

Система BREX типа IV ассоциирована с фосфотиолированием ДНК и проявляет антифаговую активность в гетерологичной системе экспрессии.

Научный руководитель – Исаев Артём Борисович

Смирнов Александр Евгеньевич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

E-mail: alexandr.jeday@gmail.com

Соавторами работы являются: Дёмкина А.1, Ярема П.1, Котовская О.1, Скутель М.1
1 Центр молекулярной и клеточной биологии, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

Авторы для переписки: Михаил Скутель email: mikhail.skutel@skoltech.ru Исаев Артем email: tcft18@gmail.com;

Бактериальные системы защиты, функционирующие по принципу рестрикции-модификации, различают собственную и чужеродную ДНК на основе характера метилирования. В то же время существуют системы, использующие альтернативный механизм — фосфотиолирование (РТ). В настоящей работе показано, что система BREX IV типа реализует защиту от бактериофагов именно посредством РТ-модификации геномной ДНК. С помощью ВЭЖХ-МС было установлено, что ДНК *Denitrovibrio acetiphilus*, несущая кластер BREX IV, содержит фосфотиоатные группы. Дополнительно с использованием метода РТseq (секвенирование ДНК, обработанной йодидом) был выявлен мотив модификации.

Ключевая сложность при изучении BREX IV заключается в неудобстве её природных хозяев для работы в лаборатории. Нами был клонирован кластер BREX IV из *D. acetiphilus* в экспрессионный вектор рЕТ. Первоначальные попытки гетерологичной экспрессии в *Escherichia coli* не выявили модификационной или защитной активности. Далее были сконструированы мутантные штаммы *E. coli* с делецией генов Rho, H-NS и IscR, участвующих в регуляции транскрипции и метаболизме серы. Такой подход позволил детектировать антифаговую активность системы BREX IV в штамме с делецией транскрипционного репрессора H-NS. Показано, что система обеспечивает эффективную защиту от заражения бактериофагами λ , НК542, P2 и другими.

Мы подтвердили механизм работы BREX IV типа как системы рестрикции модификации путём получения бактериофагов, несущих РТ модификацию, что привело к появлению устойчивости к системе BREX IV.

Таким образом, подтверждено, что система BREX IV кодирует функциональный модуль фосфотиолирования ДНК и играет ключевую роль в обеспечении противофагового иммунитета. Дальнейшие исследования будут направлены на прямое выявление серосодержащих модификаций в геномной ДНК *E. coli*, экспрессирующей кластер BREX IV.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда 22-74-10089. Масс-спектрометрия была выполнена на базе передового масс-спектрометрического центра Сколтеха при поддержке внутренних грантов Сколтеха.