

АНАЛИЗ ПРОТЕОМА ПРОТЕЙНОГО БАКТЕРИОФАГА

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»

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

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

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

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: *Proteus*, бактериофаг, протеомный анализ, сиквенс, белок, молекулярная масса.

В статье представлены результаты изучения протеомного анализа бактериофага протейного Pr – 6 УГСХА (изучение аминокислотной последовательности протеинов, их качественного и количественного составов, изоэлектрической точки белков, молекулярного веса), выделенного и селекционированного в 2017 году из объектов внешней среды по показателям специфичности и литической активности. В экспериментах были использованы ресурсы систем SnapGene Viewer v.4.1.7 и ExPasy (<https://web.expasy.org>) и метод вертикального электрофореза в ПААГ. Анализ профилограмм был проведен с использованием программного обеспечения GelAnalyzer 2010. В результате проведенных исследований были сопоставлены данные протеомного анализа на основании проведенного сиквенса и электрофореза в ПААГ. Установлено, что качественный состав протеинов бактериофага Pr – 6 УГСХА соответствует таковому у аннотированных аналогов, имеет четкие гомологии нуклеотидного и аминокислотного наборов. При анализе протеома бактериофага Pr – 6 УГСХА и, соответственно, данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 140 кДа. При разделении выделенных и сконцентрированных белков фага в ПААГ методом вертикального электрофореза для *Proteusphage Pr – 6 УГСХА* было выявлено 3 белка (67 кДа, 77 кДа и 94 кДа). Полученные данные о геноме бактериофага Pr – 6 УГСХА, специфичного для бактерий рода *Proteus*, вызывающих зоонозные инфекции, приближает нас к созданию фаговых терапевтических препаратов нового поколения, приспособленных для парентерального введения, обладающих заданными параметрами фармакокинетики и соответствующих современным стандартам биобезопасности.

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

Опираясь на литературные данные, можно утверждать, что в тонком кишечнике молодняка сельскохозяйственных животных и птицы в хозяйствах, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям, бактерий рода *Proteus* регистрируется примерно 20-50 % случаев [1-2].

Разработка экологически чистых и эффективных терапевтических средств для диагностики, лечения и профилактики бактериальных инфекций, вызываемых бактериями рода *Proteus*, включает поиск и селекцию специфических бактериофагов, на основе которых и может быть сконструирован новый биопрепарат [3-6].

Интерес к изучению бактериофагов поддерживается, помимо фундаментальных аспектов, возможностью их применения в качестве медицинских препаратов. В последние 20 лет стремительный рост числа и разнообразия штаммов

патогенных микроорганизмов, устойчивых к низкомолекулярным антибиотикам, стимулировал поиск альтернативных методов лечения и контроля бактериальных инфекций. Для максимально эффективного и научно обоснованного применения бактериофагов в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и аквакультурах требуется глубокое их изучение и систематизация на генном уровне, а также высокая степень очистки применяемых фаговых препаратов. Аналогичные исследования в области изучения протеома бактерий и специфичных им бактериофагов представлены в ряде публикаций зарубежных и отечественных ученых [7-14].

Цель работы – проведение протеомного анализа бактериофага протейного Pr – 6 УГСХА (изучение аминокислотной последовательности протеинов, их качественного и количественного составов, изоэлектрической точки белков, молеку-

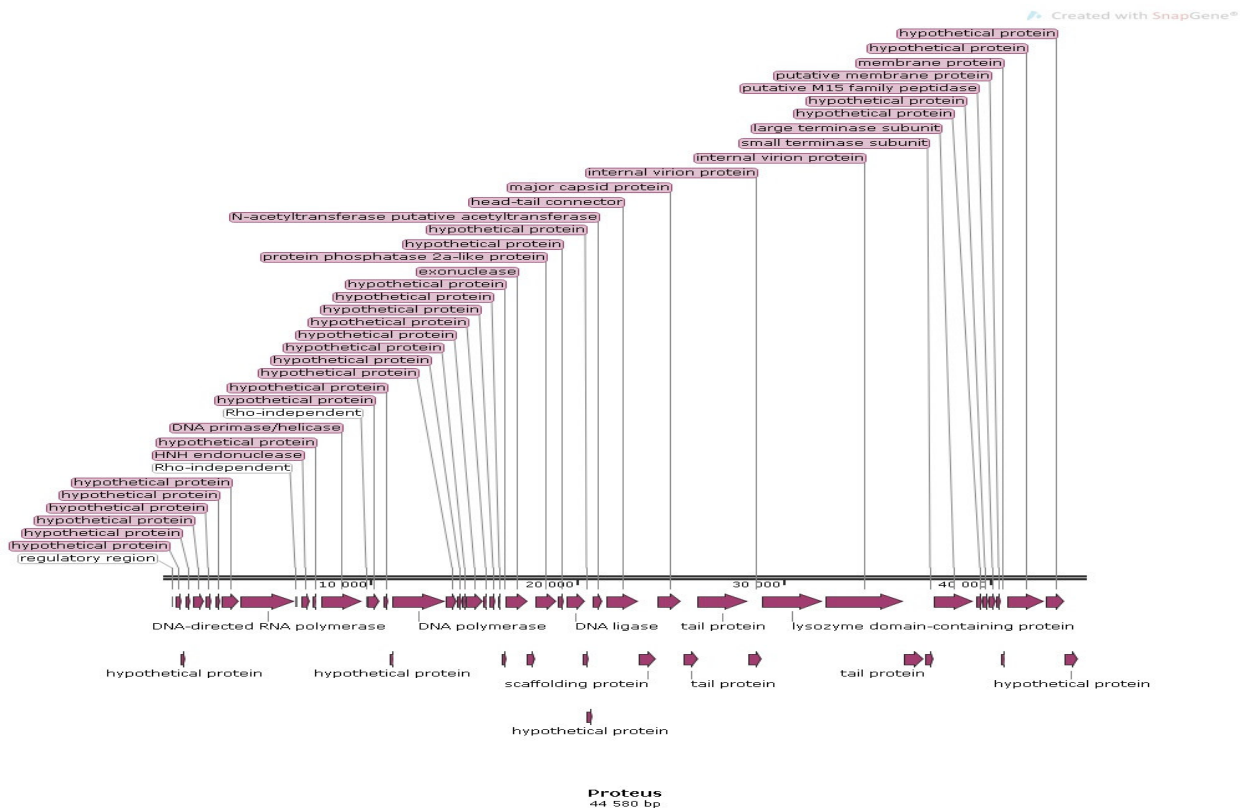


Рис. 1 - Карта линейной ДНК бактериофага Proteusphage Pr – 6 УГСХА с расшифровкой кодирующих областей генома

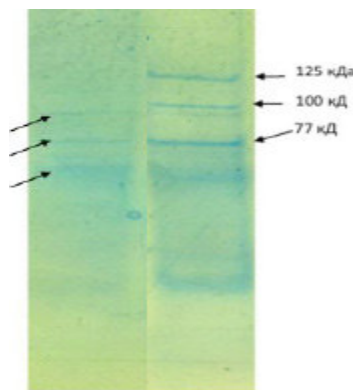


Рис. 2 - Профилограмма протеома бактериофага Proteusphage Pr – 6 УГСХА и ее сравнение с маркером

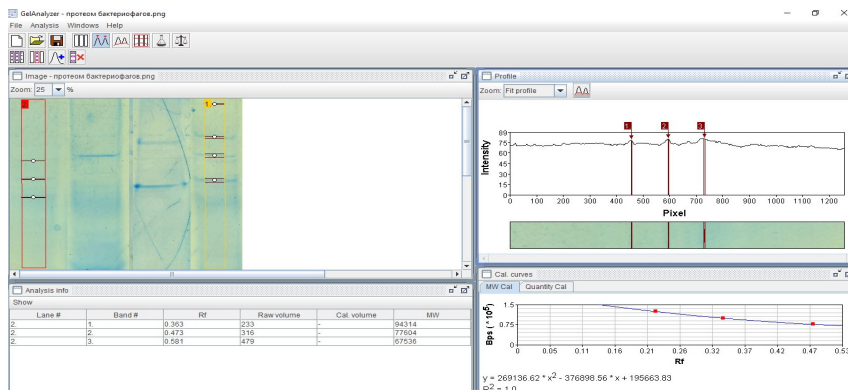


Рис. 3 - Анализ протеома бактериофага Proteusphage Pr – 6 УГСХА

лярного веса).

Объекты и методы исследований

Объект исследования – бактериофаг Pr – 6 УГСХА, выделенный в 2017 году коллективом авторов из объектов внешней среды, имеющий следующие характеристики – диаметр бляшкообразующих единиц – $0,5 \pm 0,1$ мкм, титр по Грациа – $1,3 \pm 0,2 \times 10^9$ БОЕ/мл, титр по Аппельману – 10^8 , устойчив к воздействию трихлорметана в течение 15 минут и специфичен для культур *Proteus mirabilis* и *Proteus vulgaris*, выделенных из патологического материала и объектов санитарного надзора живот-

новодческих и птицеводческих помещений из хозяйств, неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям в 2016-2017 гг. [15-17].

Для протеомного анализа нами были использованы ресурсы систем SnapGene Viewer v.4.1.7 и ExPasy (<https://web.expasy.org>), был проведен анализ бактериофага Pr – 6 УГСХА, активного в отношении бактерий *Proteus*, и даны физико-химические характеристики каждого из белков в их составе.

Для анализа белковых профилограмм выделенного бактериофага Pr – 6 УГСХА нами был

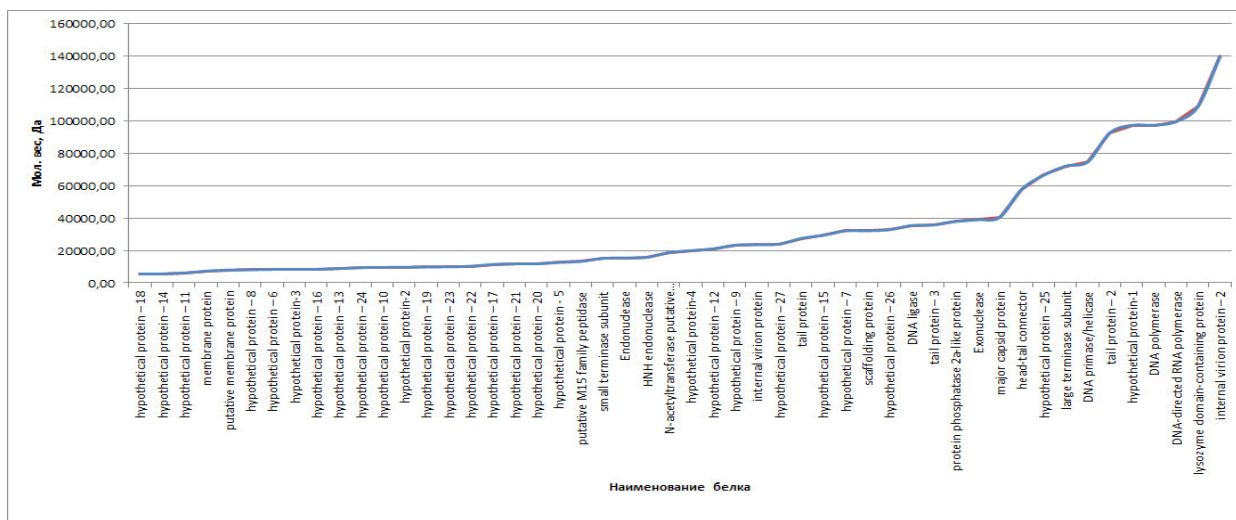


Рис. 4 - График распределения белкового состава Proteusphage Pr – 6 УГСХА по молекулярной массе

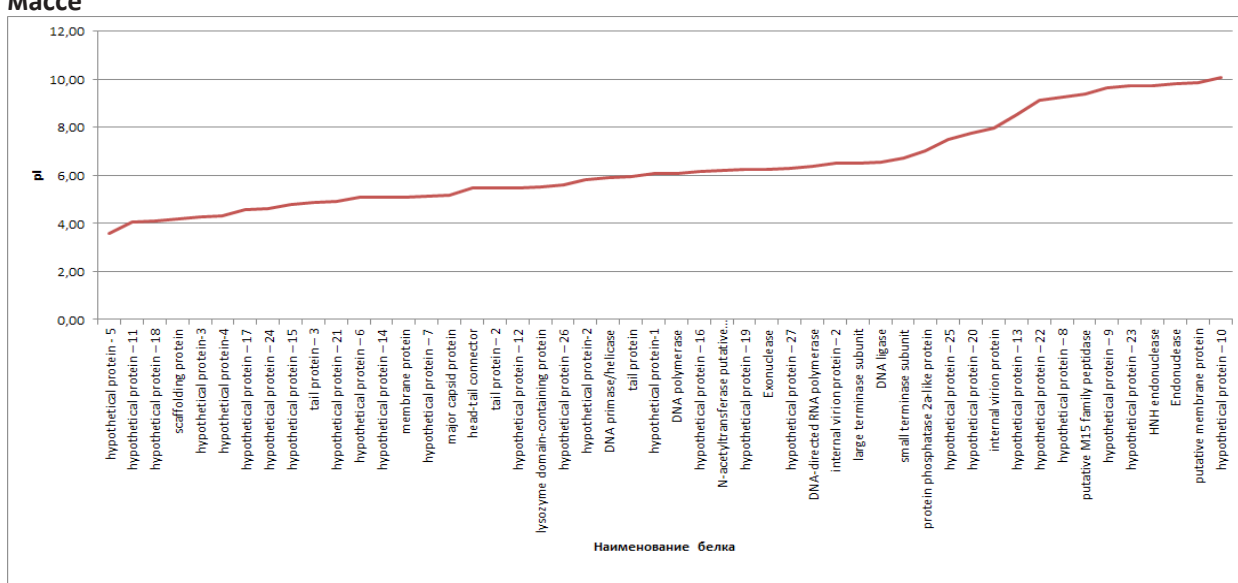


Рис. 5 - График распределения белкового состава Proteusphage Pr – 6 УГСХА по изоэлектрической точке (pI)

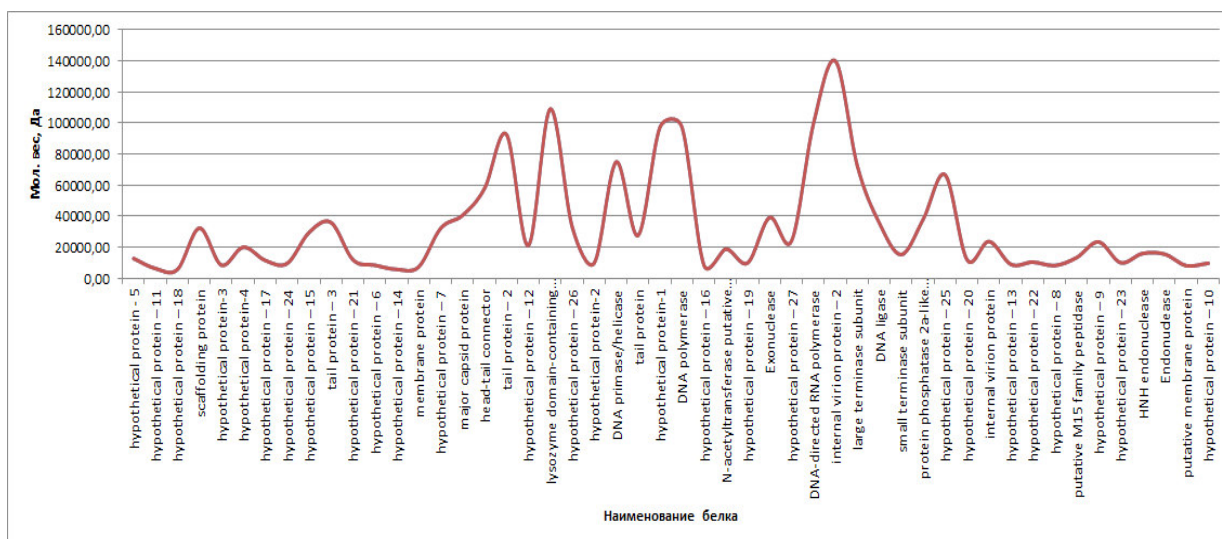


Рис. 6 - График распределения белкового состава Proteusphage Pr – 6 УГСХА по молекулярной массе в зависимости от pI

Локализация белков в геноме Proteusphage

Sequence: Proteus.gb (Linear / 44 580 bp)

Features: 54 total















































































































Feature	Location	Size			Type
source	1 .. 44 580	44 580 bp			source
✓ regulatory region	403 .. 422	20 bp			regulatory
✓ hypothetical protein	607 .. 882	276 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	845 .. 1096	252 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	1096 .. 1305	210 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	1463 .. 1963	501 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	2028 .. 2357	330 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	2536 .. 2754	219 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	2825 .. 3670	846 bp			CDS hypothetical protein
✓ DNA-directed RNA polymerase	3744 .. 6371	2628 bp			CDS
✓ Rho-independent	6383 .. 6424	42 bp			regulatory
✓ HNH endonuclease	6674 .. 7087	414 bp			CDS HNH endonuclease
✓ hypothetical protein	7219 .. 7437	219 bp			CDS hypothetical protein
✓ DNA primase/helicase	7647 .. 9635	1989 bp			CDS
✓ Rho-independent	9815 .. 9858	44 bp			regulatory
✓ hypothetical protein	9883 .. 10 494	612 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	10 636 .. 10 887	252 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	10 951 .. 11 115	165 bp			CDS hypothetical protein
✓ DNA polymerase	11 099 .. 13 651	2553 bp			CDS DNA polymerase
✓ hypothetical protein	13 690 .. 14 235	546 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	14 238 .. 14 468	231 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	14 487 .. 14 642	156 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	14 655 .. 15 461	807 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	15 465 .. 15 689	225 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	15 792 .. 16 115	324 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	16 187 .. 16 339	153 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	16 406 .. 16 651	246 bp			CDS hypothetical protein
✓ exonuclease	16 597 .. 17 631	1035 bp			CDS exonuclease
✓ endonuclease	17 616 .. 18 026	411 bp			CDS endonuclease
✓ protein phosphatase 2a-like p...	18 019 .. 19 026	1008 bp			CDS
✓ hypothetical protein	19 097 .. 19 402	306 bp			CDS hypothetical protein
✓ DNA ligase	19 497 .. 20 438	942 bp			CDS DNA ligase
✓ hypothetical protein	20 314 .. 20 625	312 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	20 498 .. 20 761	264 bp			CDS hypothetical protein
✓ N-acetyltransferase putative...	20 761 .. 21 255	495 bp			CDS
✓ head-tail connector	21 436 .. 22 986	1551 bp			CDS head-tail connector
✓ scaffolding protein	22 986 .. 23 867	882 bp			CDS scaffolding protein
✓ major capsid protein	23 941 .. 25 053	1113 bp			CDS
✓ tail protein	25 182 .. 25 910	729 bp			CDS tail protein
✓ tail protein	25 852 .. 28 317	2466 bp			CDS tail protein
✓ internal virion protein	28 317 .. 28 994	678 bp			CDS
✓ lysozyme domain-containing p...	29 003 .. 31 954	2952 bp			CDS
✓ internal virion protein	32 022 .. 35 843	3822 bp			CDS
✓ tail protein	35 843 .. 36 802	960 bp			CDS tail protein
✓ small terminase subunit	36 870 .. 37 292	423 bp			CDS
✓ large terminase subunit	37 292 .. 39 190	1899 bp			CDS
✓ hypothetical protein	39 357 .. 39 632	276 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	39 644 .. 39 913	270 bp			CDS hypothetical protein
✓ putative M15 family peptidase	39 923 .. 40 276	354 bp			CDS
✓ putative membrane protein	40 303 .. 40 527	225 bp			CDS
✓ membrane protein	40 520 .. 40 717	198 bp			CDS membrane protein
✓ hypothetical protein	40 831 .. 42 675	1845 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	42 734 .. 43 606	873 bp			CDS hypothetical protein
✓ hypothetical protein	43 606 .. 44 250	645 bp			CDS hypothetical protein

Таблица 2

Протеомный состав бактериофага *Pr – 6*

УГСХА

Наименование	Мол. Масса, Да	pI
DNA ligase	35410	6,57
DNA polymerase	97367	6,09
DNA primase/helicase	74770	5,92
DNA-directed RNA polymerase	99625	6,38
Endonuclease	15439	9,82
Exonuclease	39003	6,27
head-tail connector	57724	5,48
HNH endonuclease	15818	9,74
hypothetical protein – 1	97367	6,09
hypothetical protein – 10	9551	10,06
hypothetical protein – 11	6135	4,04
hypothetical protein – 12	20960	5,49
hypothetical protein – 13	8786	8,54
hypothetical protein – 14	5587	5,11
hypothetical protein – 15	29386	4,79
hypothetical protein – 16	8410	6,16
hypothetical protein – 17	11408	4,57
hypothetical protein – 18	5538	4,12
hypothetical protein – 19	9808	6,27
hypothetical protein – 2	9677	5,81
hypothetical protein – 20	11778	7,74
hypothetical protein – 21	11748	4,94
hypothetical protein – 22	10275	9,15
hypothetical protein – 23	9892	9,74
hypothetical protein – 24	9419	4,61
hypothetical protein – 25	66538	7,51
hypothetical protein – 26	32842	5,60
hypothetical protein – 27	23953	6,28
hypothetical protein – 3	8340	4,28
hypothetical protein – 4	19922	4,32
hypothetical protein – 5	12585	3,59
hypothetical protein – 6	8298	5,09
hypothetical protein – 7	32074	5,12
hypothetical protein – 8	8060	9,27
hypothetical protein – 9	23289	9,65
internal virion protein	23624	7,97
internal virion protein – 2	139867	6,49
large terminase subunit	72173	6,50
lysozyme domain-containing protein	108926	5,52
major capsid protein	40443	5,18
membrane protein	7245	5,11
N-acetyltransferase putative acetyltransferase	18741	6,20
protein phosphatase 2a-like protein	37886	7,04
putative M15 family peptidase	13215	9,39
putative membrane protein	7982	9,86
scaffolding protein	32160	4,17
small terminase subunit	15141	6,72
tail protein	27466	5,94
tail protein – 2	92577	5,48
tail protein – 3	35803	4,87

использован метод вертикального электрофореза в ПААГ. Анализ профилограмм был проведен с использованием программного обеспечения GelAnalyzer 2010.

Для начала необходимо было получить максимально возможную бактериофаговую массу для достаточной визуальной детекции после электрофореза. Бактериальную массу культивировали в течение 24 часов на жидких питательных средах. Затем были внесены выделенные бактериофаги в титре 10^9 БОЕ/мл в количестве 1,0 мл на 10 мл бактериальной культуры соответственно изучаемому виду. Культивировали в течение 48 часов при 37 °С в аэробных условиях и достаточной влажности. Затем часть аликвоты культуры *Pr. vulgaris 28* [17] с бактериофагом *Pr – 6* УГСХА были исследованы методом агаровых слоев по Грациа для подтверждения титра фагов, а часть – использована для получения белков бактериофагов.

Для выделения и концентрирования белков бактериофага *Pr – 6* УГСХА культуральную жидкость центрифугировали 20 минут при 3000 об/мин (Centrifuge type MPW-310, Польша). Надосадочную жидкость, содержащую бактериофаги, переносили в чистую пробирку в количестве 5,0 мл и подвергали ультразвуковой дезинтеграции при режиме 10 микрон с трехкратным подходом по 60 секунд. Затем в смесь вносили 5,0 мл насыщенного раствора сульфата аммония. Все манипуляции проводили на холоде. Смесь инкубировали в течение 1 часа при 4-8 °С, а затем белки осаждали при 10000 об/мин в течение 30 минут (Centrifuge type MPW-310, Польша). Надосадочную жидкость удаляли под визуальным контролем наличия осадка. Осадок растворяли в 100 мкл буфера для электрофореза. Крупные конгломераты нерастворимых фракций белков и детрита осаждали при 3000 об/мин в течение 1 минуты (Centrifuge type MPW-310, Польша).

Выделенные и сконцентрированные таким образом белки были использованы для проведения вертикального электрофореза в ПААГ.

Режим электрофореза и концентрация ПААГ: 200 В, 60 мА, 30 минут, 4-20 % ПААГ, триглицериновый буфер с рН-8,6.

Результаты исследований

В результате проведенных исследований нами были сопоставлены данные протеомного анализа на основании проведенного сиквенса и электрофореза в ПААГ. На рис. 1 представлена профилограмма протеомов выделенного протейного бактериофага при разделении их в ПААГ. Для *Proteusphage* было выявлено 3 белка (67 кДа, 77 кДа и 94 кДа) (рис. 2-3).

При анализе протеома бактериофага *Proteus*

соответственно данным секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 140 кДа. Качественный протеомный состав *Proteusphage* представлен в таблицах 1-2 и рисунках 4-6.

Выводы

В результате проведенных исследований были получены сиквенсовые данные генома бактериофага *Pr – 6* УГСХА, выделенного из объектов внешней среды и селекционированного (по определенным биологическим свойствам: литической активности, специфичности и спектру литического действия), и была составлена карта линейной ДНК с расшифровкой кодирующих областей генома.

Данные нуклеотидных последовательностей протейного бактериофага, полученные при его секвенировании, позволили нам провести сравнительный анализ их геномов (таблица 1). Установлено, что качественный состав протеинов бактериофага *Pr – 6* УГСХА соответствует таковым у аннотированных аналогов, имеет четкие гомологии нуклеотидного и аминокислотного наборов. В структуре протеинов выявлена закономерность, присущая бактериофагам – наличие структурных и неструктурных компонентов. Определены продукты генов, не имеющие четко определенных функциональных характеристик – гипотетические белки, которые имеют аналогии в аннотированных геномах бактериофагов, активных в отношении бактерий рода *Proteus*. Однако исследование биологических свойств бактериофагов включает в себя также их протеомный анализ. При анализе протеома бактериофага *Pr – 6* УГСХА - данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 50 белков с молекулярными массами от 5,5 до 140 кДа (рисунок 4-6). При разделении выделенных и сконцентрированных белков фага в ПААГ методом вертикального электрофореза для *Proteusphage* было выявлено 3 белка (67 кДа, 77 кДа и 94 кДа) (рисунок 2-3).

Полученные данные о геноме бактериофага *Pr – 6* УГСХА, специфичного для бактерий рода *Proteus*, вызывающих зоонозные инфекции, приближают нас к созданию фаговых терапевтических препаратов нового поколения, приспособленных для парентерального введения, обладающих заданными параметрами фармакокинетики и соответствующих современным стандартам биобезопасности.

Библиографический список

1. О действии подкислителей на микрофлору желудочно-кишечного тракта телят / О.Ж.

Хапцева, З.Ю. Хапцев, Е.А. Фауст, О.С. Ларионова, А.А. Щербаков // Научная жизнь. - 2015. - № 2. - С. 103-109.

2. Формирование кишечного микробиоценоза у телят с синдромом гипотрофии в молочный период / А.Г. Шахов, Л.Ю. Сашнина, Д.В. Федосов, Т.Е. Ерина, Ю.Н. Алехин // Сельскохозяйственная биология. - 2014. - № 2. - С. 105-111.

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. Чугунова, О.Е. Изучение свойств протейных фагов / О.Е. Чугунова, Н.А. Татарникова // Пермский аграрный вестник. - № 3(15). – 2016. – С. 108-122.

5. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных / С.Н. Золотухин. – Ульяновск: Копиринг, 2004. – 130с.

6. Эпидемиология, клиника и лабораторная диагностика бактериальных и вирусных диарей / В.Б. Сбойчаков, С.М. Захаренко, Ю.П. Финогеев, В.Ф. Крумгольц // Лечение и профилактика. - 2012. - № 3. - С. 77-81.

7. 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. – Москва, 2013. – 169с.

8. Нестабильность генома фагов вида *EL Pseudomonas aeruginosa*: исследование мутантов, проявляющих вирулентность / С.В. Крылов, Е.А. Плетенева, М.В. Буркальцева, О.В. Шабурова, К.А. Мирошников, Р. Лавинь, А. Корнелиссен, В.Н. Крылов // Генетика. - 2011. - Том 47, № 2. - С. 183-189.

9. Crystal structure and location of gpI31 in the bacteriophage phiKZ virion / L.V. Sycheva, M.M. Shneider, N.N. Sykilinda, M.A. Ivanova, K.A. Miroshnikov, P.G. Leiman // Virology. – 2012. - Vol. 434. - P.257-265.

10. Jungblut, P. R. Proteomics of microbial pathogens / P. R. Jungblut, M. Hecker // Proteomics. - 2004. - Vol. 4, № 10. - P.2829–2830.

11. Polyphasic analysis of strains of the genus *Capnocytophaga* and Centers for Disease Control group DF-3 / P. Vandamme, M. Vancanneyt, A. van Belkum [et al.] // Int. J. Syst. Bacteriol. - 1996. - Vol. 46, № 3. - P. 782-791.

12. Cash, P. Proteomics in the study of the molecular taxonomy and epidemiology of bacterial pathogens / P. Cash // Electrophoresis. - 2009. - Vol. 1. - P. 133-141.

13. Tiwari, V. Quantitative proteomics to study carbapenem resistance in *Acinetobacter bau-*

mannii / V. Tiwari, M. Tiwari // Front. Microbiol. - 2014. - Vol. 5, № 512. – P.1-7.

14. Integrated microanalytical technology enabling rapid and automated protein identification / S. Ekström, P. Onnerfjord, J. Nilsson et al. // Anal. Chem. – 2000. – Vol. 72, № 2. – P. 286-293.

15. 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.

16. Феоктистова, Н.А. Изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017 - № 3(39). – С. 99-105.

17. Васильев, Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus* / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. - № 2 (38). – С. 70-76.

ANALYSIS OF THE PROTEOME OF PROTEUS BACTERIOPHAGE

Feoktistova N.A., Vasiliev D.A., Mastilenko A.V., Suldina E.V.
FSBEI HE Ulyanovsk SAU

432017, Ulyanovsk, Novyy Venets Boulevard, 1; 8 (8422) 55-95-47
e-mail: feokna@yandex.ru

Key words: Proteus, bacteriophage, proteomic analysis, sequence, protein, molecular weight

The article presents results of proteomic analysis of Proteus bacteriophage Pr - 6 UGSKHA (the study of amino acid sequence of proteins, their qualitative and quantitative compositions, the isoelectric point of proteins, molecular weight) isolated and selected in 2017 from environmental objects by specificity parameters and lytic activity. SnapGene Viewer v.4.1.7 and ExPasy systems (<https://web.expasy.org>) and the method of vertical polyacrylamid gel electrophoresis were used in the experiments. The analysis of profilograms was carried out with application of the software GelAnalyzer 2010. The data of proteomic analysis were compared on the basis of the performed sequencing and polyacrylamid gel electrophoresis. It was established that the qualitative composition of proteins of the bacteriophage Pr - 6 UGSKHA corresponds to those of the announced analogues, it has clear homology of nucleotide and amino acid sets. When analyzing the proteome of Pr - 6 UGSKHA bacteriophage and the sequencing of its nucleic acid, 50 proteins with molecular weight from 5.5 to 140 kDa were detected. When isolated and concentrated phage proteins were separated by polyacrylamid gel electrophoresis, by means of vertical electrophoresis for Proteusphage Pr-6 UGSKHA, three protein (67 kDa, 77 kDa and 94 kDa) were detected. The obtained data on the genome of Pr - 6 UGSKHA bacteriophage specific for bacteria of Proteus genus, which cause zoonotic infections, brings us closer to development of new generation phage therapeutic medications, adapted for parenteral infusion, which possess pharmacokinetics parameters and correspond to current standards of biosafety.

Bibliography

1. About the effect of acidulants on the microflora of the gastrointestinal tract of calves / O.Zh. Khaptseva, Z.Yu. Khaptsev, E.A. Faust, O.S. Larionova, A.A. Shcherbakov // Scientific life. - 2015. - No. 2. - P. 103-109.
2. Formation of intestinal microbiocenosis of calves with a hypotrophy syndrome in the dairy period / A.G. Shakhov, L.Yu. Sashnina, D.V. Fedosov, T.E. Erina, Yu.N. Alekhin // Agricultural Biology. - 2014. - No. 2. - P. 105-111.
3. Nifontova, V.V. Isolation of bacteriophages and their application in veterinary medicine // V.V. Nifontova, O.E. Chugunova // Vestnik of Perm Scientific Center. - No. 2. - 2015. - P. 54-59.
4. Chugunova, O.E. The study of properties of Proteus phages / O.E. Chugunova, N.A. Tatarnikova // Perm Agrarian vestnik. - No. 3 (15). - 2016. - P. 108-122.
5. Zolotukhin, S.N. Little studied enterobacteria and their role in the pathology of animals / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk: Copyring, 2004. – 130p.
6. Epidemiology, clinic and laboratory diagnostics of bacterial and viral diarrhea / V.B. Sboychakov, S.M. Zakharenko, Yu.P. Finogeev, V.F. Krummholz // Treatment and prevention. - 2012. - No. 3. - P. 77-81.
7. Miroshnikov, Konstantin Anatolievich. Genomics and proteomics of lytic bacteriophages *Pseudomonas aeruginosa*: author's abstract of dissertation of Doctor of Chemical Sciences: 03.01.04, 03.01.06 / K.A. Miroshnikov. - Moscow, 2013. – 169p.
8. Genome instability of the phages of EL *Pseudomonas aeruginosa* genus: a study of mutants, which exhibit virulence / S.V. Krylov, E.A. Pleteneva, M.V. Burkaltseva, O.V. Shaburova, K.A. Miroshnikov, R. Lavin, A. Kornelissen, V.N. Krylov // Genetics. - 2011. - Volume 47, No. 2. - P. 183-189.
9. Crystal structure and location of gpl31 in the bacteriophage phiK2 virion / L.V. Sycheva, M.M. Shneider, N.N. Sykilinda, M.A. Ivanova, K.A. Miroshnikov, P.G. Leiman // Virology. - 2012. - Vol. 434. - P.257-265.
10. Jungblut, P. R. Proteomics of microbial pathogens / P. R. Jungblut, M. Hecker // Proteomics. - 2004. - Vol. 4, No. 10. - P.2829-2830.
11. Polyphasic analysis of strains of the genus *Capnocytophaga* and Centers for Disease Control group DF-3 / P. Vandamme, M. Vancanneyt, A. van Belkum [et al.], Int. J. Syst. Bacteriol. - 1996. - Vol. 46, No. 3. - P. 782-791.
12. Cash, P. Proteomics in the study of the molecular taxonomy and epidemiology of bacterial pathogens / P. Cash // Electrophoresis. - 2009. - Vol. 1. - P. 133-141.
13. Tiwari, V. Quantitative proteomics to study carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* / V. Tiwari, M. Tiwari // Front. Microbiol. 2014. Vol. 5, No. 512. - R.1-7.
14. Integrated microanalytical technology enabling rapid and automated protein identification / S. Ekström, P. Onnerfjord, J. Nilsson et al. // Anal. Chem. - 2000. - Vol. 72, No. 2. - P. 286-293.
15. Feoktistova, N.A. Proteus bacteriophages: the study of some biological properties / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2017 - No. 4 (40). - P. 75-80.
16. Feoktistova, N.A. Study of biological properties of bacteriophages of Proteus genus / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, S.N. Zolotukhin // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2017 - No. 3 (39). - P. 99-105.
17. Vasiliev, D.A. Isolation and study of biological properties of bacteria of Proteus genus / D.A. Vasilevna, N.A. Feoktistova, S.N. Zolotukhin // Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy. - 2017. - No. 2 (38). - P. 70-76.