

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА БАКТЕРИОФАГА *BACILLUS CEREUS* FBC – 28УГСХА

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Мерчина Светлана Васильевна, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Мастиленко Андрей Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

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

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: *Bacillus cereus*, бактериофаг, протеом, молекулярная масса, белок, изоэлектрическая точка

В статье представлены результаты протеомного анализа бактериофага *Bacillus cereus* FBC–28 УГСХА (изучение количественного состава, изоэлектрической точки белков, молекулярного веса), выделенного из объектов внешней среды (проба почвы), представляющего интерес как компонент экспериментального фагового биопрепарата для обработки продуктов питания с целью снижения количественных показателей микробной контаминации. В экспериментах были использованы ресурсы систем SnapGeneViewerv.4.1.7 и ExPasy (<https://web.exPASy.org>). В результате проведенных исследований были получены данные протеомного анализа на основании проведенного ранее сиквенса. Установлено, что качественный состав протеинов бактериофага FBC–28 УГСХА соответствует таковому у аннотированных аналогов, имеет четкие гомологии нуклеотидного и аминокислотного наборов. При анализе протеома бактериофага FBC–28 УГСХА и, соответственно, данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 60 белков с молекулярными массами от 5,7 до 132,3 кДа. Гистограмма распределения белкового состава *Bacillus cereus* phage FBC-28 УГСХА по изоэлектрической точке (pI) фиксирует значения в широком диапазоне, равном 4,2 - 12,1. Полученные данные о протеоме бактериофага FBC–28 УГСХА, специфичного в отношении *Bacillus cereus*, приближает нас к созданию фаговых препаратов нового поколения, предназначенных для деконтаминации пищевого сырья, имеющих высокую специфичность и широкий спектр литического действия в пределах бактериального вида, и соответствующих стандартам биобезопасности

Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2018 году.

Введение

Разработка биопрепаратов на основе бактериофагов для деконтаминации пищевого сырья или готовых к употреблению продуктов питания подразумевает изучение их основных биологических свойств (литической активности, специфичности, устойчивости к физическим и химическим факторам, сохранении титра при хранении и т.п.), к которым также относятся и молекулярно-генетические характеристики, включая анализ протеома [1-5].

По литературным данным бактерии *Bacillus cereus* входят в состав основных контаминантов животного и растительного пищевого сырья, так как являются почвенными спорообразующими сапрофитами и при несоблюдении санитарно-гигиенических параметров переработки, высокой температурной устойчивости и солетолерантности могут стать причиной пищевых отравлений и при употреблении готовых

кулинарных блюд [6-9].

Цель работы – изучение протеома бактериофага *Bacillus cereus* FBC – 28УГСХА (определение количества, молекулярного веса и изоэлектрической точки белков).

Объекты и методы исследований

Объект исследования - бактериофаг FBC – 28УГСХА, выделенный в 2008 г. из пробы почвы (г. Сызрань, Самарская область), характеризующийся следующими свойствами:

- характеристика бляшкообразующих единиц - прозрачные негативные колонии округлой формы, 5,0±3,0 мм с полным лизисом в центре, неполным лизисом в виде ореола по периферии, 8,5±0,5 мм в диаметре;

- показатель литической активности - титр по Грация- 9,0±1,0x10¹¹ БОЕ/мл, титр по Аппельману – 10¹⁰;

- специфичен для культур, идентифицированных как *Bacillus cereus*, и не лизирует куль-

туры, относящиеся к группе «*Bacillus cereus*»: *Bacillus anthracis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus weihenstephanensis*;

- отличается устойчивостью к таким факторам, как обработка трихлорметаном в течение 25 минут в соотношении 10:1, культивирование при температуре 78⁰ С в 30 минут приводит к инактивации; установлено, что культивирование бактериофага при изменении показателя pH в диапазоне 3,4-8,2 не приводит к разрушению бактериофага.

Исследуемый бактериофаг концентрировали методом ультрафильтрации с применением одноразовых ультрафильтров с пределом исключения 10 кДа, Merck (Millipore) [10-11].

Нуклеотидные последовательности исследуемых бактериофагов изучали методом полупроводникового секвенирования на платформе IonTorrent (Thermo Fisher Scientific, США) при помощи набора реагентов Ion PI Sequencing 200 Kit v3 на чипе Ion PI ChipKit v2 секвенатором IonProton (ThermoFisherScientific, США) согласно протоколу производителя.

Оценку распределения длин фрагментов библиотек и их концентрацию проводили с использованием прибора Bioanalyzer 2100 и набора реагентов Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent Technologies, США) согласно протоколу производителя. Клональную амплификацию библиотек, которые были предварительно эквимольно пулированы, проводили с использованием набора Ion PI Template OT2 200 Kit v3 (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Для сборки фаговых геномов *de novo* использовали риды с качеством прочтения нуклеотидов не ниже Q20 и длиной не менее 50 оснований.

Сборку геномов осуществляли с использованием программного обеспечения Newbler (Roche/454 GS-FLX). Сравнение собранных геномов бактериофагов с геномами известных аннотированных бактериофагов проводили при помощи алгоритма BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и баз данных нуклеотидных последовательностей NCBI (Национальный центр биотехнологической информации, США). Визуализацию выравнивания собранных нами геномов с известными мы проводили с использованием программного обеспечения BLAST Ring Image Generator (BRIG). Поиск открытых рамок считывания проводили при помощи программного обеспечения UGENE (Унипро, Россия). Для проведения анализа протеома бактериофа-

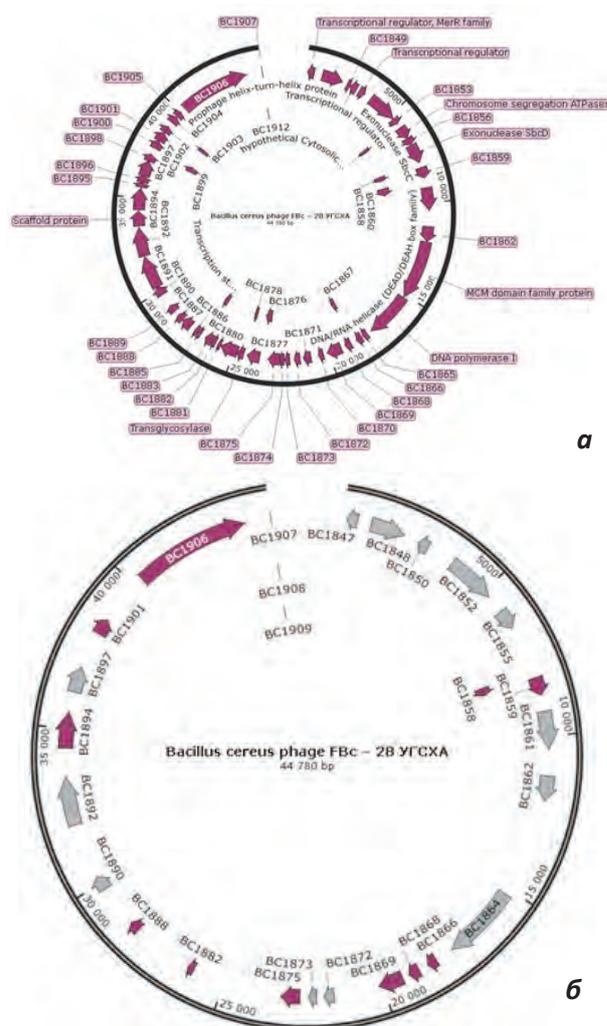


Рис. 1 - Карта линейной ДНК бактериофага *Bacillus cereus phage FBC – 28* УГСХА а) с расшифровкой кодирующих областей генома, б) картирование генов, для которых не определены гомологии

га *FBC – 28* УГСХА применяли ресурсы систем SnapGeneViewerv.4.1.7 и ExPasy (<https://web.expasy.org>).

Результаты исследований

Данные сиквенса бактериофага *Bacillus cereus FBC – 28* УГСХА были внесены в систему SnapGeneViewerv.4.1.7 и получена карта протеома (рис. 1) [12-13]. Затем нуклеотидный сиквенс каждого из локусов был ретранслирован в протеомный сиквенс и определен аминокислотный состав, который был перенесен в систему ExPasy и получены данные о молекулярной массе и точке изоэлектрического фокусирования. Этот алгоритм применяли для каждого генетического локуса. Полученные нами данные анализа протеома бактериофага *FBC – 28* УГСХА были сопоставлены на основании данных проведенного сиквенса.

Таблица 1

Локализация белков в геноме *Bacillus cereus*

FBc – 28 УГСХА

Sequences: *Bacillus cereus* phage *FBc – 28 УГСХА.gb* (Linear / 44 780 bp)
 Features: 151 total

Feature	Location	Size	Color	Direction	Type
✓ BC1847	119 .. 463	345 bp	█	←	CDS
✓ BC1848	898 .. 1995	1098 bp	█	→	CDS
✓ BC1849	2267 .. 2440	174 bp	█	→	CDS
✓ BC1850	2463 .. 2801	339 bp	█	←	CDS
✓ BC1851	2974 .. 3291	318 bp	█	→	CDS
✓ BC1852	3697 .. 5253	1557 bp	█	→	CDS
✓ BC1853	5267 .. 5569	303 bp	█	→	CDS
✓ BC1854	5569 .. 5802	234 bp	█	→	CDS
✓ BC1855	5816 .. 6451	636 bp	█	→	CDS
✓ BC1856	6468 .. 6845	378 bp	█	→	CDS
✓ BC1857	6891 .. 7874	984 bp	█	→	CDS
✓ BC1858	7871 .. 8173	303 bp	█	→	CDS
✓ BC1859	8148 .. 8717	570 bp	█	→	CDS
✓ BC1860	8727 .. 9245	519 bp	█	→	CDS
✓ BC1861	9227 .. 10 420	1194 bp	█	→	CDS
✓ BC1862	11 248 .. 12 033	786 bp	█	→	CDS
✓ BC1863	12 053 .. 15 139	3087 bp	█	→	CDS
✓ BC1864	15 181 .. 17 589	2409 bp	█	→	CDS
✓ BC1865	17 828 .. 18 085	258 bp	█	→	CDS
✓ BC1866	18 164 .. 18 475	312 bp	█	→	CDS
✓ BC1867	18 492 .. 18 794	303 bp	█	→	CDS
✓ BC1868	18 791 .. 19 126	336 bp	█	→	CDS
✓ BC1869	19 346 .. 20 122	777 bp	█	→	CDS
✓ BC1870	20 336 .. 20 590	255 bp	█	→	CDS
✓ BC1871	20 983 .. 21 384	402 bp	█	→	CDS
✓ BC1872	21 551 .. 21 859	309 bp	█	→	CDS
✓ BC1873	22 086 .. 22 331	246 bp	█	→	CDS
✓ BC1874	22 377 .. 22 607	231 bp	█	→	CDS
✓ BC1875	22 610 .. 23 197	588 bp	█	→	CDS
✓ BC1876	23 230 .. 23 655	426 bp	█	→	CDS
✓ BC1877	23 642 .. 24 286	645 bp	█	→	CDS
✓ BC1878	24 301 .. 24 483	183 bp	█	→	CDS
✓ BC1879	24 480 .. 24 797	318 bp	█	→	CDS
✓ BC1880	24 814 .. 25 755	942 bp	█	→	CDS
✓ BC1881	25 758 .. 25 904	147 bp	█	→	CDS
✓ BC1882	26 030 .. 26 227	198 bp	█	→	CDS
✓ BC1883	26 252 .. 26 632	381 bp	█	→	CDS
✓ BC1884	26 629 .. 26 910	282 bp	█	→	CDS
✓ BC1885	26 912 .. 27 109	198 bp	█	→	CDS
✓ BC1886	27 136 .. 27 303	168 bp	█	→	CDS
✓ BC1887	27 565 .. 28 092	528 bp	█	→	CDS
✓ BC1888	28 129 .. 28 458	330 bp	█	→	CDS
✓ BC1889	28 714 .. 29 094	381 bp	█	→	CDS
✓ BC1890	29 769 .. 30 236	468 bp	█	→	CDS
✓ BC1891	30 253 .. 31 968	1716 bp	█	→	CDS
✓ BC1892	31 985 .. 33 502	1518 bp	█	→	CDS
✓ BC1893	33 570 .. 34 343	774 bp	█	→	CDS
✓ BC1894	34 403 .. 35 527	1125 bp	█	→	CDS
✓ BC1895	35 577 .. 35 801	225 bp	█	→	CDS
✓ BC1896	35 836 .. 36 171	336 bp	█	→	CDS
✓ BC1897	36 176 .. 36 982	807 bp	█	→	CDS
✓ BC1898	36 986 .. 37 360	375 bp	█	→	CDS
✓ BC1899	37 360 .. 37 719	360 bp	█	→	CDS
✓ BC1900	37 722 .. 38 129	408 bp	█	→	CDS
✓ BC1901	38 143 .. 38 649	507 bp	█	→	CDS
✓ BC1902	38 673 .. 39 032	360 bp	█	→	CDS
✓ BC1903	39 019 .. 39 234	216 bp	█	→	CDS
✓ BC1904	39 302 .. 39 679	378 bp	█	→	CDS
✓ BC1905	39 730 .. 40 023	294 bp	█	→	CDS
✓ BC1906	40 309 .. 43 956	3648 bp	█	→	CDS
✓ BC1907	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1908	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1909	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1910	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1911	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1912	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1913	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1914	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1915	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1916	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1917	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1918	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1919	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1920	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1921	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	CDS
✓ BC1847	119 .. 463	345 bp	█	←	gene
✓ BC1848	898 .. 1995	1098 bp	█	→	gene
✓ BC1849	2267 .. 2440	174 bp	█	→	gene
✓ BC1850	2463 .. 2801	339 bp	█	←	gene
✓ BC1851	2974 .. 3291	318 bp	█	→	gene
✓ BC1852	3697 .. 5253	1557 bp	█	→	gene
✓ BC1853	5267 .. 5569	303 bp	█	→	gene
✓ BC1854	5569 .. 5802	234 bp	█	→	gene
✓ BC1855	5816 .. 6451	636 bp	█	→	gene
✓ BC1856	6468 .. 6845	378 bp	█	→	gene
✓ BC1857	6891 .. 7874	984 bp	█	→	gene
✓ BC1858	7871 .. 8173	303 bp	█	→	gene
✓ BC1859	8148 .. 8717	570 bp	█	→	gene
✓ BC1860	8727 .. 9245	519 bp	█	→	gene
✓ BC1861	9227 .. 10 420	1194 bp	█	→	gene
✓ BC1862	11 248 .. 12 033	786 bp	█	→	gene
✓ BC1863	12 053 .. 15 139	3087 bp	█	→	gene
✓ BC1864	15 181 .. 17 589	2409 bp	█	→	gene
✓ BC1865	17 828 .. 18 085	258 bp	█	→	gene
✓ BC1866	18 164 .. 18 475	312 bp	█	→	gene
✓ BC1867	18 492 .. 18 794	303 bp	█	→	gene
✓ BC1868	18 791 .. 19 126	336 bp	█	→	gene
✓ BC1869	19 346 .. 20 122	777 bp	█	→	gene
✓ BC1870	20 336 .. 20 590	255 bp	█	→	gene
✓ BC1871	20 983 .. 21 384	402 bp	█	→	gene
✓ BC1872	21 551 .. 21 859	309 bp	█	→	gene
✓ BC1873	22 086 .. 22 331	246 bp	█	→	gene
✓ BC1874	22 377 .. 22 607	231 bp	█	→	gene
✓ BC1875	22 610 .. 23 197	588 bp	█	→	gene
✓ BC1876	23 230 .. 23 655	426 bp	█	→	gene
✓ BC1877	23 642 .. 24 286	645 bp	█	→	gene
✓ BC1878	24 301 .. 24 483	183 bp	█	→	gene
✓ BC1879	24 480 .. 24 797	318 bp	█	→	gene
✓ BC1880	24 814 .. 25 755	942 bp	█	→	gene
✓ BC1881	25 758 .. 25 904	147 bp	█	→	gene

Установлено, что анализ протеома бактериофага *Bacillus cereus FBc – 28 УГСХА* соответственно данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 60 белков с молекулярными массами от 5,7 до 132,3 кДа (рис. 1).

На основании данных системы ExPasy были построены гистограммы распределения фрагментов протеома бактериофага *Bacillus cereus FBc – 28 УГСХА* в зависимости от молекулярной массы (рис. 2) и точке изоэлектрического фокусирования (рис. 3).

Установлено, что 57% выявленных белков имеет молекулярную массу 10-20 кДа, 15% - 20-40 кДа, 10% - 40-60 кДа, 5% - более 80 кДа, 13% - менее 10 кДа.

Анализ белков бактериофага *Bacillus cereus FBc – 28 УГСХА* по изоэлектрической точке (pI) - величине рН, при которой белки переходят в изоэлектрическое состояние, показал, что она располагается в диапазоне от 4,2 до 12,1.

Продолжение таблицы 1

Bacillus cereus phage *FBc – 28 УГСХА.gb* (Linear / 44 780 bp)

Feature	Location	Size	Color	Direction	Type
✓ BC1882	26 030 .. 26 227	198 bp	█	→	gene
✓ BC1883	26 252 .. 26 632	381 bp	█	→	gene
✓ BC1884	26 629 .. 26 910	282 bp	█	→	gene
✓ BC1885	26 912 .. 27 109	198 bp	█	→	gene
✓ BC1886	27 136 .. 27 303	168 bp	█	→	gene
✓ BC1887	27 565 .. 28 092	528 bp	█	→	gene
✓ BC1888	28 129 .. 28 458	330 bp	█	→	gene
✓ BC1889	28 714 .. 29 094	381 bp	█	→	gene
✓ BC1890	29 769 .. 30 236	468 bp	█	→	gene
✓ BC1891	30 253 .. 31 968	1716 bp	█	→	gene
✓ BC1892	31 985 .. 33 502	1518 bp	█	→	gene
✓ BC1893	33 570 .. 34 343	774 bp	█	→	gene
✓ BC1894	34 403 .. 35 527	1125 bp	█	→	gene
✓ BC1895	35 577 .. 35 801	225 bp	█	→	gene
✓ BC1896	35 836 .. 36 171	336 bp	█	→	gene
✓ BC1897	36 176 .. 36 982	807 bp	█	→	gene
✓ BC1898	36 986 .. 37 360	375 bp	█	→	gene
✓ BC1899	37 360 .. 37 719	360 bp	█	→	gene
✓ BC1900	37 722 .. 38 129	408 bp	█	→	gene
✓ BC1901	38 143 .. 38 649	507 bp	█	→	gene
✓ BC1902	38 673 .. 39 032	360 bp	█	→	gene
✓ BC1903	39 019 .. 39 234	216 bp	█	→	gene
✓ BC1904	39 302 .. 39 679	378 bp	█	→	gene
✓ BC1905	39 730 .. 40 023	294 bp	█	→	gene
✓ BC1906	40 309 .. 43 956	3648 bp	█	→	gene
✓ BC1907	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1908	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1909	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1910	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1911	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1912	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1913	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1914	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1915	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1916	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1917	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1918	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1919	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1920	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ BC1921	44 780 .. 44 780	1 bp	█	→	gene
✓ source	1 .. 44 780	44 780 bp	█	→	source

Анализ протеома бактериофага *Bacillus cereus* phage FBc – 28 УГСХА

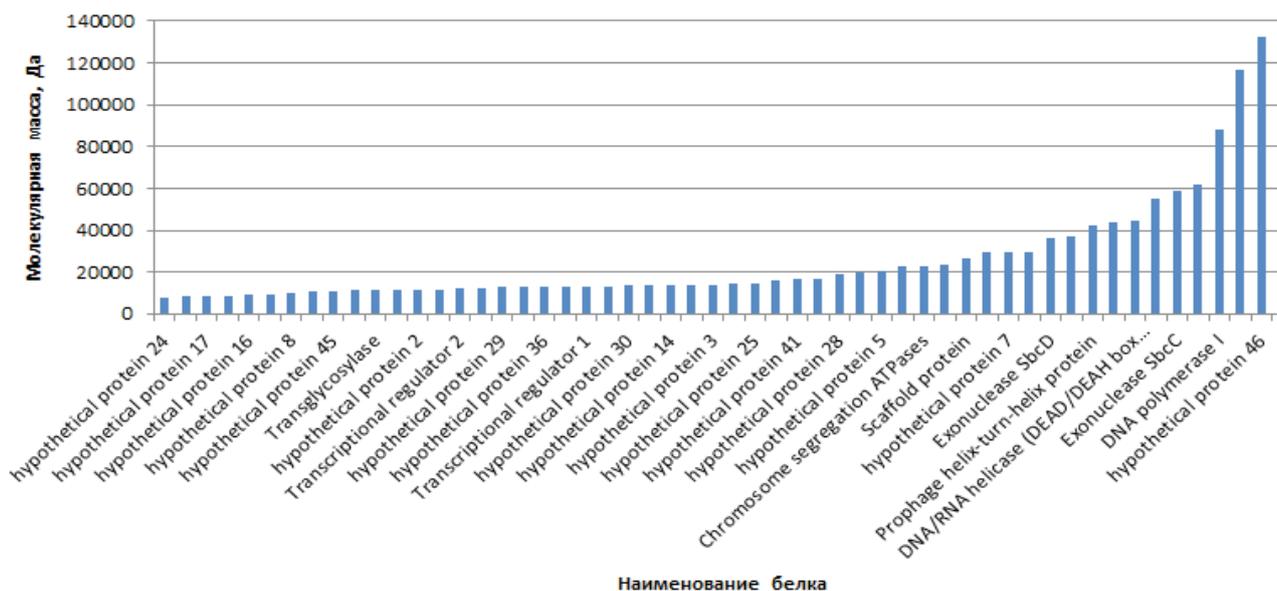


Рис. 2 – Гистограмма распределения белкового состава *Bacillus cereus* phage FBc – 28 УГСХА по молекулярной массе в зависимости от pI

Анализ протеома бактериофага *Bacillus cereus* phage FBc – 28 УГСХА

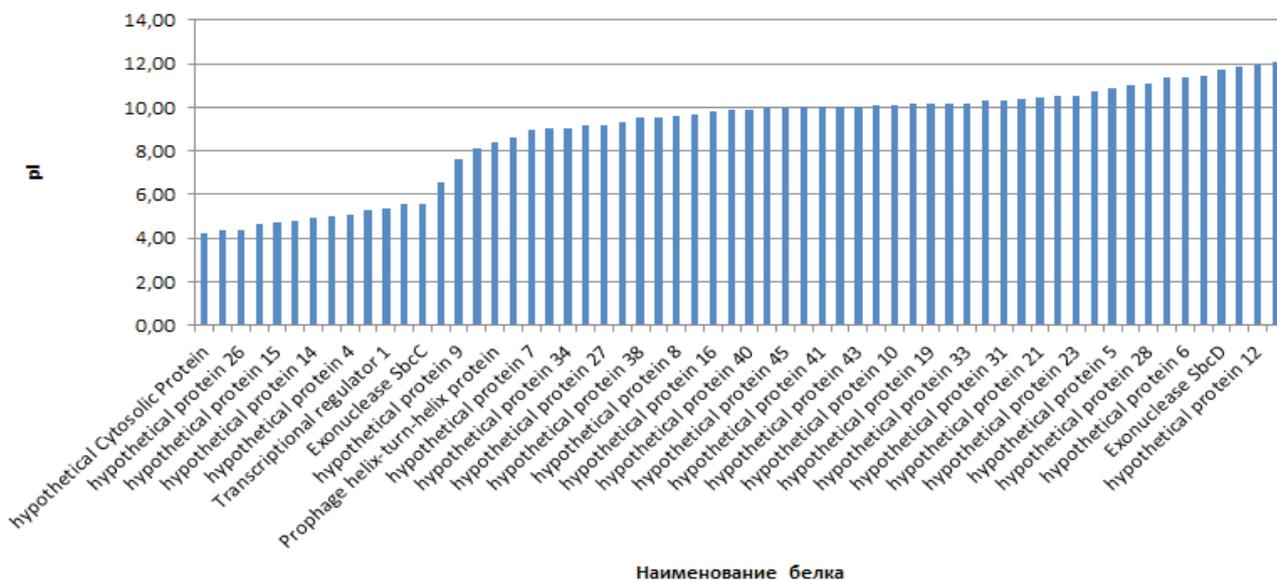


Рис. 3 - Гистограмма распределения белкового состава *Bacillus cereus* phage FBc – 28 УГСХА по изоэлектрической точке (pI)

Выводы

Сиквенсовые данные генома бактериофага FBc – 28УГСХА, выделенного из объектов внешней среды (пробы почвы), представлены в виде линейной карты ДНК с расшифровкой кодирующих областей генома.

Результаты полученных данных о нуклеотидных последовательностях бактериофага

Bacillus cereus FBc – 28 УГСХА, полученных при его секвенировании, позволили нам провести сравнительный анализ их геномов. Установлено, что качественный состав протеинов бактериофага FBc – 28 УГСХА соответствует таковым у аннотированных аналогов, имеет четкие гомологии нуклеотидного и аминокислотного наборов. В структуре протеинов выявлена закономерность, которая присуща фагам, – 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 *Bacillus cereus*.

Однако, исследование биологических свойств бактериофагов, которые будут входить в состав биопрепарата для деконтаминации продуктов питания, невозможно без изучения их белков. При анализе протеома бактериофага *FBc* – 28 УГСХА - данных секвенирования его нуклеиновой кислоты было выявлено 60 белков, у которых определен размер. Молекулярная масса установленных белков колеблется в диапазоне от 5,7 до 132,3 кДа, причем 57% из них имеет молекулярную массу 10-20 кДа, 15% - 20-40 кДа, 10% - 40-60 кДа, 5% - более 80 кДа, 13% - менее 10 кДа. Гистограмма распределения белкового состава *Bacillus cereus phage FBc* – 28 УГСХА по изоэлектрической точке (pI) дает информацию о кислотности среды (pH), при которой белок не несёт электрического заряда, и фиксирует значения в широком диапазоне, равном 4,2 - 12,1. Полученные данные количественного анализа белков бактериофага *Bacillus cereus FBc* – 28 УГСХА позволят в перспективе получить информацию о качественном его составе. Полученные данные о протеоме бактериофага *FBc*–28 УГСХА, специфичного в отношении *Bacillus cereus*, приближает нас к созданию фаговых препаратов нового поколения, предназначенных для деконтаминации пищевого сырья, имеющих высокую специфичность и широкий спектр литического действия в пределах бактериального вида, и соответствующих стандартам биобезопасности.

Библиографический список

1. Алешкин, А.В. Биодеконтаминация и продление сроков годности мясных и рыбных полуфабрикатов с помощью бактериофагов / А.В. Алешкин, Э.Р. Зулькарнеев, Ю.В. Ларина // Астраханский медицинский журнал. – 2015. - Том 10, № 4. – С. 40-48.
2. Суярова, Е.А. Диагностические возможности протеомного профилирования в гастроэнтерологии [Электронный ресурс] / Е.А. Суярова, Г.Н. Тарасова // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-9. – С. 1921-1925. - URL: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=38454> (дата обращения: 15.10.2018).
3. Молекулярно-биологические и генетические принципы селекции терапевтических бактериофагов бактерий родов *Pseudomonas* и

Staphylococcus / К.А. Мирошников, Е.Е. Куликов, О.С. Дарбеева, К.А. Лыско, Г.М. Игнатъев // Прикладная биохимия и микробиология. - 2014. - Том 50, № 3. - С. 338.

4. Киселева, Ирина Анатольевна. Специализированный продукт диетического профилактического питания на основе коктейля бактериофагов: конструирование, технология производства, оценка безопасности и эффективности применения: дис. ... канд. биологических наук: 03.01.06, 03.02.03 / И.А. Киселева. – М.: 2015. – 202 с.

5. Conrotto, P. Proteomic approaches in biological and medical sciences: principles and applications / P. Conrotto, S. Souchelnytskyi // Exp. Oncol. - 2008. - V. 30, № 3. - P. 171–180.

6. Global food losses and food waste: extent, causes and prevention / J. Gustavsson [et al.]. – Rome : FAO, 2011. – 38 p.

7. Выделение и идентификация бактерий *Bacillus cereus* / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, К.В. Маслюкова, Е.А. Ляшенко, А.И. Калдыркаев, С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева, Е.В. Сульдина // Естественные и технические науки. – 2018. - № 7 (121). – С. 28-33.

8. Леонтьев, В.Н. Порча пищевых продуктов: виды, причины и способы предотвращения / В.Н. Леонтьев, Х.М. Элькаиб, А.Э. Эльхедми // Труды БГУ. – 2013. – Том 8, часть 1. – С. 125-130.

9. Современная пищевая микробиология / под ред. Дж. М. Джеймс; пер. с англ. Е. Баранова. – М.: Бином, 2012. – 888 с.

10. Каттер, Э. Бактериофаги: биология и практическое применение / Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; науч. ред. А.В. Летаров; пер. с англ. Е.Е. Куликов [и др.]. – М.: Научный мир, 2012. - 636 с.

11. Effects of sunlight on bacteriophage viability and structure / K.E. Wommack, R.T. Hill, N.F. Miller, R.R. Colwell // Appl Environ Microbiol. – 1996. – V. 62. – P. 1336-1341.

12. Молекулярно-генетическая характеристика бактериофага *Bacillus cereus FBc*–28 УГСХА / Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Е.В. Сульдина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2018. - № 2 (42). - С. 216-222.

13. Molecular-genetic Characteristics of Bacteriophage *Bacillus cereus FBc* – 28 UGSHA / N.A. Feoktistova, D.A. Vasilyev, A.V. Mastilenko, E.V. Suldina, S.N. Zolotukhin // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – V. 9. - № 4. – P. 345-354.

RESULTS OF PROTEOMIC ANALYSIS OF BACILLUS CEREUS FBC - 28 UGSKHA BACTERIOPHAGE

Feoktistova N. A., Merchina S. V., Mastilenko A. V.

FSBEI HE Ulyanovsk SAU

432017, Ulyanovsk, Novyi Venets Boulevard, 1; 8 (8422) 55-95-47

e-mail: feokna@yandex.ru

Key words: *Bacillus cereus*, bacteriophage, proteome, molecular weight, protein, isoelectric point

The article presents results of the proteomic analysis of *Bacillus cereus* FBC – 28 UGSKhA bacteriophage (study of the quantitative composition, isoelectric point of proteins, molecular weight) isolated from environmental objects (soil test), which is of interest as a component of an experimental phage biological compound for food treatment to reduce quantitative parameters of microbial contamination. The resources of SnapGeneViewerv.4.1.7 and ExPasy (<https://web.expasy.org>) were used in the experiments. As a result of the research, data of proteomic analysis were obtained on the basis of a previously performed sequence. It was established that the qualitative composition of the proteins of FBC – 28 UGSKhA bacteriophage corresponds to those of the annotated analogs, has a clear homology of the nucleotide and amino acid sets. When analyzing the proteome of FBC – 28 UGSKhA bacteriophage and, accordingly, the sequencing of its nucleic acid, 60 proteins with molecular masses from 5.7 to 132.3 kDa were detected. The histogram of the distribution of the protein composition of *Bacillus cereus* of FBC – 28 UGSKhA at the isoelectric point (pI) captures the values in a wide range of 4.2 - 12.1. The obtained data on the proteome of FBC – 28 UGSKhA bacteriophage specific for *Bacillus cereus* brings us closer to the development of phage preparations of a new generation intended to decontaminate food raw materials, which have high specificity and a wide range of lytic action within the bacterial species, and complying with biosafety standards.

Bibliography

1. Aleshkin, A.V. Biodecontamination and prolonging of shelf life of meat and fish semi-finished products using bacteriophages / A.V. Aleshkin, E.R. Zulkarneev, Yu.V. Larina // *Astrakhan Medical Journal*. - 2015. - Volume 10, No. 4. - P. 40-48.
2. Suyarova, E.A. Diagnostic capabilities of proteomic profiling in gastroenterology [Electronic resource] / E.A. Suyarova, G.N. Tarasova // *Fundamental research*. - 2015. - № 1-9. - P. 1921-1925. - URL: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=38454> (appeal date: 10/15/2018).
3. Molecular biological and genetic principles for selection of therapeutic bacteriophages of *Pseudomonas* and *Staphylococcus* bacteria genera / K.A. Miroshnikov, E.E. Kulikov, O.S. Darbeeva, K.A. Lysko, G.M. Ignatiev // *Applied Biochemistry and Microbiology*. - 2014. - Volume 50, No. 3. - P. 338.
4. Kiseleva, Irina Anatolyevna. Specialized product of dietary preventive nutrition based on a bacteriophage cocktail: design, production technology, assessment of safety and efficacy of use: dissertation of Candidate of Biological Sciences: 03.01.06 - biotechnology (including bionanotechnology) 03.02.03 - microbiology / I.A. Kiseleva. - Moscow, 2015. - 202 p.
5. Conrotto, P. Proteomic approaches in biological and medical sciences: principles and applications / P. Conrotto, S. Souchelnytskyi // *Exp. Oncol.* - 2008. - V. 30, № 3. - P. 171–180.
6. Global food losses and food waste: extent, causes and prevention / J. Gustavsson [et al.]. – Rome : FAO, 2011. – 38 p.
7. Isolation and identification of *Bacillus cereus* bacteria / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, K.V. Maslyukova, E.A. Lyashenko, A.I. Kaldyrkaev, S.N. Zolotukhin, N.I. Molofeeva, E.V. Suldina // *Natural and technical sciences*. - 2018. - № 7 (121). - P. 28-33.
8. Leontiev, V.N. Food spoilage: types, causes and methods of prevention / V.N. Leontiev, Kh.M. Elkaib, A.E. Elkhedmi // *Scientific works of BSU*. - 2013. - Volume 8, part 1. - P. 125-130.
9. Modern food microbiology / ed. by J. M. James; transl. from English by E. Baranova. - M.: Binom, 2012. - 888 p.
10. Kutter, E. Bacteriophages: Biology and practical application / E. Kutter, A. Sulakvelidze; scientific editor A.V. Letarov; transl. from English by E.E. Kulikov [et al.]. - Moscow: The Scientific World, 2012. - 636 p.
11. Effects of sunlight on bacteriophage viability and structure / K.E. Wommack, R.T. Hill, N.F. Miller, R.R. Colwell // *Appl Environ Microbiol.* – 1996. – V. 62. – P. 1336-1341.
12. Molecular genetic characteristics of *Bacillus cereus* FBC-28 UGSKhA bacteriophage / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, A.V. Mastilenko, E.V. Suldina // *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. - 2018. - № 2 (42). - P. 216-222.
13. Molecular-genetic Characteristics of Bacteriophage *Bacillus cereus* FBC – 28 UGSHA / N.A. Feoktistova, D.A. Vasiliev, A.V. Mastilenko, E.V. Suldina, S.N. Zolotukhin // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2018. – V. 9. - № 4. – P. 345-354.