

препаратов при исследовании их в 5 повторностях. Показано, что взаимодействие тест-системы с препаратами гетерологичных вирусов и неинфицированными клетками/тканями было на уровне фона. При этом коэффициент вариации между лунками на планшете составил 2–4%, между отдельными планшетами он не превышал 4%, что свидетельствует о высокой чувствительности и специфичности сэндвич-ИФА.

На следующем этапе оценивали возможность разработанной тест-системы выявлять искомый антиген в биологическом материале.

Сравнительная оценка обнаружения IPNV-антигена методами ИФА, РН и обратнотранскриптазной ПЦР (ОТ-ПЦР) представлена в табл. 2.

Полученные данные позволяют утверждать, что разработанная тест-система специфично выявляет IPNV в нативной и лиофилизированной культуральной жидкости зараженных клеток, а также в биологическом материале от естественно и искусственно инфицированных рыб.

При сравнительном исследовании материала тремя методами на наличие вируса IPN отмечена корреляция показателей. Однако при исследовании в РН биологического материала (гомогенизированных органов форели) результат был получен через 10 дней одновременно с выделением вируса в культуре клеток, что, несомненно, увеличивает время диагностики. При исследовании положительных образцов методом ПЦР во всех случаях был обнаружен IPNV, в пробах, отрицательных по результатам ИФА и РН, вирус не обнаруживали. Полученные данные подтверждают специфичность испытанных реакций.

Таким образом, нами разработана тест-система на основе сэндвич-ИФА, в которой в качестве антигенсвязывающих и антигендетектирующих антител были использованы кроличьи антитела к вирусу IPN. Диагностику позволяет специфично выявлять IPNV в титре $10^{2.0}$ ТЦД_{50/см³ и выше, при этом данные положительно коррелируют с результатами, полученными в РН и ОТ-ПЦР, следовательно, разработанная тест-система может быть применена для выявления IPNV при скрининговых исследованиях или в дополнение к другим диагностическим методам.}

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1–4, 8, 9 см. REFERENCES)

- Гулюкин М.И., Завьялова Е.А., Дрошнев А.Е., Коломьцев С.А. Анализ эпизоотической ситуации по болезням рыб в России (2001–2011 гг.). *Ветеринария*. 2011; 8: 3–7.
- Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. *Справочник биохимика*. М.: Издательство «Мир»; 1991.
- Северин С.Е., Соловьева Г.А., ред. *Практикум по биохимии*. М.: Издательство МГУ; 1989.
- Остерман Л.А. *Хроматография белков и нуклеиновых кислот*. М.: Издательство «Наука»; 1985.

REFERENCES

- Johansen L.H., Sommer A.I. Infectious pancreatic necrosis virus infection in Atlantic salmon *Salmo salar* post-smolt affects the outcome of secondary infections with infectious salmon anaemia virus or *Vibrio salmonicida*. *Dis. Aquat. Organ.* 2001; 47(2): 109–17.
- Pedersen T., Skjesol A., Jørgensen J.B. VP3, a structural protein of infectious pancreatic necrosis virus, interact with RNA-dependent RNA polymerase VP1 and with double-stranded RNA. *J. Virol.* 2007; 81(12): 6652–63.
- OIE Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 5th edition. 2006.
- Evensen Ø., Skjelstad B., Rimstad E., Brun E., Johansen L.H., Stagg R. et al. *IPN in salmonids. A review*. The Fisheries and Aquaculture Industries Research Fund (FHIF); 2003.
- Gulyukin M.I., Zav'yalova E.A., Droshnev A.E., Kolomytsev S.A. The analysis of epizootic diseases of fish in Russia (2001–2011). *Veterinariya*. 2011; 8: 3–7. (in Russian)
- Doson R., Elliot D., Elliot U., Dzhons K. *Handbook of Biochemist [Spravochnik biokhimiya]*. Moscow: Izdatel'stvo «Mir»; 1991. (in Russian)
- Severin S.E., Solov'eva G.A., eds. *Workshop on Biochemistry [Praktikum po biokhimii]*. Moscow: Izdatel'stvo MGU; 1989. (in Russian)
- Wilson M.B., Nakane P.K. Recent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp W., Holubar K., Wick G., eds. *Immunofluorescence and Related Staining Techniques*. Vienna, Austria: Elsevier/North-Holland; 1978; 215–44.
- Van der Marel P., Snyder D.B., Luticken D. Antigenic characterization of IBDV field isolates by their reactivity with a panel of monoclonal antibodies. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 1990; 97(2): 81–3.
- Osterman L.A. *Chromatography of Proteins and Nucleic Acids [Khromatografiya belkov i nukleinovyykh kislot]*. Moscow: Izdatel'stvo «Наука»; 1985. (in Russian)

Поступила 13.03.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 578.81.083.2

Гулий О. И.¹⁻³, Караваева О.А.¹, Великов В. А.^{1,4}, Соколов О. И.¹, Павлий С.А.⁴, Ларионова О.С.², Буров А. М.¹, Игнатов О. В.¹

ИССЛЕДОВАНИЕ АДСОРБЦИИ БАКТЕРИОФАГА ФАВ-SP7 НА КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP7

¹ФГБУН «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» РАН, Саратов; ²ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова»; ³ФГБНУ «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт»;

⁴ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского»

Из клеток *Azospirillum brasilense* Sp7 выделен бактериофаг ФАВ-Sp7. Описана его морфология, дана характеристика «негативных колоний» бактериального газона, определен диапазон литического действия в отношении других штаммов и видов азоспирилл. Выделена ДНК фага, проведен ее электрофоретический и рестрикционный анализ, определен размер генома, который составляет примерно 50 тыс. пар нуклеотидов. Проведено электронно-микроскопическое изучение адсорбции выделенного бактериофага ФАВ-Sp7 на поверхности бактерий *A. brasilense* Sp7.

Ключевые слова: *Azospirillum brasilense*; бактериофаг; электрофорез; ДНК; электронная микроскопия; адсорбция.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2016; 61(1): 45–48. DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-45-48

Для корреспонденции: Гулий Ольга Ивановна, д-р. биол. наук, ведущий научный сотрудник; e-mail: guliy_olga@mail.ru

A STUDY OF THE ISOLATED BACTERIOPHAGE Φ Ab-SP7 ADSORPTION ON THE CELL SURFACE OF THE AZOSPIRILLUM BRASILENSE SP7

¹ Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 410049, Saratov, Russia; ² Saratov State Vavilov Agrarian University, 410012, Saratov, Russia; ³ Scientific Research Veterinary Institute, 410028, Saratov, Russia; ⁴ Saratov State University, 410005, Saratov, Russia

The bacteriophage Φ Ab-Sp7 was isolated from the cells of the *Azospirillum brasilense* Sp7. The morphology, size of the gram-negative colonies, and range of lytic activity against other strains and species of the genus *Azospirillum* was tested. The isolated phage DNA was examined using electrophoretic and restriction analysis, and the size of the genome were established. The electron microscopy results show that the phage (capsid) has a strand-like form. The electron microscopy study of the bacteriophage Φ Ab-Sp7 adsorption on the *A. brasilense* Sp7 bacterial surface was performed.

Key words: *Azospirillum brasilense*; bacteriophage; DNA electrophoresis; electron microscopy; adsorption.

Citation: Voprosy virusologii. 2016; 61(1): 45–48. (in Russian). DOI 10.18821/0507-4088-2016-61-1-45-48

For correspondence: Ol'ga Guliy, MD, PhD, DSc; e-mail: guliy_olga@mail.ru

Received 29.08.14

Чувствительность бактерий к бактериофагам является относительно стабильным признаком, связанным с наличием соответствующих рецепторов у фаговых частиц и комплементарных сайтов на поверхности бактериальной клетки. Поэтому изучение такого рода взаимодействий имеет большое значение для микробиологии и вирусологии в целом, а также существенное прикладное значение. Изучение взаимодействия бактериофагов с микробными клетками во многом основано на использовании световых, электронных, атомно-силовых и зондовых микроскопов. Например, для изучения взаимодействия фага сальмонелл с гомологичными микроорганизмами была применена криоэлектронная микроскопия, в результате которой показаны структурные изменения бактериофага *Epsilon15* в процессе инфекции на всех ее этапах [1]. Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) было изучено взаимодействие диагностических холерных бактериофагов со штаммами *V. cholerae* [2]. С. В. Краевским [3] показана возможность исследования процесса инфицирования фагом клеток бактерий и аффинных взаимодействий, в частности бактерий с гомологичными антителами с помощью АСМ. Для изучения взаимодействия бактериофагов и антифаговых антител с поверхностью клеток часто применяется электронная микроскопия [4].

Несмотря на то что история изучения взаимодействия бактериофагов с микробными клетками насчитывает несколько десятилетий, методов оценки адсорбции бактериофагов почвенных микроорганизмов с гомологичными клетками сравнительно мало [5]. К почвенным бактериям, способствующим росту растений, относятся и бактерии, принадлежащие к роду *Azospirillum*. К настоящему времени описаны умеренные бактериофаги, способные инфицировать бактерии рода *Azospirillum*. [6, 7]. Французскими исследователями [8] были выделены и описаны бактериофаги из 24 штаммов 4 видов бактерий, принадлежащих к роду *Azospirillum*. Важное место при выделении и изучении бактериофагов почвенных микроорганизмов занимают знания об особенностях их строения и адсорбции на поверхности микробной клетки. Поэтому целью данной работы был поиск и выделение бактериофага из культуры *Azospirillum brasilense* штамма Sp7 и изучение адсорбции выделенного бактериофага на клетке-хозяине с использованием электронной микроскопии.

Материал и методы

Микроорганизмы. В работе использовали клетки *Azospirillum brasilense* штаммов Sp7, Cd, Sp107, Br14, KR77, S27, SR55, Sr75, Sp245, Jm6B2, S17, *A. lipoferum* штаммов Sp59b, SR65, RG20a, *A. brasilense* Cd, *A. amazonense* Am14, *A. halopraeferans* Au4, *A. irakense* KBC1 и КА3, *Escherichia coli* XL-1, *Pseudomonas putida* C-11, *Acinetobacter calcoaceticum* A-122, полученные из коллекции культур ИБФРМ РАН.

Выделение бактериофагов. Суточную культуру клеток *A. brasilense* Sp7 охлаждали в течение 2 ч при 4°C. После

этого клетки осаждали центрифугированием при 2500g в течение 40 мин. Для флокуляции фаговых частиц к супернатанту добавляли полиэтиленгликоль (ПЭГ) 6000 (Pan-teac) – 2,5 М в количестве 1/5 объема супернатанта и NaCl до концентрации 1,6 М, затем колбу с супернатантом обкладывали льдом и помещали в холодильник при 4°C на 18–20 ч. По прошествии указанного времени суспензию центрифугировали при 12 000g в течение 30 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл ТЕ-буфера (трис HCl, pH 8,0–10 mM, EDTA – 1 mM).

Морфологию негативных колоний бактерий, зараженных фагами, изучали при посевах методом агаровых слоев (метод Грация) [9].

Диапазон литической активности и специфичность селективированных фагов определяли методом нанесения фага на газон гомологичных или гетерологичных бактериальных культур [9].

Электронная микроскопия. Для электронно-микроскопической идентификации выделенных бактериофагов из клеток *A. brasilense* Sp7 готовили препараты бактериофагов с концентрацией $\sim 10^6$ частиц/мл, как описано в работе [10]. Анализ препаратов проводили на электронном микроскопе Carl Zeiss Libra-120 (Германия).

Выделение фаговой ДНК и гель-электрофорез ДНК проводили с использованием стандартных методов [11].

Результаты и обсуждение

Нами были опробованы различные методики выделения бактериофагов из клеток *A. brasilense* Sp7, при этом в результате предварительно проведенных экспериментов было показано, что максимальный выход бактериофагов наблюдается после предварительной обработки клеток азоспирилл низкой температурой (4°C) в течение 2 ч. После выделения бактериофагов проводили их титрование методом агаровых слоев. Было установлено, что бактериофаг, выделенный из клеток *A. brasilense* Sp7 (Φ Ab-Sp7), на газоне индикаторного штамма *A. brasilense* Sp7 образует округлые, с ровным четким краем, прозрачные негативные колонии диаметром от 0,1 до 0,2 мм. Анализ газонов после длительного культивирования (до 5 сут) показал, что пятна остаются прозрачными на протяжении всего культивирования.

На следующем этапе работы проводили электрофорез ДНК бактериофага в агарозном геле (рис. 1, а). В качестве контроля использовали ДНК бактериофага лямбда. По результатам электрофореза можно заключить, что бактериофаг Φ Ab-Sp7 является ДНК-содержащим (полоса четкая, продуктов деградации нет). Размер генома у выделенного бактериофага несколько меньше генома фага лямбда (48 тыс. пар нуклеотидов – тыс. п. н). Дополнительно проводили рестрикцию ДНК бактериофага, как описано [11], результаты которой показывают (рис. 1, б), что геном исследуемого бактериофага представлен дезоксирибонуклеиновой кислотой.

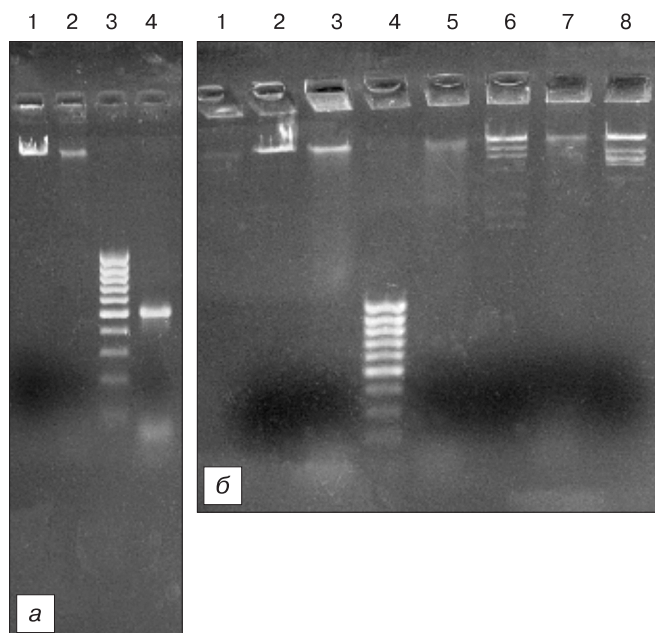


Рис. 1. Электрофореграмма фаговой ДНК из бактериофага *A. brasilense* Sp7 (а):

1 – ДНК фага лямбда (48 502 п. н.); 2 – ДНК фага Sp7; 3 – маркер молекулярной массы (м. м.) GeneRuler SM0383 («Fermentas»); размер фрагментов ДНК начиная сверху: 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 80 п. н.; 4 – маркер м. м. 500 п. н. (ПЦР-продукт гена неоминцинофосфотрансферазы *prtII*). Электрофореграмма рестрикции двумя рестриктазами бактериофага, выделенного из клеток *A. brasilense* Sp7 (б). 1 – ДНК фага лямбда (48 502 п. н.); 2 – ДНК фага Sp7; 3 – маркер м. м. GeneRuler SM0383 («Fermentas»); размер фрагментов ДНК начиная сверху: 1031, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 80 п. н.; 4 – ДНК фага Sp7, гидролизованная рестриктазой *HindIII*; 5 – ДНК фага лямбда, гидролизованная рестриктазой *HindIII*; 6 – ДНК фага Sp7, гидролизованная рестриктазой *BamHI*; 7 – ДНК фага лямбда, гидролизованная рестриктазой *BamHI*.

Спектр литического действия бактериофагов, являющийся одним из важных биологических свойств вирусов, определяли для бактериофага ФАб-Sp7 по отношению к 18 штаммам бактерий рода *Azospirillum*. Показано, что бактериофаг ФАб-Sp7 вызывает лизис гомологичных фагу бактерий по серологической группе *A. brasilense* Sp7, Cd, Sp107, Br14, KR77, S27, SR55, *A. lipoferum* SR65, *A. amazonense* Am14, *A. halopraeferans* Au4, *A. irakense* штаммов KBC1 и KA3, но не проявляет активность в отношении клеток *A. brasilense* штаммов Sp245, Jm6B2, S17, SR75, *A. lipoferum* штаммов Sp59b и RG20a. Таким образом, бактериофаг ФАб-Sp7 является специфичным по отношению к некоторым видам бактерий рода *Azospirillum*. Анализ литической активности выделенного бактериофага по отношению к гетерологичным бактериям родов: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* дал отрицательные результаты. Результаты представлены в таблице.

Электронно-микроскопическое изучение препаратов бактериофага, выделенного из клеток *A. brasilense* Sp7, показало, что исследуемый фаг имеет изометрическую головку размером около 27 нм и хвостовой отросток длиной около 16 нм. Представленные нами результаты согласуются с данными, полученными другими исследователями [12].

Процесс взаимодействия фага с клеткой довольно сложен и зависит от строения самого фага [13, 14] и наличия у бактерий F-пилей [15, 16] и других факторов. Понимание особенностей взаимодействия бактериофагов с микробными клетками является необходимым условием для их успешного применения в прикладной микробиологии. Поэтому на следующем этапе проводили исследование адсорбции бактериофага ФАб-Sp7 на клеточной поверхности специфического штамма Sp7 с применением электронной микроскопии. Для этого к суспензии клеток штамма Sp7 добавляли исследуемый бактериофаг (из расчета ~ 20 фагов на бактерию), затем инкубировали при 27°C в течение 3 мин. Затем суспензию наносили на покрытые нитроцеллюлозой электронно-микроскопические сеточки и контрастировали препараты 1% уранилацетатом. На рис. 2 представлены результаты электронно-микроскопического исследования специфической адсорбции бактериофага ФАб-Sp7 на поверхности клеток *A. brasilense* Sp7. Как видно, бактериофаги хорошо адсорбируются на поверхности клеток азоспирилл (рис. 2).

Для исключения неспецифического взаимодействия бактериофага ФАб-Sp7 было проведено электронно-микроскопическое исследование взаимодействия фага с клетками другого, не комплементарного, штамма. Поскольку было показано, что бактериофаг не проявляет активности в отношении клеток *A. brasilense* штамма Jm6B2 (см. таблицу), то

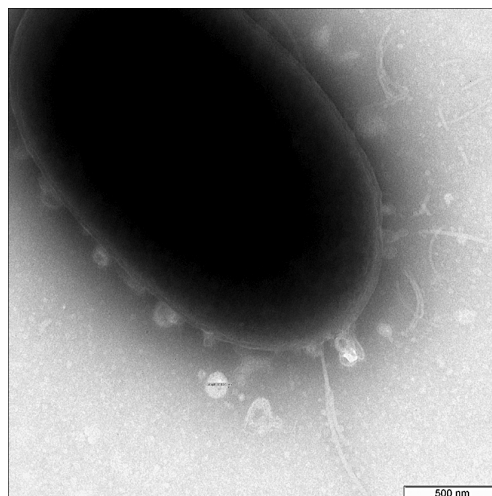


Рис. 2. Электронно-микроскопическое изображение бактерий *A. brasilense* Sp7 при взаимодействии с бактериофагом ФАб-Sp7. Масштаб 500 нм.

Спектр литической активности бактериофага ФАб-Sp7 на газоне индикаторных культур

Культура клеток	Действие ФАб-Sp7
<i>A. amazonense</i> Am14	+
<i>A. brasilense</i> Sp7	+
<i>A. brasilense</i> Cd	+
<i>A. brasilense</i> Sp107	+
<i>A. brasilense</i> Sp245	-
<i>A. brasilense</i> Jm6B2	-
<i>A. brasilense</i> Br14	+
<i>A. brasilense</i> KR77	+
<i>A. brasilense</i> S17	-
<i>A. brasilense</i> S27	+
<i>A. brasilense</i> SR55	+
<i>A. lipoferum</i> SR65	+
<i>A. brasilense</i> SR75	-
<i>A. halopraeferans</i> Au4	+
<i>A. irakense</i> KBC1	+
<i>A. irakense</i> KA3	+
<i>A. lipoferum</i> Sp59b	-
<i>A. lipoferum</i> RG20a	-
<i>P. putida</i> C-11	-
<i>P. putida</i> BA-11	-
<i>E. coli</i> XL-1	-
<i>E. coli</i> B-878	-
<i>A. calcoaceticum</i> A-122	-

Примечание. + наличие лизиса бактериальной культуры; - отсутствие лизиса бактериальной культуры.

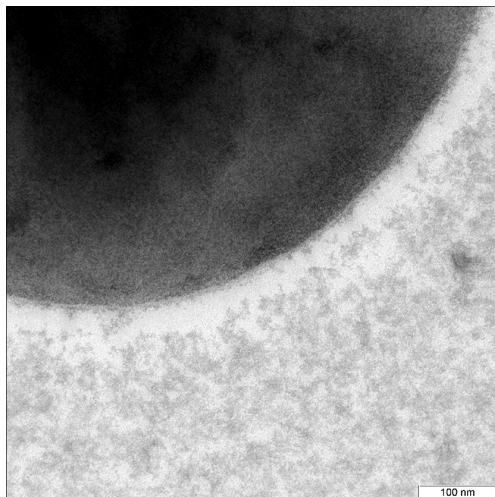


Рис. 3. Электронно-микроскопическое изображение бактерий *A. brasilense* Jm6B2 при взаимодействии с бактериофагом ΦAb-Sp7.

в качестве контроля использовали клетки данного штамма. Условия подготовки образца были аналогичны таковым при использовании клеток штамма Sp7. Показано (рис. 3), что адсорбция бактериофага ΦAb-Sp7 на микробной клетке штамма Jm6B2 не происходит.

Таким образом, в результате исследований был выделен бактериофаг из азотфиксирующих микроорганизмов *A. brasilense* Sp7 (ΦAb-Sp7). Бактериофаг отличается низкой репродуктивной способностью, поскольку выделяется только после воздействия на клетки низкой температуры. На газоне индикаторной культуры исследуемый бактериофаг образует прозрачные негативные колонии. Показано, что бактериофаг ΦAb-Sp7 вызывает лизис гомологичных фагу бактерий по серологической группе *A. brasilense* Sp7, Cd, Sp107, Br14, KR77, S27, SR55, *A. lipoferum* SR65, *A. amazonense* Am14, *A. halopraeferans* Au4, *A. irakense* KBC1 и KA3, но не проявляет активности в отношении клеток *A. brasilense* штаммов Sp245, Jm6B2, S17, SR75, *A. lipoferum* штаммов Sp59b и RG20a. Установлено, что бактериофаг ΦAb-Sp7 является специфичным по отношению к бактериям рода *Azospirillum*, но не активным в отношении бактерий гетерологичных родов. Электронно-микроскопический анализ показал, что выделенный бактериофаг хорошо адсорбируется на поверхности бактерий *A. brasilense* Sp7. С помощью электронной микроскопии также изучены морфологические параметры и определены размеры самих фаговых частиц.

На сегодняшний день в литературе нет работ, описывающих морфологические особенности (электронно-микроскопическое изучение) взаимодействия бактериофагов почвенных бактерий с соответствующими микробными клетками. Помимо этого, метод электронной микроскопии позволил быстро на уровне отдельных клеток, регистрировать начальные стадии адсорбции бактериофагов на элементарных бактериях по сравнению с традиционными методами, что позволило существенно сократить время диагностики культур.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 4–16 см. REFERENCES)

- Уткин Д.В., Ерохин П.С., Осина Н.А., Конов Н.П. Оценка фаголизательности штаммов холерных вибрионов с использованием атомно-силовой микроскопии. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология.* 2013; 13 (3): 81–4.
- Краевский С.В. *Атомно-силовая микроскопия аффинных взаимодействий в микробиологии*: Дисс. ... канд. биол. наук. Оболенск; 2011.

REFERENCES

- Chang J.T., Schmid M.F., Haase-Pettingell C., Weigele P.R., King J.A., Chiu W. Visualizing the structural changes of bacteriophage Epstein15 and its *Salmonella* host during infection. *J. Mol. Biol.* 2010; 402(4): 731–40.
- Utkin D.V., Erokhin P.S., Osina N.A., Konov N.P. Assessment fagolizabelnosti strains of *V. cholerae* using atomic force microscopy. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya.* 2013; 13 (3): 81–4. (in Russian)
- Kraevskiy S.V. *Atomic Force Microscopy of Affinity Interactions in Microbiology*: Diss. Obolensk; 2011. (in Russian)
- Kang A.S., Barbas C.F., Janda K.D., Benkovic S.J., Lerner R.A. Linkage of recognition and replication functions by assembling combinatorial antibody Fab libraries along phage surfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1991; 88(10): 4363–6.
- Suttle C.A. Viruses in the sea. *Nature.* 2005; 437: 356–61.
- Ewing B., Hillier L., Wendl M.C., Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res.* 1998; 8(3): 175–85.
- Germida J.J., Khachatourians G.G. Transduction of *Escherichia coli* in soil. *Can. J. Microbiol.* 1988; 34(2): 190–3.
- Boyer M., Haurat J., Samain S., Segurens B., Gavory F., González V. et al. Bacteriophage prevalence in the genus *Azospirillum* and analyses of the first genome sequence of an *Azospirillum brasilense* integrative phage. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(3): 861–74.
- Gerhardt P., ed. *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, DC; 1981.
- Martha R.J., Clokie, Andrew M., Kropinski, eds. *Bacteriophages Methods and Protocols. Vol.1: Isolation, Characterization, and Interaction*. Humana Press; 2008: 113–26.
- Sambrook J., Fritsch D.F., Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. (v. 1–3). Cold Spring Harbor, New York, Cold Spring Harbor Lab. Press; 1989.
- Boyer M., Haurat J., Samain S., Segurens B., Gavory F., González V. et al. Bacteriophage prevalence in the genus *Azospirillum* and analyses of the first genome sequence of an *Azospirillum brasilense* integrative phage. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(3): 861–74.
- Stengele I., Bross P., Garces X., Giray J., Rasched I. Dissection of functional domains in phage fd adsorption protein. Discrimination between attachment and penetration sites. *J. Mol. Biol.* 1990; 212(1): 143–9.
- Jakes K.S., Davis N.G., Zinder N.D. A hybrid toxin from bacteriophage f1 attachment protein and colicin E3 has altered cell receptor specificity. *J. Bacteriol.* 1988; 170(9): 4231–8.
- Russel M., Whirlow H., Sun T.P., Webster R.E. Low-frequency infection of F-bacteria by transducing particles of *Filamentous* bacteriophages. *J. Bacteriol.* 1988; 170(11): 5312–6.
- Krebber C., Spada S., Desplancq D., Krebber A., Ge L., Pluckthun A. Selectively infective phage (SIP): a mechanistic dissection of a novel in vivo selection for protein–ligand interactions. *J. Mol. Biol.* 1997; 268(3): 607–18.

Поступила 29.08.14