

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-195

**КОНСТРУИРОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО БАКТЕРИОФАГА
ПРОТИВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* С ХИМЕРНЫМ РЕЦЕПТОР-СВЯЗЫВАЮЩИМ БЕЛКОМ***

**CONSTRUCTION OF A SYNTHETIC BACTERIOPHAGE AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
WITH A CHIMERIC RECEPTOR-BINDING PROTEIN**

Е. Е. Михайлова, И. К. Байков, Н. В. Тикунова

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск
Новосибирский государственный университет*

E. E. Mikhaylova, I. K. Baykov, N. V. Tikunova

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk
Novosibirsk State University*

✉ e.mikhailova2@g.nsu.ru

Аннотация

В ходе данного исследования была проверена гипотеза о влиянии N-концевой последовательности белка хвостовых шипов на стабильность синтетических бактериофагов, сконструированных на основе природных фагов KP192 и KP195, инфицирующих бактерию *Klebsiella pneumoniae*.

Abstract

In this study, the hypothesis of the effect of the N-terminal structural module of the tail spike protein on the stability of synthetic phages constructed on the basis of natural phages KP192 and KP195 infecting *Klebsiella pneumoniae* was tested.

Бактериофаги — бактериальные вирусы — могут выступать в качестве терапевтических агентов для лечения инфекций человека и животных, вызванных патогенными микроорганизмами. Применение природных фагов для борьбы с болезнетворными бактериями возможно, однако обеспечить быстрый поиск подходящих для терапии вариантов может быть затруднительно. Альтернативный подход — конструирование синтетических бактериофагов с необходимыми свойствами. В частности, используя современные подходы синтетической биологии и геной инженерии, можно сменить спектр хозяев природных бактериофагов за счет внесения изменений в гены, кодирующие белки хвостовых шипов (tsp-белки) или фибрилл (tf-белки) этих фагов. Однако нужно учитывать, что фаги — сложно организованные объекты, и для разработки четких стратегий по созданию синтетических химерных бактериофагов необходимо более детальное изучение организации и функционирования фаговых белков.

Ранее в лаборатории молекулярной микробиологии ИХБФМ СО РАН на основе природных клебсиелльных фагов KP192 и KP195 был сконструирован синтетический бактериофаг KP195_tfAB192 путем полной замены в геноме фага KP195 последовательности, кодирующей белок хвостовых шипов, на пару генов tsp-белков фага KP192. В результате удалось переключить специфичность исходного бактериофага на штаммы *K. pneumoniae*, чувствительные к фагу KP192. Однако химерный фаг демонстрировал более низкую инфекционную активность в сравнении с фагом KP192 (при одинаковом физическом титре). Нами была выдвинута гипотеза, что причиной различий в инфекционных титрах может быть или неэффективная сборка хвоста химерного бактериофага, или сниженная стабильность хвоста этого фага, приводящая к его деградации у части вирионов и неспособности их заражать бактерии. В свою очередь, предположение о низкой стабильности хвоста химерного фага связано с различиями в аминокислотной последовательности N-концевой части белков хвостовых шипов у фагов KP192 и KP195. Чтобы проверить эту гипотезу, был сконструирован синтетический бактериофаг KP195_chAB192 с химерным рецептор-связывающим белком. Участок, кодирующий N-концевую часть tsp-белка в геноме фага KP195, остался неизменным, а последовательность, соответствующая C-концевой части, была заменена на фрагмент из генома KP192. Сборку генома фага KP195_chAB192 осуществляли методом TAR-клонирования — полученные с помощью ПЦР перекрывающиеся части геномов фагов KP192 и KP195 объединяли путем гомологичной

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (№ 24-24-00553).

© Е. Е. Михайлова, И. К. Байков, Н. В. Тикунова, 2024

рекомбинации в дрожжах. На основе собранного генома были получены инфекционные фаговые частицы, после чего был проведен анализ внешнего вида бляшек и инфекционной активности фага KP195_chAB192 в отношении разных штаммов *K. pneumoniae*.

Было выявлено, что наличие «родного» N-концевого домена, взятого из tsp-белка фага KP195, не приводит к улучшению инфекционных свойств синтетического фага KP195_chAB192 в сравнении с фагом KP195_tfAB192. Следовательно, различия в N-концевой адаптерной части белков хвостовых шипов не оказывают такого значительного влияния на стабильность химерных фагов, как было предположено. Вместе с тем стало ясно, что сниженный инфекционный титр ранее полученного фага KP195_tfAB192 по сравнению с фагом KP192 был вызван не дестабилизацией хвоста, а дополнительными факторами, связанными с переходом от генома фага KP192 к геному KP195.