

УДК 578.4; 579.678; 579.62

06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

ФИЛОГЕНОМИКА БАКТЕРИОФАГОВ P22-ТИПА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРЕПАРАТОВ, МОДИФИЦИРУЮЩИХ ИММУННУЮ СИСТЕМУ МОЛОДНЯКА ПТИЦЫ

Василенко Олег Викторович
канд. биол. наук

ovvasilenko@gmail.com

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пушчино, Россия

Зимин Андрей Антонович

канд. биол. наук

AuthorID: 81249

dr.zimin8@yandex.ru

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрабина РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН», г. Пушчино, Россия

Назипова Нафиса Наилловна

канд. физ.-мат. наук

ResearcherID N-4270-2013

nnn@impb.ru

Институт математических проблем биологии РАН – филиал Института прикладной математики им. М.В. Келдыша РАН, г. Пушчино, Россия

Скобликов Николай Эдуардович

канд. мед. наук

SPIN-код: 6591-8710

skoblikow@yandex.ru

*ФГБНУ "Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии", Российская Федерация, г. Краснодар
ООО «СЛ МедикалГруп», Россия, г. Краснодар*

Кошчаев Андрей Георгиевич

д-р биол. наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Scopus ID:57189599222

kagbio@mail.ru

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им И.Т. Трубилина», г. Краснодар, Россия

Одной из важнейших задач для поиска эффективных средств борьбы с бактериальными

UDC 578.4; 579.678; 579.62

06.02.02 Veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with mycotoxicology and immunology

PHILOGENOMICS OF P22-TYPE BACTERIOPHAGES FOR THE DEVELOPMENT OF PREPARATIONS MODIFYING POULTRY IMMUNE SYSTEM

Vasilenko Oleg Viktorovich

Cand.Biol.Sci.

ovvasilenko@gmail.com

Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms named after G. K. Scriabin RAS - a separate subdivision of the Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Pushchino, Russia

Zimin Andrei Antonovich

Cand.Biol.Sci.

AuthorID: 81249

dr.zimin8@yandex.ru

Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms named after G. K. Scriabin RAS - a separate subdivision of the Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences", Pushchino, Russia

Nazipova Nafisa Nailovna

Cand.Phys.-Math.Sci.

ResearcherID N-4270-2013

nnn@impb.ru

Institute of Mathematical Problems of Biology RAS - the Branch of Keldysh Institute of Applied Mathematics of Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

Skoblikov Nikolai Edwardovich

Cand.Med.Sci.

RSCI SPIN-code: 6591-8710

skoblikow@yandex.ru

*Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russian Federation
"CL MedicalGroup" LTD, Krasnodar, Russia*

Koshchaev Andrey Georgievich

Dr.Sci.Biol., Professor, Corresponding Member of

RAS

Scopus ID:57189599222

kagbio@mail.ru

Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar, Russia

One of the most important tasks for the search for effective means of combating bacterial infections of

инфекциями сельскохозяйственных животных на фоне широкого распространения генов множественной устойчивости к антибиотикам является поиск новых антибактериальных средств. Некоторые бактериофаги, например, колифаг P22, не только могут контролировать размножение инфекционных бактерий, но и модифицировать работу иммунной системы сельскохозяйственной птицы. Разработка методов поиска родственных бактериофагу P22 вирусов, обладающих иммуномодулирующими свойствами, является важной задачей для получения новых антибактериальных агентов. Эти подходы важны для повышения продуктивности производства птицеводства и сокращения затрат на производство единицы производимой продукции. Для сравнительного исследования полных геномов бактериофагов этой группы была проведена выборка геномов из базы данных GenBank на основе результата работы программы BLASTn. Была сформирована группа из 15 фаговых геномов. С помощью пакетов программ JSpecies v.1.2.1. и Mega6 построено дерево сходств полных геномов фагов группы P22. При этом самым высоким уровнем сходства с геномом фага P22 обладали фаги: Phi20, Phi75, Sp25, Sp34, sal4, sal5, ST104, ST160 и SE1, что позволяет предположить их перспективность для терапевтических исследований на примере молодняка кур. Хотя сам бактериофаг P22 нельзя применять на практике, так как P22 с высокой эффективностью трансдуцирует гены, но поиск среди родственных фагов нетрансдуцирующих может принести интересный, перспективный для применения в терапии результат. Данное исследование показало возможность успешного расчета эволюционных расстояний между вирусными геномами средней длины с помощью программы JSpecies v.1.2.1. Таким путем сравнение геномов проводится попарно, это существенно сокращает требования к вычислительным мощностям, - для вычислений подходят достаточно мощные настольные компьютеры вместо суперкомпьютеров и облачных кластеров

Ключевые слова: ЦЫПЛЯТА, ГУСЯТА, КИШЕЧНАЯ МИКРОФЛОРА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗЫ, БАКТЕРИОФАГИ, ЭВОЛЮЦИОННАЯ ГЕНОМИКА, ПРОГРАММА JSPECIES V.1.2.1, МЕТОД СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА ПОЛНЫХ ГЕНОМОВ ФАГОВ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫРАВНИВАНИЯ, БАКТЕРИОФАГ P22

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-164-026>

farm animals against the background of the wide spread of genes for multiple antibiotic resistance is the search for new antibacterial agents. Some bacteriophages, for example, coliphage P22, can not only control the growth of infectious bacteria, but also modify the functioning of the immune system of poultry. The development of methods for searching for viruses related to bacteriophage P22 and possessing immunomodulating properties is an important task for obtaining new antibacterial agents. These approaches are important for increasing the productivity of poultry production and reducing the cost per unit of output. For a comparative study of the complete genomes of bacteriophages of this group, we sampled genomes from the GenBank database based on the results of the BLASTn program. A group of 15 phage genomes was formed. Using the JSpecies v.1.2.1 software packages, and Mega6 constructed a tree of similarities for the complete genomes of the P22 group phages. At the same time, the highest level of similarity with the P22 phage genome was possessed by the following phages: Phi20, Phi75, Sp25, Sp34, sal4, sal5, ST104, ST160, and SE1, which suggests that they are promising for therapeutic studies using the example of young chickens. Although the bacteriophage P22 itself cannot be used in practice, since P22 transduces genes with high efficiency, a search among related non-transducing phages can yield an interesting result that is promising for use in therapy. This study has shown the possibility of successfully calculating the evolutionary distances between medium-length viral genomes using the JSpecies v.1.2.1 program. In this way, the comparison of genomes is carried out in pairs, this significantly reduces the requirements for computing power - sufficiently powerful desktop computers are suitable for computing instead of supercomputers and cloud clusters

Keywords: CHICKENS, GOSLINGS, INTESTINAL MICROFLORA, SALMONELLOSIS, BACTERIOPHAGES, EVOLUTIONARY GENOMICS, JSPECIES V.1.2.1 PROGRAM, METHOD OF COMPARATIVE ANALYSIS OF COMPLETE PHAGE GENOMES WITHOUT USING ALIGNMENT, BACTERIOPHAGE P22

Введение

Важной задачей для преодоления бактериальных инфекций сельскохозяйственных животных в условиях широкого распространения генов устойчивости к антибиотикам является поиск альтернатив низкомолекулярным антибиотикам [1,2]. Одним из таких средств защиты сельскохозяйственной птицы от патогенных бактерий могут быть бактериофаги [3,4]. Сальмонеллезные инфекции являются одной из наиболее распространенных причин болезней пищевого происхождения в России, а ряд штаммов могут колонизировать кишечный тракт сельскохозяйственной птицы. Контроль сальмонелл у птицы имеет решающее значение для снижения заболеваемости сальмонеллезом у людей. Иммунный ответ у куриц можно модифицировать применением фагов P22-типа [5,6]. Ранее было показано влияние фага P22 на иммунную систему с участием макрофагов HD-11 при ответе куриной иммунной системы, как на внутриклеточное, так и на межклеточное развитие бактерий *S. typhimurium* LT2. В данном исследовании мы оценивали ответ куриных макрофагов HD-11 и влияние фага P22 на вне- и внутриклеточное развитие штамма LT2. Было проведено 4 опыта по экспериментальному заражению птицы LT2: 1) HD-11 клетки в качестве контроля, 2) HD-11 клетки с LT2, 3) HD-11 клетки с LT2 и P22, а также 4) HD-11 клетки с P22. Уровень интерлейкина 8 измеряли с помощью ELISA. Кроме того, с помощью QRT-PCR были определены уровни экспрессии генов четырех цитокинов (IL4, IL8, IL10 и гамма-интерферона) в присутствии LT2 и/или P22. Оказалось, что фаг P22 лизировал как вне-, так и внутриклеточные LT2, которые были сорбированы макро-15 фагами HD-11. С помощью ELISA было выявлено, что макрофаги HD-11 производят значительно больше интерлейкина 8 в присутствии P22. Эти результаты коррелировали с измерением уровня транскрипции соответствующего гена с помощью QRT-PCR [5]. Для бактериофагов, родственных бактериофагу P22, также показано наличие ассоциированной с фагом нейроамидазной активности [6]. Эта ферментативная активность обеспечивает разрушение бактериальных пленок, что существенно для проведения терапевтической антибактериальной обработки сельскохозяйственной птицы. Было бы интересно использовать другие, родственные P22 бактериофаги для модификации и усиления иммунного

ответа сельскохозяйственной птицы. Нами проведено сравнение опубликованных геномов фагов, родственных Р22, для оценки вариабельности этих вирусов в природе и выбора новых фагов для усиления иммунного ответа на заражение сальмонеллой у сельскохозяйственной птицы.

В данной работе мы поставили задачу исследования сходства полных геномов бактериофагов группы бактериофага Р22 методами биоинформатики без использования множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей геномов этих бактериофагов для прогнозирования выбора дополнительных средств для разработки препаратов, модифицирующих иммунную систему выращиваемой сельскохозяйственными предприятиями птицы.

Материалы и методы

Было проведено сравнение генома бактериофага Р22 с таксономической группой геномов хвостатых бактериофагов из базы данных GenBank. Из результатов работы программного средства Blastn [7] нами были отобраны 15 геномов. В таблице 1 приведен список геномов, отобранных нами для анализа, в последней колонке указан код доступа геномной сборки из базы данных GenBank/ENA/DDBJ.

Таблица 1 – Список геномов, использованных в работе

№	Обозначение	Название	Код доступа Genbank
1	P22	<i>Enterobacteria phage P22</i>	NC_002371.2
2	Sp25	<i>Salmonella phage 25</i>	KR296687.1
3	Sp34	<i>Salmonella phage 34</i>	KR296688.1
4	Phi20	<i>Enterobacteria phage UAB_Phi20</i>	NC_031019.1
5	sal5	<i>Salmonella phage 103203_sal5</i>	KU927494.1
6	sal4	<i>Salmonella phage 103203_sal4</i>	KU927495.1
7	Phi75	<i>Enterobacteria phage Phi75</i>	GQ422451.1
8	SPN9CC	<i>Salmonella phage SPN9CC</i>	JF900176.1
9	SEN22	<i>Salmonella phage SEN22</i>	NC_028696.2
10	ep34	<i>Salmonella phage epsilon34</i>	NC_011976.1
11	g341c	<i>Salmonella phage g341c</i>	FJ000341.1)
12	Emek	<i>Salmonella phage vB_SemP_Emek</i>	NC_018275.1
13	ST160	<i>Salmonella phage ST160</i>	NC_014900.1
14	ST104	<i>Enterobacteria phage ST104</i>	NC_005841.1
15	SE1	<i>Salmonella phage SE1</i>	KY926791.1

Полногеномный филогенетический анализ вирусов был выполнен на основе дистантного подхода через вычисление средней идентичности нуклеотидов (Average Nucleotide Identity – *ANI*) [8]. Этот метод был впервые применен для сравнения геномов прокариот [9], мы уже применяли его ранее в работе с фаговыми геномами [10], где среднюю идентичность нуклеотидов для каждой пары фаговых геномов вычисляли с применением алгоритма BLAST (*ANi*, в процентах) программой JSpecies v.1.2.1 [8]. Матрицу значений *ANi* преобразовывали в таблицу межгеномных расстояний, по

которой строили филогеномное дерево методом присоединения соседей (Neighbor-Joining Method) [11]. Построение дерева было проведено с помощью пакета программ MEGA6 [12].

Результаты исследований

Сравнительный анализ геномов бактериофагов P22-группы без использования множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей

Работа по анализу геномов бактериофагов группы P22 для подбора кандидатов для использования в экспериментах по иммуномодулирующей терапии молодняка сельскохозяйственной птицы проводилась в несколько этапов.

Сначала был проведен анализ базы данных GenBank на наличие полных геномов бактериофагов группы P22. Затем была сформирована выборка из 15 геномов бактериофагов группы P22, которые перечислены в таблице 1.

Расчет эволюционных расстояний между геномами этих фагов проводилось с помощью программы JSpecies v.1.2.1. Геномы сравнили друг с другом попарно каждый с каждым, для каждой пары было получено среднее значение величины *ANi_b*.

Алгоритм вычисления среднего значения идентичности для пары геномов схематически можно представить так. Первый геном из пары разбивается на фрагменты длиной 1000 пар нуклеотидов и для каждого такого олигонуклеотида выполняется поиск гомологов во второй геномной последовательности с помощью программы Blastn. Значения нуклеотидной идентичности, вычисленные Blastn для лучших хитов, фильтруются с помощью настроек программы, т.е. низкие значения, которые портят общую картину отбрасываются, и по оставшимся значениям вычисляется усеченное среднее *ANi_{b1}*. Затем второй геном разбивается на фрагменты, проводится поиск гомологов каждого фрагмента в первом геноме, и вычисляется значение *ANi_{b2}*. Значение средней идентичности для данной пары геномов $ANi_b = (ANi_{b1} + ANi_{b2})/2$. Полученные результаты представлены в виде таблицы 2, где приведены средние значения идентичности олигонуклеотидов *ANi_b*, в % для геномов бактериофагов группы

бактериофага P22, цифрами обозначен процент сходства полных геномов бактериофагов полученный с помощью программы JSpecies v.1.2.1.

На следующем этапе с помощью пакета программ MEGA6 строилось дерево эволюционных отношений между геномами исследуемой группы бактериофагов. Оно представлено на рисунке 1.

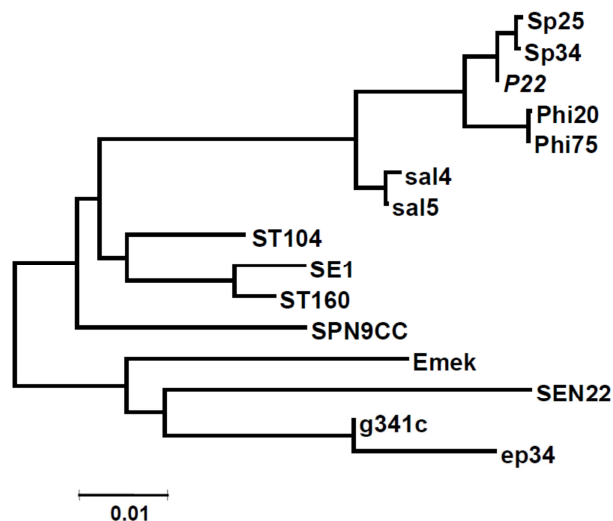


Рисунок 1 – Филогеномное дерево бактериофагов.

Дерево построено на основе относительных межгеномных расстояний, вычисленных из таблицы ANIb (Таблица 2).

Таблица 2 – Значения величин средней идентичности *ANIb* для пар геномов бактериофагов группы P22

	SPN9CC	Phi75	ep34	SP34	SEN22	Emek	sal5	ST160	g341c	Sp25	SE1	sa14	ST104	Phi20
P22	92,12	98,94	89,99	99,86	87,91	91,40	98,55	94,22	91,61	99,87	92,71	98,39	93,41	98,95
Phi20	91,02	100	88,54	98,73	88,92	90,63	96,96	95,26	92,97	98,72	94,54	96,63	94,20	
ST104	95,16	94,29	92,49	92,95	92,03	92,72	95,56	95,99	94,88	92,95	97,68	95,20		
sa14	96,98	97,06	88,94	98,19	88,82	88,09	99,83	93,18	92,23	98,20	92,72			
SE1	94,72	93,87	91,92	92,16	91,71	93,83	93,06	98,76	96,51	92,16				
SP25	90,80	98,66	88,56	99,91	88,91	90,50	97,86	93,48	91,63					
g341c	92,93	93,29	99,65	92,87	93,66	94,03	92,72	94,46						
ST160	94,84	94,37	90,85	93,23	89,82	92,90	93,78							
sal5	96,13	97,40	87,31	98,35	90,70	89,09								
Emek	92,16	90,85	94,85	90,74	91,90									
SEN22	91,62	88,58	93,44	88,86										
SP34	90,78	98,65	88,62											
ep34	91,44	89,75												
Phi75	92,30													

Дерево не укоренено. Статистический метод присоединения соседей использовался в пакете MEGA6, средствами которого также выполнена графика. Обозначения фагов как в таблице 1.

На основе анализа дерева эволюционных отношений между геномами, полученного пакетом программ MEGA6 и таблицы эволюционных расстояний основных кластеров геномов бактериофагов, полученной с помощью программы JSpecies v.1.2.1, можно сделать прогноз терапевтической эффективности при комплексном лечении молоди сельскохозяйственной птицы с использованием иммуномодулирующих бактериофагов группы P22.

Очевидно, что вирусы группируются в ряд кластеров с близкородственными геномами. Полученное дерево содержало две основные ветви. Это была ветвь фагов близких к P22 и ветвь фагов близких к бактериофагу epsilon34. Наиболее родственными к P22 оказались две пары практически идентичных фагов Phi20-Phi75 и Sp25-Sp34, далее была удалена от P22 пара sal4-sal5 и ветвь трех фагов ST104, ST160 и SE1, фаг SPN9CC образовал отдельную подветвь. Близкородственные фаги g341c и epsilon34 вместе с фагами Emek и SEN22 образовали другую ветвь, удаленную от P22-ветви.

Выводы

1. На основе сравнительного биоинформационного анализа этой группы бактериофагов показана близость всех геномов фагов P22-группы друг к другу. На основе этого можно прогнозировать выделение перспективных для иммуномодулирующей терапии бактериофагов при исследовании экологии желудочно-кишечного тракта молодняка сельскохозяйственной птицы.

2. Сравнительный анализ геномов фагов группы P22 позволяет предложить для терапевтических исследований наиболее перспективными фаги: Phi20, Phi75, Sp25, Sp34, sal4, sal5, ST104, ST160 и SE1.

3. Хотя сам бактериофаг P22 нельзя применять на практике, так как P22 с высокой эффективностью трансдуцирует гены, включая гены патогенности болезнетворных бактерий, но поиск среди родственных

фагов нетрансдуцирующих бактериофагов может принести интересный, перспективный для применения в терапии птицы результат.

4. Данное исследование показало возможность успешного расчета эволюционных расстояний между данными средней длины геномами бактериофагов с помощью программы JSpecies v.1.2.1. Что существенно сокращает время расчетов и позволяет использовать для сравнительного анализа геномов мощные настольные компьютеры, а не суперкомпьютеры или кластеры серверов.

Благодарности. Исследование Василенко О.В. выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-01347. Исследование Зимина А.А. выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-54-53018 и частично поддержано бюджетом ИБФМ РАН. Исследование Скобликова Н.Э. выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-44-230040 при поддержке администрации Краснодарского края. Исследование Назиповой Н.Н. выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-07-00996. Для Коцаева А. Г. работа поддержана грантом Кубанского научного фонда МФИ-20.1/80 и выполнена им в рамках этого проекта.

Список литературы

1. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. // *Biochem Pharmacol.* – 2017. – Jun 1. – № 133. –Р. 4-19.

2. Зимин А. А. Использование бактериофагов для борьбы с колибактериозом и кампилобактериозом в птицеводстве / А. А. Зимин, Ф. В. Кочетков, С. И. Кононенко, Д. В. Осепчук, Н. Э. Скобликов // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* – 2016. – № 123. – С. 421-432.

3. Никулин Н. А. Конструирование терапевтических фаговых коктейлей на основе бактериофагов Т4: преимущества и недостатки / Н. А. Никулин, С. И. Кононенко, А. Г. Коцаев, А. А. Зимин // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* – 2017. – №09(133). – С. 823-849. Doi: 10.21515/1990-4665-133-063.

4. Зимин А. А. Конструирование мутантов бактериофага Т4 со сниженной антигенностью / Зимин А. А., Бутанаев А. М., Сузина Н. Е., Скобликов Н. Э., Сахабутдинова Л. Р., Присяжная Н. В., Кононенко С. И., Коцаев А. Г. // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета.* – 2017. – № 134(10). – С. 404-426. Doi: 10.21515/1990-4665-134-034.

5. Ahn J. Influence of bacteriophage P22 on the inflammatory mediator gene expression in chicken macrophage HD11 cells infected with Salmonella Typhimurium./ J. Ahn, D. Biswas // I FEMS Microbiol Lett. – 2014. – Mar. – 352(1). – P. 11-17.
6. Tombinson S. Neuraminidase associated with coliphage E that specifically depolymerizes the Escherichia coli K1 capsular polysaccharide / S. Tombinson, P.W. Taylor// J. Virol. – 1985 – V. 55. – № 2. – P. 374-378.
7. Altschul S. F., Madden T. L., Schäffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs // Nucleic Acids Res. – 1997. – № 25. – P. 3389-3402.
8. Goris J., Konstantinidis K. T., Klappenbach J. A., Coenye T., Vandamme P., Tiedje J. M. / DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities // Int J Syst Evol Microbiol. – 2007. – № 57(Pt 1). P. 81-91.
9. Richter M., Rosselló-Móra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition // Proc Natl Acad Sci USA. – 2009. – 106(45). P. 19126-19131.
10. Зимин А. А., Кудрявцева А. В., Василенко О. В., Салямов В. И., Летаров А. В., Летарова М. А., Куликов Е. Е., Скобликов Н. Э. Сравнительная геномика T4-подобных бактериофагов (Myoviridae, Caudovirales), выделенных из желудочно-кишечного тракта свиней // Материалы 2-й Пущинской школы-конференции "Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов. – 2015. – С. 132-134.
11. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // Molecular Biology and Evolution. – 1987. – № 4. P. 406-425.
12. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. // Molecular Biology and Evolution. – 2013. № 30. P. 2725-2729.

References

1. Aminov R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. // Biochem Pharmacol. – 2017. – Jun 1. – № 133. –P. 4-19.
2. Zimin A. A. Ispol'zovanie bakteriofagov dlja bor'by s kolibakteriozom i kampilobakteriozom v pticevodstve / A. A. Zimin, F. V. Kochetkov, S. I. Kononenko, D. V. Osepchuk, N. Je. Skoblikov // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2016. – № 123. – S. 421-432.
3. Nikulin N. A. Konstruirovanie terapevticheskikh fagovyh koktejljev na osnove bakteriofagov T4: preimushhestva i nedostatki / N. A. Nikulin, S. I. Kononenko, A. G. Koshhaev, A. A. Zimin // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2017. – №09(133). – S. 823-849. Doi: 10.21515/1990-4665-133-063.
4. Zimin A. A. Konstruirovanie mutantov bakteriofaga T4 so snizhennoj antigennost'ju / Zimin A. A., Butanaev A. M., Suzina N. E., Skoblikov N. Je., Sahabutdinova L. R., Prisjazhnaja N. V., Kononenko S. I., Koshhaev A. G. // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2017. – № 134(10). – S. 404-426. Doi: 10.21515/1990-4665-134-034.
5. Ahn J. Influence of bacteriophage P22 on the inflammatory mediator gene expression in chicken macrophage HD11 cells infected with Salmonella Typhimurium./ J. Ahn, D. Biswas // I FEMS Microbiol Lett. – 2014. – Mar. – 352(1). – P. 11-17.
6. Tombinson S. Neuraminidase associated with coliphage E that specifically depolymerizes the Escherichia coli K1 capsular polysaccharide / S. Tombinson, P.W. Taylor// J. Virol. – 1985 – V. 55. – № 2. – P. 374-378.

7. Altschul S. F., Madden T. L., Schäffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs // *Nucleic Acids Res.* – 1997. – № 25. – P. 3389-3402.

8. Goris J., Konstantinidis K. T., Klappenbach J. A., Coenye T., Vandamme P., Tiedje J. M. / DNA-DNA hybridization values and their relationship to whole-genome sequence similarities // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2007. – № 57(Pt 1). P. 81-91.

9. Richter M., Rosselló-Móra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2009. – 106(45). P. 19126-19131.

10. Zimin A. A., Kudrjavceva A. V., Vasilenko O. V., Saljamov V. I., Letarov A. V., Letarova M. A., Kulikov E. E., Skoblikov N. Je. Sravnitel'naja genomika T4-podobnyh bakteriofagov (Myoviridae, Caudovirales), vydelennyh iz zheludochno-kishechnogo trakta svinej // *Materialy 2-j Pushhinskoj shkoly-konferencii "Biohimija, fiziologija i biosfernaja rol' mikroorganizmov.* – 2015. – S. 132-134.

11. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees // *Molecular Biology and Evolution.* – 1987. – № 4. P. 406-425.

12. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. // *Molecular Biology and Evolution.* – 2013. № 30. P. 2725-2729.