Woolston, A. Sulakvelidze // Viruses. – 2018. – T. 10, № 4. – C. 205.
12. Biopreservation approaches to reduce Listeria monocytogenes in fresh vegetables / B. Ramos [et al.] // Food microbiology. – 2020. – T. 85. – C. 103282.
13. Sillankorva, S. M. Bacteriophages and their role in food safety / S. M. Sillankorva, H. Oliveira, J. Azeredo // International journal of microbiology. – 2012. – T. 2012. DOI:10.1155/2012/863945
14. Sulakvelidze, A. Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens / A. Sulakvelidze // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2013. – T. 93, № 13. – C. 3137-3146.
15. Evaluation of pulsed light for inactivation of foodborne pathogens on fresh-cut lettuce: Effects on quality attributes during storage / T. Tao [et al.] // Food Packaging and Shelf Life. – 2019. – T. 21. – C. 100358.