

## Трехмерная реконструкция гигантского бактериофага AR9 методом криоэлектронной микроскопии

Сироткин И.А.<sup>1</sup>, Моисеенко А.В.<sup>2</sup>

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия, *E-mail: sirotkinil5@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: postmoiseenko@gmail.com*

Гигантские бактериофаги составляют особую группу вирусов бактерий, отличительной характеристикой которой является сравнительно крупный геном длиной более 200 кб. Большинство фагов данной группы относятся к семейству *Myoviridae*, представители которого имеют икосаэдрический капсид и сократимый хвост, соединенные между собой при помощи порталного интерфейса. Несмотря на наличие важных сходств у обычных и гигантских фагов, последние вызывают множество вопросов относительно состава их генома и особенностей строения, выражающихся в новых стратегиях заражения, экологии и потенциале для применения в различных областях - от медицины до промышленности и сельского хозяйства [2].

Объектом нашего исследования является заражающий различные штаммы *B. subtilis* гигантский бактериофаг AR9, относящийся к phiKZ-подобным гигантским фагам, кодирующим собственную мультисубъединичную РНК-полимеразу [1]. К настоящему времени для представителей данной группы не получено ни одной структуры фага с высоким разрешением, что затрудняет наше понимание устройства данных объектов. Целью нашей работы является трехмерная реконструкция гигантского бактериофага AR9 методом анализа одиночных частиц по данным, полученным с помощью криоэлектронной микроскопии.

В результате съемки данных на криоэлектронном микроскопе Titan Krios (Thermo Fisher Scientific) было получено 2 набора микрографий (1304 и 1440 соответственно). Для получения трехмерной реконструкции применялся анализ одиночных частиц в программе cryoSPARC [3], при этом отдельные структурные элементы фага, такие как капсид, хвост и порталный интерфейс, реконструировали по отдельности с применением различных типов симметрии (икосаэдрической и вращательной 6 порядка). Получены карты электронной плотности указанных частей фага с высоким разрешением 5.5 Å, 2.7 Å и 4.0 Å соответственно. Для хвоста фага были определены основные параметры спирали: шаг - 38.13 Å, поворот - 38.23 Å. Полученные трехмерные реконструкции можно использовать для уточнения атомных моделей структурных белков фага AR9, предсказанных с помощью нейронной сети AlphaFold2.

Данный проект был поддержан грантом РФФИ №21-44-07002

### Источники и литература

- 1) Lavysh, Daria et al. "The genome of AR9, a giant transducing Bacillus phage encoding two multisubunit RNA polymerases." *Virology* vol. 495 (2016): 185-96. doi:10.1016/j.virol.2016.04.030
- 2) M Iyer, Lakshminarayan et al. "Jumbo Phages: A Comparative Genomic Overview of Core Functions and Adaptions for Biological Conflicts." *Viruses* vol. 13,1 63. 5 Jan. 2021, doi:10.3390/v13010063
- 3) Punjani, Ali et al. "cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination." *Nature methods* vol. 14,3 (2017): 290-296. doi:10.1038/nmeth.4169