

Т. А. Пилипчук, Л. Н. Валентович, М. А. Титок, член-корреспондент Э. И. Коломиец

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ФАГА PF-10

В результате анализа полной нуклеотидной последовательности бактериофага Pf-10, входящего в состав биоpestицида «Мультифаг», установлено, что его геном является уникальным и состоит из фрагмента ДНК фага широкого круга хозяев Phi-S1, в пределах которого локализованы детерминанты, определяющие синтез ранних белков, и фрагмента ДНК фага узкого круга хозяев phiIBB-PF7A, содержащего гены, детерминирующие синтез поздних белков. Низкая гомология отдельных генетических детерминант и кодируемых ими аминокислотных последовательностей (в частности, генов, определяющих синтез белков отростка) с таковыми фагов Phi-S1 или phiIBB-PF7A свидетельствует о мутационных изменениях, возникших в процессе становления фагового генома Pf-10 и способных повлиять на его жизненно важные функции.

Ключевые слова: открытая рамка считывания, геном, бактериофаг, *Pseudomonas*.

T. A. Pilipchuk, L. N. Valentovich, M. A. Titok, Corresponding Member E. I. Kolomiets

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

PECULIARITIES OF MOLECULAR-GENETIC STRUCTURE OF PHAGE PF-10

The analysis of a full nucleotide sequence of bacteriophage Pf-10 as a key constituent of biopesticide “Multiphage” has revealed that its unique genome is composed of a DNA fragment of broad range host phage Phi-S1, where the determinants governing the synthesis of early proteins are localized, and of the DNA fragment of narrow range host phage phiIBB-PF7A containing the genes responsible for the synthesis of late proteins. Low homology of individual genetic determinants and encoded amino acid sequences (namely, the genes determining the synthesis of tail proteins) with those of phages Phi-S1 or phiIBB-PF7A evidences the mutations that emerge in the course of the phage Pf-10 genome formation and are capable to affect its vital important functions.

Keywords: open reading frame, genome, bacteriophage, *Pseudomonas*.

Введение. Повсеместно циркулирующие в природной среде обитания бактериофаги характеризуются большим разнообразием, что позволяет им быстро приспосабливаться к изменяющимся условиям внешней среды. В результате мутаций и рекомбинаций генетического материала они способны эффективно противостоять иммунной системе бактерий-хозяев. В частности, адсорбироваться на поверхностных структурах бактериальных клеток, избегать бактериальных систем рестрикции-модификации и CRISPR-Cas [1]. Тем самым они обеспечивают себе возможность размножаться и поддерживать определенную численность в естественных условиях существования. Единственное ограничение, которым наделены бактериофаги в природе, это специализированный круг бактериальных хозяев, в клетках которых они могут размножаться, вызывая их гибель.

Современные технологии позволяют быстро и практически в автоматическом режиме накапливать данные об особенностях генетической организации бактериофагов, сравнивать между собой их гены и кодируемые ими белки. Такая информация является абсолютно необходимой, поскольку ее систематизация, в конечном итоге, позволит понять механизмы, определяющие регуляцию численности бактерий в природной среде обитания, а также обеспечит целенаправленное использование бактериофагов при создании генетически паспортизированных биопрепаратов для борьбы с патогенными микроорганизмами.

Цель работы – анализ нуклеотидной последовательности генома бактериофага Pf-10, способного лизировать бактерии рода *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. fluorescens* и *P. syringae*) и входящего в состав биоpestицида «Мультифаг».

Материалы и методы исследования. Выделение фаговой ДНК. Фаголизат фильтровали (пропускали через фильтр с порами диаметром 0,22 мкм) и центрифугировали при 35000g.

Полученный осадок растворяли в ТЕ-буфере и обрабатывали препаратами ДНКазы I и РНКазы А в течение 30 мин при 37 °С (ферменты инактивировали путем добавления 0,5 М ЭДТА и температурной обработки при 65 °С в течение 10 мин). Из осажденных полиэтиленгликолем (M_n = 6000) и NaCl фаговых частиц выделяли ДНК с использованием набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Германия), согласно рекомендациям фирмы-изготовителя.

Определение нуклеотидной последовательности генома фага Pf-10. Библиотеку ДНК для секвенирования готовили при помощи набора Nextera XT (Illumina). Определение нуклеотидных последовательностей проводили на приборе MiSeq (Illumina), используя комплект реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina). Сиквенсы низкого качества удаляли с помощью программы Trimmomatic-0.32 [2]. Фрагменты ДНК размером от 50 до 300 нуклеотидов, содержащие менее 1 ошибки на 1000 нуклеотидов, собирали в единую нуклеотидную последовательность с помощью программы SPAdes-3.1.0 [3]. 5'-концевую последовательность фаговой ДНК определяли с помощью ДНК-анализатора LiCor4300 (США) при секвенировании по Сенгеру, для секвенирования 3'-терминального участка ДНК фага использовали праймер Pf-10-t (TGAGAATCATGTGCTATCTG).

Аннотирование нуклеотидной последовательности. Аннотация генетической последовательности проводилась с помощью программ PHIRE [4], BPROM [5], ARNold [6], SQ [7]. Графическое изображение генетической карты фага получали с помощью программы SnapGene Viewer 3.2.1, последовательности фаговых промоторов устанавливали с помощью программы WebLogo [8]. Нуклеотидная последовательность генома фага Pf-10 депонирована в ГенБанк NCBI (регистрационный номер KP025626).

Результаты и их обсуждение. Бактериофаг Pf-10, изолированный из листьев пораженного растения фасоли, способен лизировать широкий круг бактерий рода *Pseudomonas*. Данное свойство послужило основанием его использования в составе биопрепарата «Мультифаг» для борьбы с патогенными микроорганизмами, вызывающими заболевания сельскохозяйственных растений [9]. Для детальной характеристики бактериофага Pf-10 была определена нуклеотидная последовательность его генома. В результате сиквенс-анализа было установлено, что он относится к порядку *Caudovirales* семейству *Podoviridae*, подсемейству *Autographivirinae*, роду T7-подобных вирусов. В открытом доступе Международного банка данных NCBI на настоящий момент содержится информация о полных нуклеотидных последовательностях 41 вируса данной таксономической группы, способных лизировать клетки бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (29 фагов), *Vibrionaceae* (3 фага), *Xanthomonadaceae* (2 фага) и *Pseudomonadaceae* (7 фагов).

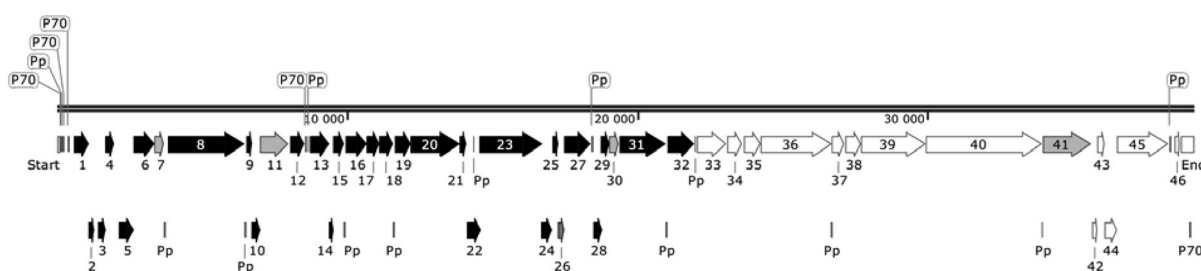
Прототипом этой многочисленной и разнообразной группы вирусов является фаг T7, секвенированный в 1982 г. и широко использующийся в генетической инженерии. Практически во всех известных экспрессионных векторах *Escherichia coli* применяются регуляторные последовательности, структурные гены и их фрагменты фага T7. В частности, промоторы и терминаторы, а также ген, кодирующий синтез РНК-полимеразы, и фрагмент гена 10, детерминирующий полипептид, содержащий гистидиновый тракт, эпитоп, часть из которого расщепляется энтерокиназой [10].

В последнее время вирулентные бактериофаги, способные эффективно регулировать численность патогенных микроорганизмов, в том числе антибиотикорезистентных, все чаще рассматриваются в качестве альтернативы антибиотикам в борьбе с инфекционными заболеваниями животных и растений. В этом плане особый интерес представляют представители группы T7-подобных вирусов, способные лизировать патогены животных (в частности, представителей родов *Salmonella*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Vibrio* и др.) и растений (в частности, представителей родов *Erwinia*, *Xanthomonas* и др.). Выявлены бактериофаги, лизирующие *Pseudomonas syringae* (патоген растений), а также *Pseudomonas plecoglossicida* и *Pseudomonas aeruginosa* (патогены животных) [11]. Особое положение занимают вирусы широкого круга хозяев. В настоящее время охарактеризован только один фаг Phi-S1 этой таксономической группы, способный лизировать разные виды бактерий рода *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa*, *P. fragii*, *P. taetrolens*, *P. convexa*, *P. mucidolens*, *P. ovalis*, *P. synxantha*) [12]. Исследованный в данной работе фаг Pf-10 также может быть причислен к вирусу широкого круга хозяев, поскольку способен размножаться в клетках бактерий разных таксономических групп (*P. putida*, *P. fluorescens*

и *P. syringae*). Наличие полной нуклеотидной последовательности фага Pf-10 позволило осуществить анализ его генома и сравнить молекулярно-генетическую организацию данного фага с другими представителями рода T7-подобных вирусов.

Геном фага Pf-10 представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 39167 п. н. (среднее содержание ГЦ-пар составляло 56 %), в составе которого идентифицировано 46 открытых рамок считывания, в том числе 26, определяющих синтез известных белков, 19 – гипотетических полипептидов, выявляемых в геномах близкородственных фагов и одна открытая рамка считывания (Pf_p26), детерминирующая небольшой уникальный полипептид размером 7,2 кДа, 67 аминокислотных остатков которого не имели сходства ни с одной известной аминокислотной последовательностью из базы данных NCBI (рисунок).

Выявленные детерминанты, входили в состав 10 оперонов и двух цистронов, транскрипция которых обеспечивалась регуляторными последовательностями, сходными с таковыми специфических фаговых промоторов, характерных для представителей T7-подобных вирусов (всего выявлено 13 специфических фаговых промоторов). Помимо фаговых промоторов выявлены регуляторные последовательности, характерные для бактериальных генов, узнавание которых обеспечивается базовой РНК-полимеразой, содержащей сигма 70 субъединицу. Следует отметить, что такого типа промоторные последовательности (3 промотора) присутствовали наряду с фаговыми промоторами (1 промотор) перед опероном, включающим 7 открытых рамок считывания, определяющих синтез белков с неизвестной функцией, 6 из которых (Pf_p1- Pf_p6) проявляли выраженную гомологию (содержали 94–99 % идентичных аминокислотных остатков) с таковыми фага Phi-S1. Только одна детерминанта, входящая последней в состав этого оперона (Pf_p7), значительно отличалась нуклеотидным составом (количество ГЦ-пар составило 61 %) и определяла синтез белка размером 13 кДа, аминокислотная последовательность которого имела только 77 и 59 % сходства с подобными полипептидами фагов phiIBB-PF7A и Phi-S1 соответственно. Предполагаемые белки, встречающиеся у близкородственных фагов этой таксономической группы, представляются весьма важными, поскольку начальные этапы клеточного цикла вируса в клетке бактерий до момента образования в достаточном количестве собственной РНК-полимеразы должны обеспечиваться продуктами генов, транскрипция которых осуществляется РНК-полимеразой клетки хозяина. Два промотора (один сигма 70 и один фаговый промотор) обеспечивали транскрипцию еще одного оперона (включал Pf_p13–Pf_p15), в составе которого обнаружен ген (Pf_p14), определяющий синтез белка ингибитора клеточной РНК-полимеразы (таблица). Безусловно, данный белок является ключевым при переключении синтетического аппарата клетки хозяина на транскрипцию фаговых белков. Данный маленький по размеру поли-



Генетическая карта фага Pf-10. Обозначения: Pp – специфический фаговый промотор; P70 – промотор, узнаваемый бактериальной РНК-полимеразой, содержащей фактор сигма 70; цифрами обозначены открытые рамки считывания; черным цветом выделены открытые рамки считывания, детерминирующие белки, сходные с таковыми фага Phi-S1; белым цветом выделены открытые рамки считывания, детерминирующие белки, сходные с таковыми фага phiIBB-PF7A; серым цветом выделены открытые рамки считывания, детерминирующие белки, имеющие гомологию с таковыми Phi-S1 или phiIBB-PF7A 90 % и менее. Открытая рамка считывания 26 детерминирует белок, не имеющий гомологии с известными

Map of genes of phage Pf-10. Nomenclature: Pp – specific phase promoter; P70 – promoter determined by bacteriophage DNA-polymerase containing the factor of sigma 70; the figures denote the open reading frames; black color show the open reading frames determining proteins similar to those of phase Phi-S1; white color shows the open reading frames determining proteins similar to those of phiIBB-PF7A; grey color shows the open reading frames having homology similar to that of Phi-S1 or phiIBB-PF7A 90 % and less. Open reading frame 26 determines protein having no homology with the known ones

пептид размером 4,9 кДа состоял из 44 аминокислотных остатков и был абсолютно идентичен таковому фага Phi-S1 (имел 100 % гомологии). Однако нуклеотидная последовательность гена, определяющего синтез данного полипептида, в значительной степени отличалась от гомологичной детерминанты фага Phi-S1 (идентичность составила 88 %). В связи с этим весьма примечательным является обнаруженный факт уменьшения числа сайтов рестрикции в пределах данной детерминанты (в частности, данный ген не содержал ни одного сайта рестрикции для известных рестриктаз бактерий *P. putida* и *P. fluorescens* и только один сайт разрезания мелкощепящей рестриктазой *PspN4I* бактерий *Pseudomonas sp.*). В целом из 654 известных рестриктаз 548 не обладали способностью разрезать данный ген, что, безусловно, делает его практически неуязвимым при попадании в определенные виды бактериальных клеток. В то же время близкородственный ген фага Phi-S1 (Pf_p16) имел 2 сайта узнавания для рестриктазы *PpuMI* бактерий *P. putida* и 2 сайта узнавания для рестриктазы *PspN4I* бактерий *Pseudomonas sp.* (в целом из 654 известных рестриктаз 528 не разрезали данный ген). На примере данной детерминанты хорошо прослеживается используемая фагами в природной среде обитания стратегия, приводящая к значительному изменению нуклеотидной последовательности без изменения аминокислотного состава кодируемого ею белка. В данном случае происходящие синонимические замены не являются нейтральными, а обеспечивают большое эволюционное преимущество, позволяющее избегать летального воздействия бактериальных систем рестрикции-модификации. Остальные детерминанты, входящие в состав этого оперона (Pf_p13 и Pf_p15) и определяемые ими полипептиды с неизвестной функцией, проявляли сходство с гомологичными нуклеотидными и аминокислотными

Генетические детерминанты фага Pf-10, определяющие синтез белков с известной функцией
Genetic determinants of phage Pf-10 determining the synthesis of proteins with the known function

Ген Gene	Сходство с известными фагами Similarity with known phages	Сходство гена, в % Gene similarity, %	Сходство белка Protein similarity		Предполагаемая функция белка Proposed protein function
			%	№ регистрации в ГенБанке NCBI Registration number in the Gene Bank of NCBI	
Pf_p08	Phi-S1	95	98	YP_007869887.1	ДНК-зависимая РНК-полимераза
Pf_p11	phiIBB-PF7A	90	90	YP_004306325.1	ДНК-лигаза
Pf_p14	Phi-S1	88	100	YP_007869893.1	Ингибитор бактериальной РНК-полимеразы
Pf_p16	Phi-S1	98	99	YP_007869895.1	Белок SSB
Pf_p17	Phi-S1	99	100	YP_007869896.1	Эндонуклеаза
Pf_p18	Phi-S1	96	100	YP_007869897.1	Лизозим/амидаза
Pf_p19	Phi-S1	98	99	YP_007869898.1	Нуклеотидил трансфераза
Pf_p20	Phi-S1	97	99	YP_007869899.1	Праймаза/хеликаза
Pf_p23	Phi-S1	97	99	YP_007869902.1	ДНК-полимераза
Pf_p27	Phi-S1	96	98	YP_007869905.1	Экзонуклеаза
Pf_p30	Phi-S1	86	89	YP_007869908.1	Белок отростка
Pf_p31	Phi-S1	95	99	YP_007869909.1	Белок, соединяющий головку с отростком
Pf_p32	Phi-S1	87	90	YP_007869910.1	Белки капсида
Pf_p33	phiIBB-PF7A	97	99	YP_004306346.1	Основной белок капсида 10A
Pf_p34	phiIBB-PF7A	97	98	YP_004306346.1	Минорный белок капсида 10B
Pf_p35	phiIBB-PF7A	96	100	YP_004306348.1	Тубулярный белок А отростка
Pf_p36	phiIBB-PF7A	92	94	YP_004306349.1	Тубулярный белок В отростка
Pf_p37	phiIBB-PF7A	99	100	YP_004306350.1	Внутренний белок А вириона
Pf_p38	phiIBB-PF7A	96	98	YP_004306351.1	Внутренний белок В вириона
Pf_p39	phiIBB-PF7A	90	94	YP_004306352.1	Внутренний белок С вириона
Pf_p40	phiIBB-PF7A	93	95	YP_004306353.1	Внутренний белок D вириона
Pf_p41	phiIBB-PF7A	92	86	YP_004306354.1	Фибриллярный белок отростка
Pf_p42	phiIBB-PF7A	100	100	YP_004306355.1	Лизирующий клетку белок
Pf_p43	phiIBB-PF7A	99	100	YP_004306356.1	Пакующий белок
Pf_p44	phiIBB-PF7A	98	98	YP_004306357.1	Эндопептидаза
Pf_p45	phiIBB-PF7A	97	99	YP_004306358.1	Пакующий ДНК белок В

кислотными последовательностями фага Phi-S1 (идентичность ДНК составила 96 и 94 %, белков – 96 и 99 % для Pf_p13 и Pf_p15 соответственно).

Известно, что жизненный цикл вирулентных бактериофагов делится на два ключевых этапа. Во-первых, синтезируются ранние белки, определяющие копирование вирусного генетического материала. Во-вторых, после определенного временного промежутка начинают синтезироваться поздние белки, определяющие составные белки капсида и отростка, а также белки, обеспечивающие лизис клетки-хозяина. Анализ детерминант и синтезируемых ими белков, определяющих репликацию фага Pf-10 (в частности, ДНК-полимераза, праймаза/хеликаза, экзонуклеаза, SSB-белок, эндонуклеаза), позволили выявить их сходство с таковыми фага Phi-S1 (96–98 % идентичность с нуклеотидными и 98–100 % – аминокислотными последовательностями фага Phi-S1). В то же время детерминанты, определяющие синтез поздних белков, имели сходство с таковыми фага phiIBB-PF7A. По сути, геном исследуемого фага Pf-10 состоял из двух последовательностей ДНК, одна из которых проявляла сходство с фагом широкого круга хозяев Phi-S1, а другая – фагом phiIBB-PF7A, лизирующим только бактерии *P. fluorescens* (рисунок, таблица) [13; 14].

Такой гибрид мог возникнуть в результате рекомбинации между данными фагами в бактериях *P. fluorescens*, поскольку оба они могут размножаться в клетках микроорганизмов данной таксономической группы. Однако после рекомбинационных событий, объединивших два фаговых генома, отдельные гены фага Pf-10 претерпели ряд существенных изменений. Среди детерминант, определяющих синтез белков с известной функцией, можно выделить несколько полипептидов, сходство которых с таковыми фагов Phi-S1 и phiIBB-PF7A не превышало 90 %. Это две нуклеотидные последовательности (Pf_p30 и Pf_p41), определяющие синтез белков отростка. Экспериментально доказано, что фибриллярные белки отростка (у фага Pf-10 определяется Pf_p41) играют ключевую роль в способности вирусов прикрепляться к поверхности бактериальной клетки и, следовательно, влияют на круг их бактериальных хозяев [15]. Можно предположить, что изменения в аминокислотной последовательности данного белка могут быть связаны с определенными типами бактерий хозяев, на поверхности которых фаг Pf-10 может прикрепляться перед проникновением в клетку.

Закключение. Таким образом, в ходе проведенного исследования определена полная нуклеотидная последовательность фага Pf-10, способного размножаться в клетках бактерий *P. putida*, *P. fluorescens* и *P. syringae*. Установлено, что геном фага является гибридным и состоит из фрагмента фага широкого круга хозяев Phi-S1, в пределах которого локализованы детерминанты, определяющие синтез ранних белков, и фрагмента фага узкого круга хозяев phiIBB-PF7A, содержащего гены, детерминирующие синтез поздних белков. Низкая гомология отдельных детерминант и кодируемых ими аминокислотных последовательностей с таковыми фагов Phi-S1 или phiIBB-PF7A (например, Pf_p30 и Pf_p41) свидетельствует о мутационных изменениях, возникших в процессе становления фагового генома Pf-10 и способных повлиять на его жизненно важные функции (например, способности адсорбироваться на поверхностных структурах бактерий определенных таксономических групп).

Список использованных источников

1. Labrie, S. J. Bacteriophage resistance mechanisms / S. J. Labrie, J. E. Samson, S. Moineau // Nat. Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 8, N 5. – P. 317–327. doi.org/10.1038/nrmicro2315.
2. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30, N 15 – P. 2114–2120. doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170.
3. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing / A. Bankevich [et al.] // J. Comput. Biol. – 2012. – Vol. 19, N 5. – P. 455–477. doi.org/10.1089/cmb.2012.0021.
4. Lavigne, R. PHIRE, a deterministic approach to reveal regulatory elements in bacteriophage genomes / R. Lavigne, W. D. Sun, G. Volckaert // Bioinformatics. – 2004. – Vol. 20, N 5. – P. 629–635. doi.org/10.1093/bioinformatics/btg456.
5. Solovyev, V. Automatic Annotation of Microbial Genomes and Metagenomic Sequences / V. Solovyev, A. Salamov // Metagenomics and its Applications in Agriculture, Biomedicine and Environmental Studies / ed. R. W. Li. – NY: Nova Science Publishers, 2011. – P. 61–78.
6. ARNold, finding terminators at IGM – Web Server [Electronic resource]. – Mode of access: <http://rna.igmors.u-psud.fr/toolbox/arnold/>. – Date of access: 09.11.2016.

7. Николайчик, Е. А. SQ-компьютерная программа для редактирования и анализа биологических последовательностей / Е. А. Николайчик, Л. Н. Валентович // Тр. Белорус. гос. ун-та. Физиол., биохим. и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2010. – Т. 5, № 1. – С. 154–162.
8. WebLogo: a sequence logo generator / G. E. Crooks [et al.] // *Genome Res.* – 2004. – Vol. 14, N 6. – P. 1188–1190. doi.org/10.1101/gr.849004.
9. Биопестицид «Мультифаг» на основе фагов фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae* и *Pseudomonas fluorescens* для использования в сельском хозяйстве в качестве средства борьбы с болезнями растений / Т. А. Пилипчук [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты.* – 2015. – Т. 7. – С. 197–219.
10. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review / I. U. Haq [et al.] // *Virol. J.* – 2012. – Vol. 9, iss. 1. – P. 9. doi.org/10.1186/1743-422x-9-9.
11. Complete genome sequence analysis of two *Pseudomonas plecoglossicida* phages, potential therapeutic agents / Y. Kawato [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2015. – Vol. 81, N 3. – P. 874–881. doi.org/10.1128/aem.03038-14.
12. Kelln, R. A. Isolation and properties of a bacteriophage lytic for a wide range of pseudomonads / R. A. Kelln, R. A. J. Warren // *Can. J. Microbiol.* – 1971. – Vol. 17, N 5 – P. 677–682. doi.org/10.1139/m71-109.
13. Complete genome sequence of the lytic *Pseudomonas fluorescens* phage ϕ IBB-PF7A / S. Sillankorva [et al.] // *Virol. J.* – 2011. – Vol. 8, iss. 1. – P. 142. doi.org/10.1186/1743-422x-8-142.
14. Sillankorva, S. Genome Sequence of the Broad-Host-Range Pseudomonas Phage Φ -S1 / S. Sillankorva, A. M. Kropinski, J. Azeredo // *J. Virol.* – 2012. – Vol. 86, N 18. – P. 10239. doi.org/10.1128/jvi.01605-12.
15. Casjens, S. R. Short Noncontractile Tail Machines: Adsorption and DNA Delivery by Podoviruses / S. R. Casjens, I. J. Molineux // *Advances in Experimental Medicine and Biology.* – 2011. – Vol. 726. – P. 143–179. doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_7.

References

1. Labrie S. J., Samson J. E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, vol. 8, no. 5, pp. 317–327. doi.org/10.1038/nrmicro2315.
2. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120. doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170.
3. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. A., Dvorkin M., Kulikov A. S., Lesin V. M., Nikolenko S. I., Pham S., Pribelski A. D., Pyshkin A. V., Sirotkin A. V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M. A., Pavel A., Pevzner P. A. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*, 2012, vol. 19, no. 5, pp. 455–477. doi.org/10.1089/cmb.2012.0021.
4. Lavigne R., Sun W. D., Volckaert G. PHIRE, a deterministic approach to reveal regulatory elements in bacteriophage genomes. *Bioinformatics*, 2004, vol. 20, no. 5, pp. 629–635. doi.org/10.1093/bioinformatics/btg456.
5. Solovyev V., Salamov A. Automatic Annotation of Microbial Genomes and Metagenomic Sequences. Li R. W. (ed.). *Metagenomics and its Applications in Agriculture, Biomedicine and Environmental Studies*, NY: Nova Science Publ., 2011, pp. 61–78.
6. ARNold, finding terminators at IGM – Web Server. Available at: <http://rna.igmors.u-psud.fr/toolbox/arnold/> (accessed 9 November 2016).
7. Nikolaychik E. A., Valentovich L. N. SQ – the computer program for editing and the analysis of the biological sequences. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Fiziologicheskie, biokhicheskie i molekuliarnye osnovy funkcionirovaniya biosistem* [Works of the Belarusian State University. Physiological, biochemical and molecular bases of functioning of biosystems], 2010, vol. 5, no. 1, pp. 154–162. (in Russian)
8. Crooks G. E., Hon G., Chandonia J. M., Brenner S. E. *WebLogo: a sequence logo generator.* *Genome Research*, 2004, vol. 14, no. 6, pp. 1188–1190. doi.org/10.1101/gr.849004.
9. Pilipchuk T. A., Gerasimovich A. D., Ananyeva I. N., Kolomiets E. I., Popov F. A., Novik G. I. Biopesticide ‘Multiphage’ based on phages of phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas fluorescens* used in agriculture to control plant diseases. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty* [Microbiological biotechnologies: fundamental and applied aspects], 2015, vol. 7, pp. 197–219. (in Russian)
10. Haq I. U., Chaudhry W. N., Akhtar M. N., Andleeb S., Qadri I. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virology Journal*, 2012, vol. 9, no. 1, pp. 9. doi.org/10.1186/1743-422x-9-9.
11. Kawato Y., Yasuie M., Nakamura Y., Shigenobu Y., Fujiwara A., Sano M., Nakai T. Complete genome sequence analysis of two *Pseudomonas plecoglossicida* phages, potential therapeutic agents. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, vol. 81, no. 3, pp. 874–881. doi.org/10.1128/aem.03038-14.
12. Kelln R. A., Warren R. A. J. Isolation and properties of a bacteriophage lytic for a wide range of pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, 1971, vol. 17, no. 5, pp. 677–682. doi.org/10.1139/m71-109.
13. Sillankorva S., Kluskens L. D., Lingohr E. J., Kropinski A. M., Neubauer P., Azeredo J. Complete genome sequence of the lytic *Pseudomonas fluorescens* phage ϕ IBB-PF7A. *Virology Journal*, 2011, vol. 8, issue 1, p. 142. doi.org/10.1186/1743-422x-8-142.
14. Sillankorva S., Kropinski A. M., Azeredo J., Genome Sequence of the Broad-Host-Range Pseudomonas Phage Φ -S1. *Journal of Virology*, 2012, vol. 86, no. 18, p. 10239. <https://doi.org/10.1128/jvi.01605-12>.
15. Casjens S. R., Molineux I. J. Short Noncontractile Tail Machines: Adsorption and DNA Delivery by Podoviruses. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2011, vol. 726, pp. 143–179. doi.org/10.1007/978-1-4614-0980-9_7.

Информация об авторах

Пилипчук Татьяна Андреевна – научный сотрудник, Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanya.pilipchuk@tut.by.

Валентович Леонид Николаевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by.

Титок Марина Алексеевна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник, Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: m_titok@yahoo.com.

Коломиец Эмилия Ивановна – член-корреспондент, д-р биол. наук, директор, Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.

Для цитирования

Особенности молекулярно-генетической организации фага Pf-10 / Т. А. Пилипчук [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2017. – Т. 61, № 1. – С. 78–84.

Information about the authors

Pilipchuk Tatsiana Andreevna – Researcher, Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanya.pilipchuk@tut.by.

Valentovich Leonid Nikolaevich – Ph. D. (Biology), Senior researcher, Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by.

Titok Marina Alekseevna – D. Sc. (Biology), Chief researcher, Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m_titok@yahoo.com.

Kolomiets Emiliya Ivanovna – Corresponding Member, D. Sc. (Biology), Director, Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.

For citation

Pilipchuk T. A., Valentovich L. N., Titok M. A., Kolomiets E. I. Peculiarities of molecular-genetic structure of phage Pf-10. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi* [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus], 2017, vol. 61, no. 1, pp. 78–84. (in Russian)