

## Зависимость эффективности лизогенизации *E. coli* бактериофагом φ24В от различных факторов

Научный руководитель – Куликов Евгений Евгеньевич

Москаленко Олеся Дмитриевна

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: moskalenko.od@phystech.edu

Stx-конвертирующие бактериофаги, заражающие клетки *Escherichia coli*, обуславливают формирование шигатоксигенных форм этих бактерий. Лизогенные по этим вирусам клетки способны синтезировать шигаподобный токсин (Stx), что значительно повышает их патогенность.

Эффективность лизогенизации связана с широким спектром факторов, влияющих как на адсорбцию вируса, так и на внутриклеточные процессы. К таким факторам относятся множественность инфекции, структура поверхности клетки, температура, концентрация питательных веществ в среде, внешнее излучение и т. п. Для бактериофагов ключевой стадией инфекции является адсорбция на поверхности чувствительной клетки, поэтому факторы, влияющие на адсорбцию Stx-конвертирующих фагов, могут вносить значительный вклад в образование шигатоксигенных *E. coli*.

В данной работе мы исследовали зависимость эффективности лизогенизации клеток *E. coli* Stx-конвертирующим бактериофагом φ24В от множественности инфекции, а также от наличия О-антигена в составе внешней мембраны. Для получения препарата лабораторного штамма фага φ24В, несущего ген хлорамфениколацентилтрансферазы, мы воспользовались оптимизированной методикой с применением ультрацентрифугирования. Данный препарат использовали для получения лизогенов на основе О-антиген содержащих штаммов *E. coli* 4s и f17 и лишённого О-антиген штамма *E. coli* MG1655. Лизогены получали путём инкубации бактериальных клеток с фагом в течение 3 часов 15 минут в присутствии 10mM CaCl<sub>2</sub> и 10mM MgSO<sub>4</sub>. Для селекции полученных лизогенов была подобрана оптимальная концентрация хлорамфеникола — 102мкг/мл. Полученные лизогены фаготипировали с использованием О-антиген-зависимых и О-антиген-независимых фагов. Для некоторых лизогенов анализировали состав мембраны при помощи электрофореза ЛПС с окрашиванием нитратом серебра [1].

Варьируя параметр множественности инокуляции, мы получили, что с увеличением концентрации вируса в лизогенизационной смеси число наблюдаемых лизогенных КОЕ уменьшается. Дальнейшее фаготипирование некоторых лизогенов штамма *E. coli* f17 показало, что О-антиген зависимый фаг RB49-ЕК [2] способен заражать полученных лизогенов, что говорит в пользу сохранения О-антигена у данной лизогенной культуры. Однако данные электрофореза липополисахаридов говорят об отсутствии детектируемых количеств О-антигена.

После проделанной работы можно сделать вывод, что эффективность лизогенизации лишённых О-антигена клеток фагом φ24В отрицательно коррелирует с множественностью инокуляции. Также образуются лизогены, для которых в результате электрофореза ЛПС не подтверждается наличие О-антигена, но которые сохраняют чувствительность к О-антиген-зависимому фагу RB49-ЕК.

### Источники и литература

- 1) [1] Kulikov E. E. et al. High-throughput LPS profiling as a tool for revealing of bacteriophage infection strategies //Scientific reports. – 2019. – Т. 9. – №. 1. – С. 2958.
- 2) [2] Efimov A. D. et al. RB49-like Bacteriophages Recognize O Antigens as One of the Alternative Primary Receptors //International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Т. 23. – №. 19. – С. 11329.