

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 579.25+578.81
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-190-196>

Поступила в редакцию 04.03.2022
Received 04.03.2022

Т. А. Пилипчук, А. Э. Охремчук, Э. И. Коломиец

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ *PSEUDOMONAS PHAGE* БИМ BV-45 Д

Аннотация. Проведен анализ полной нуклеотидной последовательности бактериофага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д – компонента биопестицида «Мультифаг» для защиты сельскохозяйственных культур от болезней, вызванных фитопатогенными бактериями *Pseudomonas syringae*. Показано, что геном фага представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 40 383 п. н. (среднее содержание ГЦ-пар составило 58 %), имеет 46 открытых рамок считывания, в том числе 13, описанных в геномах близкородственных фагов. Кроме того, выявлено 4 регуляторные последовательности, характерные для бактериальных генов, узнавание которых обеспечивается сигма-фактором (σ^{70}) РНК-полимеразы, специфических фаговых промоторов не обнаружено. Установлена идентичность большинства аминокислотных последовательностей белков фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д с белками известного фага *Pseudomonas phage* Andromeda (на 95–100 %), вместе с тем последовательность белка ДНК-эндонуклеазы (ген 22) имеет сходство (на 63 %) с аналогичным белком фага *Pseudomonas phage* PollyC. Полученные данные позволяют предположить, что мозаичная структура генома фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д обусловлена рекомбинационными перестройками между вышеупомянутыми фагами.

Ключевые слова: геном, бактериофаг, секвенирование нового поколения, фитопатогенные бактерии *Pseudomonas syringae*, биопестицид «Мультифаг»

Для цитирования: Пилипчук, Т. А. Особенности молекулярно-генетической организации *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д / Т. А. Пилипчук, А. Э. Охремчук, Э. И. Коломиец // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. навук. – 2022. – Т. 67, № 2. – С. 190–196. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-190-196>

Tatsiana A. Pilipchuk, Artur E. Akhremchuk, Emilia I. Kalamiyets

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

MOLECULAR-GENETIC STRUCTURE OF *PSEUDOMONAS PHAGE* BIM BV-45 D

Abstract. Full nucleotide sequence of bacteriophage *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D – active component of biopesticide Multiphage intended for control of crop bacterial diseases caused by *Pseudomonas syringae* was analyzed. It was found that phage genome is represented by linear double-stranded DNA sized 40383 b. p. (average GC contents equals 58 %), comprising 46 open reading frames, including 13 described in genomes of closely related phages. 4 control sequences typical for bacterial genes recognized by sigma factor (σ^{70}) of RNA polymerase were detected, specific phage promoters were not localized. The identity was established of the majority of protein amino acid sequences of the *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D with the proteins of the known *Pseudomonas phage* Andromeda (95–100 %), at the same time, the sequences of the DNA endonuclease protein (gene 22) are similar (63 %) to the corresponding protein of *Pseudomonas phage* PollyC. The obtained data suggest that the mosaic structure of *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D genome is due to recombinant rearrangements between the afore-mentioned phages.

Keywords: genome, bacteriophage, next generation sequencing, phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae*, biopesticide “Multiphage”

For citation: Pilipchuk T. A., Akhremchuk A. E., Kalamiyets E. I. Molecular-genetic structure of *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2022, vol. 67, no. 2, pp. 190–196 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2022-67-2-190-196>

Введение. В настоящее время ведущими научными коллективами всего мира проводится активное изучение бактериофагов, поэтому количество публикаций о биологии и практическом использовании фагов для разработки ряда современных передовых технологий постоянно возрастает [1]. В связи с увеличением доступности методов секвенирования нового поколения количество секвенированных геномов бактериофагов растет в геометрической прогрессии.

Большинство публикаций посвящено медицинским аспектам использования бактериофагов, тем не менее их применение в качестве основы средств защиты от бактериозов в растениеводстве, животноводстве, рыбоводстве, при хранении пищевых продуктов также представляется весьма актуальным. Так, в Институте микробиологии НАН Беларуси создано новое направление по изоляции и изучению бактериофагов фитопатогенных бактерий с целью разработки биологических средств защиты растений и животных от болезней бактериальной этиологии. В рамках указанного направления разработана технология получения биопестицида «Мультифаг» для борьбы с фитопатогенными бактериями *Pseudomonas syringae* – возбудителями целого ряда вредоносных заболеваний сельскохозяйственных культур [2].

Целью настоящей работы являлся анализ нуклеотидной последовательности генома бактериофага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д – одного из активных штаммов, входящих в состав биопестицида «Мультифаг».

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлся бактериофаг *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, выделенный из листьев плодовых растений и депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов.

Для получения фаголизата использовали питательный бульон на основе гидролизата кильки (ГРМ-бульон). В колбу со свежей стерильной средой вносили 10 % 16–18-часовой культуры индикаторного штамма бактерий *Pseudomonas helmanticensis* БИМ В-582 Д (ОП₅₉₀ – 1,0–1,2) и инкубировали на качалке в течение 1–3 ч для получения культуры в логарифмической стадии роста (ОП₅₉₀ – 0,6–0,7). Далее бактерии заражали бактериофагом *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д с множественностью инфекции 1:100. Через 1,5–2 ч совместного культивирования фага с бактерией происходило просветление культуры (ОП₅₉₀ – 0,2), которое свидетельствовало о размножении фага и лизисе бактериальной культуры. Полученный фаголизат центрифугировали в течение 30 мин при 6000 g для удаления остатков бактерий.

Для выделения ДНК фага очищенный фаголизат центрифугировали при 24 000 g в течение 2 ч для осаждения фаговых частиц. Супернатант сливали, осадок ресуспендировали в SM-буфере и пропускали через фильтры с диаметром пор 0,22 мкм (GVS, США). К фильтрату добавляли ДНКазу I и РНКазу А (ThermoFisher Scientific, США), инкубировали 30 мин при 37 °С. После инактивации ферментов в течение 10 мин при 65 °С добавляли 30 %-ный раствор полиэтиленгликоля (Мг = 6000) и оставляли на ночь при 4 °С для лучшего осаждения фаговых частиц. Далее раствор центрифугировали при 12 000 g в течение 5 мин и из полученного осадка с помощью коммерческого набора Bacteria DNA Preparation Kit (Jena Bioscience, Германия) выделяли нуклеиновые кислоты согласно инструкции производителя. Концентрацию выделенной ДНК фага определяли с помощью спектрофотометра NanoPhotometrR P-Class P 330 (Implen GmbH, Германия).

Для приготовления библиотек ДНК использовали набор реактивов NEBNext DNA Library Prep Kit for Illumina® (New England Biolabs, США). Высокопроизводительное определение нуклеотидных последовательностей осуществляли на приборе MiSeq (Illumina), используя комплект реактивов MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina). Качественный и количественный анализ полученных прочтений проводили с помощью программы FastQC [3]. Для фильтрования полученных на секвенаторе MiSeq fastq-файлов по размеру и длине использовали программу Trimmomatic-0.39 [4], для парного выравнивания последовательностей с целью их сравнения – пакет программ Blast [5] и базу данных GenBank [6]. Прочтения, полученные на приборе MiSeq, собирали до контигов с помощью программы SPAdes 3.14.1 [7]. Для выравнивания прочтений относительно референсной последовательности использовали программу Bowtie2 v2.4.2 [8], для визуализации выровненных прочтений относительно референсной последовательности – программу Tablet v. 1.19.09.03 [9].

Аннотацию нуклеотидной последовательности и сходство аминокислотных последовательностей белков с таковыми других фагов оценивали с помощью программ PHIRE [10], BPROM [11], ARNold [12], Standard Protein BLAST [13], а анализ возможных функций проводили по поиску консервативных доменов с использованием программ InterProScan [14], NCBI Conserved Domain Search [15]. Графическое изображение генетической карты фага получали с помощью программы SnapGene Viewer 3.2.1 [16]. Парное сравнение полных последовательностей геномной ДНК фагов рода *Bifseptvirus* осуществляли с помощью tBLASTx, визуализированных при использо-

вании программы ViPTree [17]. Нуклеотидная последовательность генома фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д депонирована в ГенБанк Национального центра биотехнологической информации США (NCBI) под регистрационным номером MT094430.

Результаты и их обсуждение. Бактериофаг *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д изолирован из листьев яблони, характеризуется широким спектром литической активности в отношении бактерий *Pseudomonas caricapapayae* БИМ В-239, *Pseudomonas syringae* БИМ В-240, *Pseudomonas syringae* БИМ В-268, *Pseudomonas syringae* БИМ В-1229, *Pseudomonas syringae* БИМ В-1140, *Pseudomonas syringae* БИМ В-1144, *Pseudomonas fluorescens* БИМ В-147, *Pseudomonas fluorescens* БИМ В-158, *Pseudomonas frederiksbergensis* БИМ В-159, *Pseudomonas putida* БИМ В-1142, *Pseudomonas helmanticensis* БИМ В-582 Д.

Анализ генома показал, что, согласно принятой систематике вирусов, исследуемый фаг относится к роду *Bifseptivirus* семейства *Autographiviridae*, порядка *Caudovirales*, класса *Caudoviricetes*,

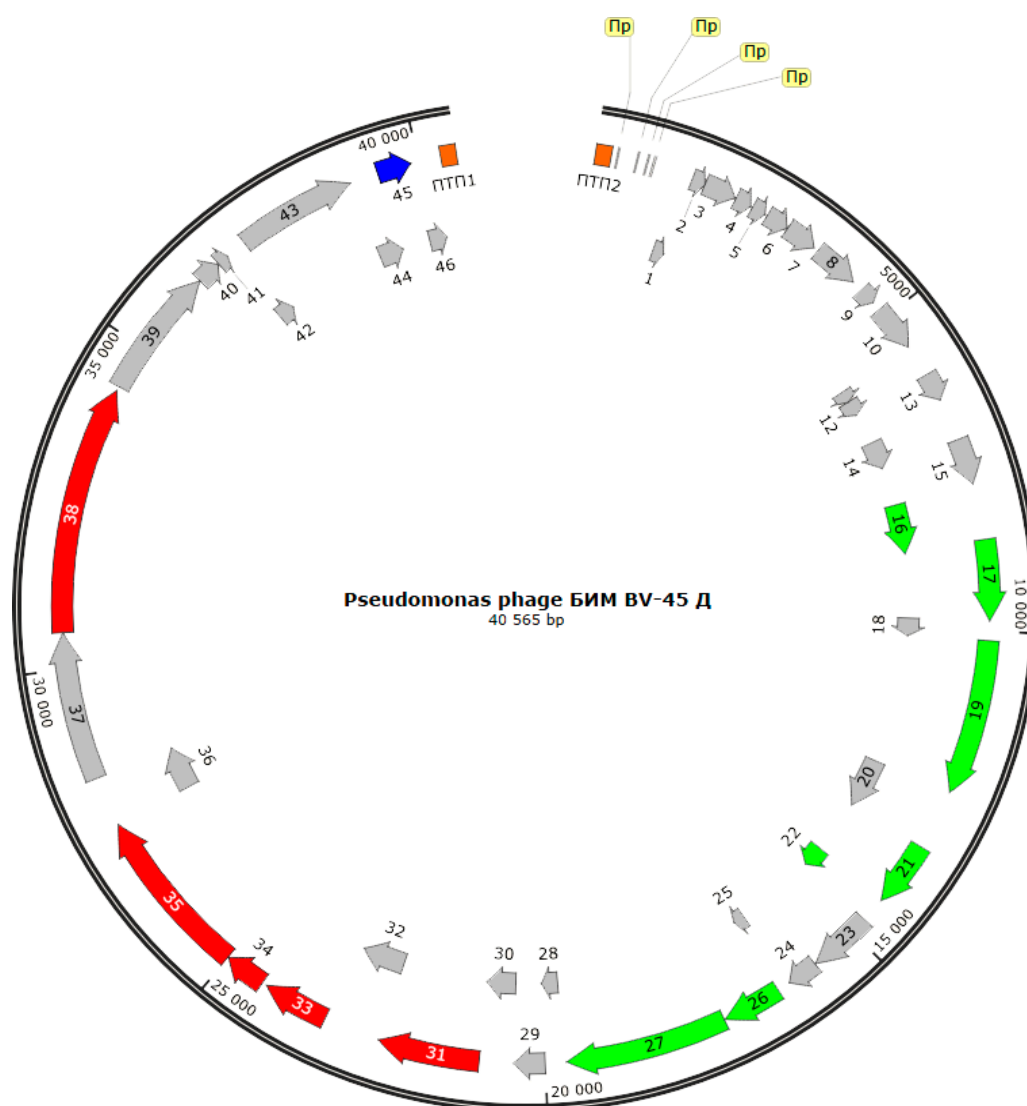


Рис. 1. Геном бактериофага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д: Пр – промотор, узнаваемый сигма-фактором (σ^{70}) бактериальной РНК-полимеразой; ПТП – прямые терминальные повторы; → – белки, отвечающие за копирование вирусного генетического материала; → – составные белки капсида и отростка; → – белки, обеспечивающие лизис клетки-хозяина; → – гипотетические белки

Fig. 1. *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 D genome: Pr – promoter, recognizable sigma factor (σ^{70}) of bacterial RNA polymerase, DTR – direct terminal repeats, → – proteins responsible for copying viral genetic material, → – constituent proteins of the capsid and process, → – host cell lysis proteins, → – hypothetical proteins

типа *Uroviricota*, царства *Heunggongvirae*, реалма *Duplodnaviria*. В базе данных Taxonomy Virus NCBI на сегодняшний день зарегистрировано только три бактериофага, относящиеся по таксономии к новому роду *Bifseptivirus*: изучаемый нами фаг *Pseudomonas phage* BIM BV-45 Д и ранее зарегистрированные *Pseudomonas phage* Andromeda и *Pseudomonas phage* Bf7.

Бактериофаг *Pseudomonas phage* Andromeda изолирован ирландскими учеными из р. Лаган (Белфаст, Северная Ирландия), бактерия-хозяин – *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Van Hall. Выявлено, что геном этого фага представлен двухцепочечной молекулой ДНК размером 40 008 п. н. (содержание ГЦ-пар – 58,23 %) и имеет 46 открытых рамок считывания [18]. Бактериофаг *Pseudomonas phage* Bf7 выделен венгерскими исследователями, бактерия-хозяин – *Pseudomonas tolaasii* LMG 2342^T. Полный геном бактериофага Bf7 составляет 40 058 п. н. (46 открытых рамок считывания) и представлен двухцепочечной ДНК (содержание ГЦ-пар – 58,4 %). Характеризуется широким спектром литической активности в отношении 16 штаммов бактерий рода *Pseudomonas* (*P. tolaasii*, *P. reactans*, *P. agarici*, *P. cichorii*, *P. fluorescens* (II, III и IV биовары), *P. poae*, *P. putida*, *P. rhizosphaerae*) [19].

Изучаемый нами фаг *Pseudomonas phage* BIM BV-45 Д способен лизировать 11 штаммов бактерий рода *Pseudomonas*, его геном представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 40 383 п. н. (среднее содержание ГЦ-пар – 58 %), имеет 46 открытых рамок считывания, в том числе 13, определяющих синтез известных белков, и 33 гипотетических полипептида, выявляемых в геномах близкородственных фагов (рис. 1).

В геноме фага *Pseudomonas phage* BIM BV-45 Д выявлено 4 регуляторные последовательности, характерные для бактериальных генов, узнавание которых обеспечивается сигма-фактором (σ^{70}) РНК-полимеразы. Специфических фаговых промоторов у фага не обнаружено. Анализ генома *Pseudomonas phage* BIM BV-45 Д показал отсутствие известных генов, ответственных за лизогенный цикл, что свидетельствует о литической природе фага.

Сравнение последовательности аминокислотных остатков белков фага *Pseudomonas phage* BIM BV-45 Д с другими геномами выявило сходство на 95–100 % с аминокислотными последовательностями бактериофага *Pseudomonas phage* Andromeda (KX458241, NC_031014) и на 80–97 % – с фагом *Pseudomonas phage* Bf7 (JN991020, NC_016764) (см. таблицу, рис. 2).

Все указанные в таблице предполагаемые белки можно разделить на две группы по степени сходства с фагом *Pseudomonas phage* Andromeda. К первой группе относятся ДНК-хеликаза; ДНК-полимераза; Т3/Т7 РНК-полимераза; белок, соединяющий головку фага с отростком; основной белок капсида; тубулярные белки А и В отростка и внутренний белок вириона (сходство на 98–100 %), к второй – ДНК-праймаза, экзонуклеаза, ДНК-лигаза, лизоцим (сходство на 95–97 %).

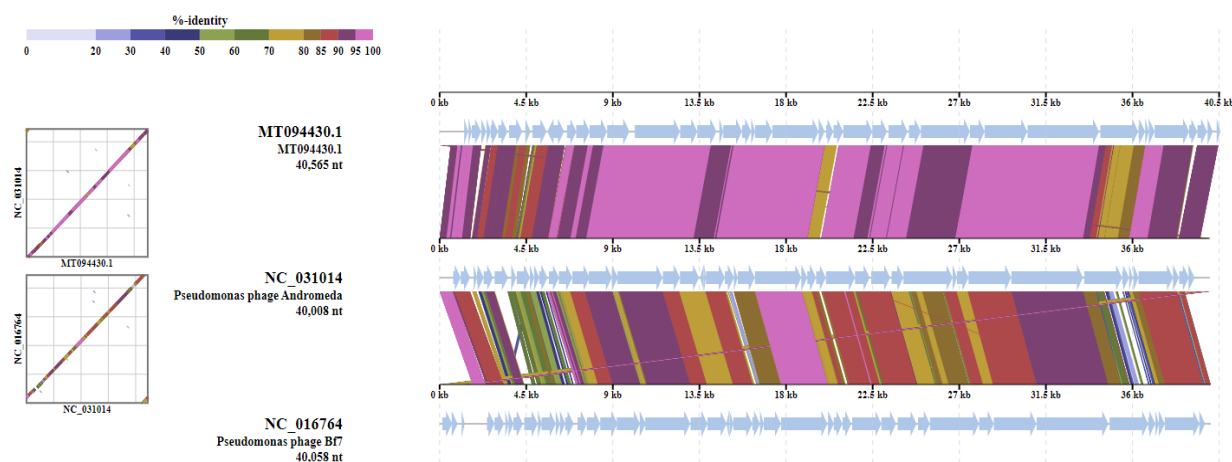


Рис. 2. Попарное сравнение полных последовательностей геномной ДНК фагов рода *Bifseptivirus* с помощью tBLASTx, визуализированных при использовании сервера ViPTree

Fig. 2. Pairwise comparison of complete genomic DNA sequences of phages of the genus *Bifseptivirus* using tBLASTx, visualized with the ViPTree server

Степень сходства генетических детерминант фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, определяющих синтез белков с известной функцией с детерминантами фагов из базы данных RefSeq Select proteins NCBI

The degree of similarity of genetic determinants of the *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D encoding the synthesis of proteins with a known function, and phage determinants from the RefSeq Select proteins NCBI database

Номер локуса	Предполагаемый белок	Фаги со схожими аминокислотными последовательностями белка	Степень сходства, %
16	ДНК-праймаза	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	96,33
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	86,90
17	ДНК-хеликаза	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	98,75
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	96,25
19	ДНК-полимераза	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	99,49
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	90,26
21	Экзонуклеаза	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	95,45
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	86,06
22	ДНК-эндонуклеаза	<i>Pseudomonas phage</i> Polly C	62,70
		<i>Xanthomonas phage</i> XAJ24	52,38
26	ДНК-лигаза	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	96,63
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	82,15
27	Т3/Т7 РНК полимеразы	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	99,38
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	96,76
31	Белок, соединяющий головку фага с отростком	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	99,60
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	89,60
33	Основной белок капсида	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	98,78
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	91,79
34	Тубулярный белок А отростка	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	99,03
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	91,26
35	Тубулярный белок В отростка	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	100,0
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	94,47
38	Внутренний белок вириона	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	98,79
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	90,24
45	Лизоцим	<i>Pseudomonas phage</i> Andromeda	94,64
		<i>Pseudomonas phage</i> Bf7	79,76

Последовательность аминокислотных остатков ДНК-эндонуклеазы (ген 22) не была идентична последовательностям, описанным для фага *Pseudomonas phage* Andromeda, но имела сходство (на 63 %) с белком фага *Pseudomonas phage* PollyC (MG775261), относящегося к роду *Polycephavirus*. Полученные данные позволяют предположить, что мозаичная структура генома фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д обусловлена рекомбинационными перестройками между вышеупомянутыми фагами.

Закключение. В результате анализа полной нуклеотидной последовательности бактериофага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, входящего в состав биопестицида «Мультифаг», установлено, что его геном представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 40 383 п. н. (среднее содержание ГЦ-пар составило 58 %), имеет 46 открытых рамок считывания, в том числе 13, определяющих синтез известных белков, выявляемых в геномах близкородственных фагов. В геноме фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д также выявлено 4 регуляторные последовательности, характерные для бактериальных генов, узнавание которых обеспечивается сигма фактором (σ^{70}) РНК-полимеразы. Специфических фаговых промоторов не обнаружено. Анализ генома *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д показал отсутствие известных генов, ответственных за лизогенный цикл. Установлена идентичность большинства аминокислотных последовательностей белков фагов *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д и *Pseudomonas phage* Andromeda (на 95–100 %), тогда как аминокислотная последовательность ДНК-эндонуклеазы (ген 22) имеет сходство (на 63 %) с аналогичным белком фага *Pseudomonas phage* PollyC. Полученные данные позволяют предположить, что мозаичная структура генома фага *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д обусловлена рекомбинационными перестройками между вышеупомянутыми фагами.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б20Р-078).

Выражаем благодарность за помощь в работе канд. биол. наук Леониду Николаевичу Валентовичу.

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant B 20R-078).

We express sincere gratitude for assistance our studies provided by Ph. D. (Biol.) Leonid Valentovich.

Список использованных источников

1. Бактериофаги: биология и практическое применение : пер. с англ. / Х. В. Аккерман [и др.] ; под ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе ; науч. ред. А. В. Летаров. – М. : Науч. мир, 2012. – 636 с.
2. Биопестицид «Мультифаг» на основе фагов фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae* и *Pseudomonas fluorescens* для использования в сельском хозяйстве в качестве средства борьбы с болезнями растений / Т. А. Пилипчук [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / отв. ред. : Э. И. Коломиец, А. Г. Лобанок. – Минск, 2015. – Т. 7. – С. 197–219.
3. Babraham Bioinformatics – FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. – Дата доступа : 30.11.2019.
4. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinform. Oxf. J. – 2014. – Vol. 30, N 15. – P. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
5. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul [et al.] // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
6. GenBank / D. A. Benson [et al.] // Nucl. Acids Res. – 2005. – Vol. 33, suppl. 1. – P. D34–D38. <https://doi.org/10.1093/nar/gki063>
7. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing / A. Bankevich [et al.] // J. Comput. Mol. Cell Biol. – 2012. – Vol. 19, N 5. – P. 455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
8. Langmead, B. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 / B. Langmead, S. L. Salzberg // Nat. Meth. – 2012. – Vol. 9, N 4. – P. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
9. Using Tablet for visual exploration of second-generation sequencing data / I. Milne [et al.] // Brief. Bioinform. – 2013. – Vol. 14, N 2. – P. 193–202. <https://doi.org/10.1093/bib/bbs012>
10. Lavigne, R. PHIRE, a deterministic approach to reveal regulatory elements in bacteriophage genomes / R. Lavigne, W. D. Sun, G. Volckaert // Bioinformatics. – 2004. – Vol. 20, N 5. – P. 629–635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg456>
11. Solovyev, V. Automatic annotation of microbial genomes and metagenomic sequences. In metagenomics and its applications in agriculture, biomedicine and environmental studies / V. Solovyev, A. Salamov // Metagenomics and its Applications in Agriculture, Biomedicine and Environmental Studies / ed. W. Li. – New York, 2011. – P. 61–78.
12. ARNold, finding terminators at IGM – Web Server [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://rna.igmors.u-psud.fr/toolbox/arnold/>. – Дата доступа : 09.11.2016.
13. Standard Protein BLAST [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>. – Дата доступа : 09.11.2021.
14. InterProScan – InterPro [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence/>. – Дата доступа : 09.11.2021.
15. NCBI Conserved Domain Search [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>. – Дата доступа : 09.11.2021.
16. SnapGene Viewer 6.0.2 Crack Plus Activation Code [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://hardcracked.com/previous/snapgene-viewer/85873/27>. – Дата доступа : 21.02.2022.
17. ViPTree: the viral proteomic tree server / Y. Nishimura [et al.] // Bioinformatics. – 2017. – Vol. 33, N 15. – P. 2379–2380. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx157>
18. Magill, D. J. Genomic hypervariability of phage Andromeda is unique among known dsDNA viruses / D. J. Magill, T. A. Skvortsov, L. A. Kulakov // bioRxiv [Electronic resource]. – 2019. – Mode of access : <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/619015v4.full.pdf+html>. – Date of access : 09.11.2021.
19. Isolation of new *Pseudomonas tolaasii* bacteriophages and genomic investigation of the lytic phage BF7 / E. Sajben-Nagy [et al.] // FEMS Microbiol. Lett. – 2012. – Vol. 332, N 2. – P. 162–169. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02592.x>

References

1. Katter E., Sulakvelidze A. (eds.). *Bacteriophages: biology and application*. Moscow, Nauchnyi mir Publ., 2012. 636 p. (in Russian).
2. Pilipchuk T. A., Gerasimovich A. D., Anan'eva I. N., Kolomiets E. I., Popov F. A., Novik G. I. Biopesticide 'Multiphage' based on phages of phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas fluorescens* used in agriculture to control plant diseases. *Mikrobnye biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sbornik nauchnykh trudov. Tom 7* [Microbial biotechnologies: fundamental and applied aspects: collection of scientific works. Vol. 7]. Minsk, 2015, pp. 197–219 (in Russian).
3. Babraham Bioinformatics – FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. Available at : <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed 09.11.2021).

4. Bolger A. M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics Oxford Journal*, 2014, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
5. Altschul S. F., Gish W., Miller W., Myers E. W., Lipman D. J. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
6. Benson D. A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J., Ostell J., Wheeler D. L. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 2005, vol. 33, suppl. 1, pp. D34–D38. <https://doi.org/10.1093/nar/gki063>
7. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A. A., Dvorkin M., Kulikov A. S. [et al.] SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Molecular Cell Biology*, 2012, vol. 19, no. 5, pp. 455–477. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
8. Langmead B., Salzberg S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 2012, vol. 9, no. 4, pp. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
9. Milne I., Stephen G., Bayer M., Cock P. J. A., Pritchard L., Cardle L., Shaw P. D., Marshall D. Using Tablet for visual exploration of second-generation sequencing data. *Briefings in Bioinformatics*, 2013, vol. 14, no. 2, pp. 193–202. <https://doi.org/10.1093/bib/bbs012>
10. Lavigne R., Sun W. D., Volckaert G. PHIRE, a deterministic approach to reveal regulatory elements in bacteriophage genomes. *Bioinformatics*, 2004, vol. 20, no. 5, pp. 629–635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg456>
11. Solov'yev V., Salamov A. Automatic annotation of microbial genomes and metagenomic sequences. In metagenomics and its applications in agriculture, biomedicine and environmental studies. *Metagenomics and its Applications in Agriculture, Biomedicine and Environmental Studies*. New York, 2011, pp. 61–78.
12. ARNold, finding terminators at IGM – Web Server. Available at : <http://rna.igmors.u-psud.fr/toolbox/arnold/> (accessed 09.11.2021).
13. Standard Protein BLAST. Available at : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins> (accessed 09.11.2021).
14. InterProScan – InterPro. Available at : <https://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence/> (accessed 09.11.2021).
15. NCBI Conserved Domain Search. Available at : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi> (accessed 09.11.2021).
16. SnapGene Viewer 6.0.2 Crack Plus Activation Code. Available at : <http://hardcracked.com/previous/snapgene-viewer/85873/27> (accessed 21.02.2022).
17. Nishimura Y., Yoshida T., Kuronishi M., Uehara H., Ogata H., Goto S. ViPTree: the viral proteomic tree server. *Bioinformatics*, 2017, vol. 33, no. 15, pp. 2379–2380. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx157>
18. Magill D. J., Skvortsov T. A., Kulakov L. A. Genomic hypervariability of phage Andromeda is unique among known dsDNA viruses. *bioRxiv*. Available at : <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/619015v4.full.pdf+html> (accessed 21.02.2022).
19. Sajben-Nagy E., Maróti G., Kredics L., Horváth B., Párducz A., Vágvölgyi C., Manczinger L. Isolation of new *Pseudomonas tolaasii* bacteriophages and genomic investigation of the lytic phage BF7. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, vol. 332, no. 2, pp. 162–169. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02592.x>

Информация об авторах

Пилипчук Татьяна Андреевна – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanya.pilipchuk@tut.by

Охремчук Артур Эдуардович – мл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: akhremchuk@bio.bsu.by

Коломиец Эмилия Ивановна – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by

Information about the authors

Tatsiana A. Pilipchuk – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 2220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanya.pilipchuk@tut.by

Artur E. Akhremchuk – Junior Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 2220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: akhremchuk@bio.bsu.by

Emiliya I. Kalamiyets – Academician, Dr. Sc. (Biol.), Professor, Chief Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 2220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by