

Исследование новой защитной системы BREX *E.coli*.

Ю.В. Гордеева^{1,3}, А.Б. Исаев^{2,3}, К.М.Цветкова, М.Е. Матлашов, К.В. Северинов^{2,3}

¹Московский Физико-Технический Институт (ГУ), Долгопрудный

²Сколковский институт науки и технологий, Москва

³Институт биологии гена РАН, Москва

Существующая гонка вооружений между бактериями и их вирусами (бактериофагами или сокращенно фагами) играет значительную роль в эволюции бактериальных и вирусных геномов, что приводит к появлению новых защитных систем. Известные на данный момент механизмы рестрикции – модификации, abortивной инфекции и CRICPR-Cas системы внесли неоценимый вклад в развитие генной инженерии. Поиск новых защитных систем является перспективным направлением молекулярной биологии.

Исследования показали, что гены антивирусной защиты кластеризуются в геномах в так называемых «островках защиты» [1]. В одном из таких островков встречается ген *pglZ*, кодирующий предположительно щелочную фосфатазу. Этот ген необходим для устойчивости *Streptomyces coelicolor* A3(2) к фагу ФС31[2]. Анализ геном бактерий и архей показал присутствие гена *pglZ* в 10% секвенированных геномах. Приблизительно в половине случаев данный ген находился в кластере из шести генов, что дало возможность сделать предположение о существовании новой защитной системой, названной BREX (от англ. bacteriophage exclusion). Один из генов гомологичен гену *pglZ* *S.coelicolor*, другой кодирует метилтрансферазу. Остальные четыре гена кодируют Lon-подобную протеазу, названную авторами BxL; белок, гомологичный РНК-связывающему белку NusB; белок неизвестной функции BxV и состоящий из ~1,200 аминокислот белок с АТФ-связывающим мотивом - BxC. Антивирусная активность системы была подтверждена переносом BREX-генов *Bacillus cereus* в бактерию *Bacillus subtilis*, изначально не содержащую данную систему[2].

Данная работа посвящена исследованию BREX-кассеты штамма *E.coli* HS, клонированной в экспрессионный вектор pBTB под естественным промотором. Данная конструкция была трансформирована в лабораторный штамм *E.coli* BW25113, в результате чего клетки приобрели устойчивость к двухцепочечным ДНК-содержащим фагам (λ , T4, T5, T7) и не проявляли защиту к одноцепочечным ДНК/РНК-содержащим фагам (M13, MS2, Q β). Увеличение MOI (множественность инфекции) приводит к частичному лизису и остановке роста на определенном уровне. Также не происходит продукции фага, что делает BREX систему похожей на abortивную инфекцию. Данная система не влияет на адсорбцию фага, а действует внутриклеточно, распознавая двухцепочечные формы ДНК. В процессе инфекции деградация хозяйской ДНК значительно задержана и накопления T7 фага не наблюдается даже после 3 часов инкубации. BREX ингибирует лизогенизацию бактерии фагом λ , а также снижает эффективность трансформации и трансдукции.

Литература

1. *Makarova and. et al.* Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems // Nat. Rev. Microbiol., 2011, 9-6, 467–477
2. Чиненова Т.А., Мкртумян Н.М., Ломовская Н.Д. Генетическая характеристика нового признака фагоустойчивости у *Streptomyces coelicolor* A3(2) // Генетика, 1982, 18-12, 1945-1952.
3. *Golfarb and et al.* BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes//The EMBO journal, 2014