

**Получение и проверка ферментативной активности деполимераз  
бактериофага RR109 *Klebsiella pneumoniae***

**Научный руководитель – Шабалина Анна Вячеславовна**

***Плахотник Анастасия Евгеньевна***

*Студент (магистр)*

Национальный Медицинский Исследовательский Центр им. В. А. Алмазова,  
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: plakhotnik-nastya@mail.ru*

Деполимеразы бактериофагов – это ферменты, которые могут распознавать и разрушать полисахариды капсулы бактерий. Капсула является одним из основных факторов вирулентности у некоторых бактерий, и ее разрушение может сделать бактерии более восприимчивыми к разным факторам внешней среды, в том числе к воздействию ряда антибиотиков [2]. У одного из самых распространенных нозокомиальных патогенов *Klebsiella pneumoniae* на данный момент идентифицировано 134 капсульных типа [1].

В геноме бактериофага RR109 закодировано 2 гена хвостовых нитей, которые, предположительно, имеют деполимеразную активность. Были получены две генетические конструкции с генами RR109gp9 и RR109gp10. Индукцию белков проводили в течение 18 часов при 18°C 180 об/мин с добавлением 1 мМ ИПТГ. Лизис клеток осуществляли путем замораживания-оттаивания с добавлением лизоцима, а также дополнительно обрабатывали клетки ультразвуком. Полученные белки очистили с помощью никель-аффинной хроматографии. Ферментативная активность полученных белков проверяли с помощью спот-теста.

В результате исследования были получены рекомбинантные белки RR109gp9 и RR109gp10 бактериофага RR109. Спот-тест проводили на банке штаммов *K. pneumoniae* с разными капсульными типами. Было выявлено, что белок RR109gp9 действительно является деполимеразой и способен лизировать капсулы типа KL57. Из 12 имеющихся штаммов с этим типом капсулы, ферментативная активность была выявлена на 11. У белка RR109gp10 была выявлена слабая активность на одном штамме с капсульным типом KL112, но для точного подтверждения требуется дальнейшее исследование. Для деполимеразы RR109gp9 с помощью спот-теста была определена оптимальная рабочая концентрация, которая составляет 50 нг/мкл, минимальная рабочая концентрация работающего белка – 5 нг/мкл.

Полученная рекомбинантная деполимераза RR109gp9 будет использована в последующих экспериментах по ингибированию образования бактериальных биопленок и их разрушению. Работа выполнена в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.

**Источники и литература**

- 1) Xu, L., Li, J., Wu, W., Wu, X., & Ren, J. (2024). *Klebsiella pneumoniae* capsular polysaccharide: Mechanism in regulation of synthesis, virulence, and pathogenicity. *Virulence*, 15(1).
- 2) Zhao R, Jiang S, Ren S, Yang L, Han W, Guo Z, Gu J. 2024. A novel phage putative depolymerase, Depo16, has specific activity against K1 capsular-type *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Environ Microbiol* 90:e01197-23.