

УДК 578

Д.С. Смальчук, І.В. Страшнова, Т.В. Іваниця

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38(048) 746 61 02, e-mail: smalchukdaria@gmail.com

ФАГИ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS*, ІЗОЛЬОВАНИХ З ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

*Незважаючи на те, що бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з ґрунту, досліджуються вже протягом століття, на сьогоднішній день залишаються теми, що не висвітлені достатньо або потребують подальших досліджень. Частіше за все представників роду *Bacillus* ізолюють з ґрунту або харчових продуктів. В останні роки ці бактерії почали ізолювати з різноманітних водних біоценозів екосистем океанів, морів, лиманів, озер, річок. Дослідження таких ізолятів вказує на те, що бактерії майже всіх видів роду *Bacillus* інфіковані бактеріофагами порядку *Caudovirales*, які мають хвостові відростки, систему інтеграції та ексцизації, необхідні для лізогенного циклу розвитку. Незважаючи на те, що більшість знайдених бактеріофагів належать до порядку *Caudovirales*, вони мають широкий діапазон відмінностей, якими є відношення до температур і рН, вплив на метаболізм та споруляцію хазяїна. В огляді представлено дані сучасної літератури про бактеріофаги, які інфікують бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з водних біоценозів, особливості їх будови, хімічного складу, структури геномів та взаємодії з клітиною хазяїна.*

Ключові слова: бактеріофаги, рід *Bacillus*, водне середовище

Віруси відіграють важливу роль у регулюванні структури мікробних спільнот, у глобальних біогеохімічних циклах, динаміці популяцій більшості живих організмів і, в першу чергу, це стосується бактерій, архей та протистів [13]. Якщо ми хочемо зрозуміти біологію морських мікроорганізмів, їх вирішальний внесок у функціонування морської екосистеми, розвиток стабільності та продуктивності морських мікробних спільнот, нам слід мати якомога більше інформації про їх віруси. Віруси, ймовірно, є найбільшим резервуаром нових генів у біосфері, вони відіграють основну роль в еволюції мікроорганізмів. Висловлено припущення, що віруси є частиною бактеріального та архейного пан-геномів, які неможливо розглядати окремо без клітин хазяїна з еволюційної точки зору [39]. При вивченні мікробної різноманітності та її екологічної функції в морських екосистемах, вірусну різноманітність та активність також необхідно вирішувати в комплексі. На сьогодні знання про взаємодію вірусів з прокаріотними хазяїнами і вірусну екологію у водному середовищі залишаються вкрай обмеженими.



Бактерії групи *Bacillus* мають потужну метаболічну систему, завдяки чому відіграють важливу роль в мінералізації органічних речовин в морських екосистемах, продукують широкий спектр позаклітинних ферментів та вторинних метаболітів і широко використовуються як пробіотики в медицині і ветеринарії та для отримання широкого спектру біологічно активних речовин. Антимікробні сполуки, що синтезують бактерії цієї групи, вивчаються як біологічно активні речовини призначені для контролю фітопатогенів, подовження терміну зберігання продуктів харчування та клінічного застосування. Представники, які мають морське походження, є ефективним джерелом для виділення природних сполук з новими структурними характеристиками та унікальними біологічними властивостями. Морські споротвірні бактерії синтезують різноманітні за структурою, специфічністю та біологічною активністю екзометаболіти: ліпопептиди, поліпептиди, макролактони, полікетиди, ліпоаміни, ізокумарини тощо [1].

Результати вивчення різноманітності, особливостей, характеристик геному, способу життя і лізогенних стратегій для бактеріофагів, що інфікують представників роду *Bacillus* [16], вказують на їх широке розповсюдження, різноманітність і, отже, значний науковий і практичний інтерес.

Згідно з інформацією, наведеною на сайті Міжнародного комітету з таксономії вірусів (ICTV), фаги, що заражають бактерій роду *Bacillus*, наразі є одними з найчисленніших таксономічно класифікованих бактеріофагів порядку *Caudovirales*. Вони включають багато родів родин *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* і *Herelleviridae*, а також представлені значною кількістю таксономічно некласифікованих фагів, що зберігаються в загальнодоступних базах даних.

На сьогодні маловивченими залишаються питання наявності та особливостей бактеріофагів у представників роду *Bacillus*, які були виділені з водного середовища. Це викликає значний інтерес, зважаючи на важливу роль цих бактерій у водних біоценозах і перспективи застосування їх в біотехнології, що спонукає до детального вивчення цієї теми.

В даній статті проведено аналіз даних сучасної літератури про виявлені за два останні десятиліття бактеріофаги, які інфікують бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з водних біоценозів, особливості їх будови, хімічного складу, структури геномів та взаємодії з клітиною хазяїна (таблиця).

З води озера Горіцьке (озеро в західній частині Польщі) було отримано ізоляти бактерій *B. pumilus*, що несуть в своєму геномі профаг. Дослідження цього профагу призвело до виявлення бактеріофагу phiAGATE. Процес адсорбції цього фагу дуже швидкий, а тривалість латентного періоду становить 35 хв. Бактеріофаг здатний інфікувати лише бактерії *B. pumilus*, які широко представлені в біоценозі озера Горіцьке [7].

Віріони фагу phiAGATE мають типову бінарну симетрію, характерну для порядку *Caudovirales*. Він має ікосаедричну головку, діаметром 91,16 нм. Довжина хвостового відростка становить 165,41 нм, проте деякі віріони мають змінену морфологію хвоста, що, на думку авторів, явно вказує на можливість його скорочення [7].



Таблиця

Фаги бактерій роду *Bacillus*, ізольованих з водного середовища

Table

Phages of bacteria of the genus *Bacillus* isolated from the aquatic environment

Бактеріофаг	Бактерія хазяїн	Джерело виділення	Джерело літератури
phiAGATE	<i>B. pumilus</i>	Озеро Горецьке (Польща)	<i>Barylski J., et al.</i> 2014
KLEB30-3S	<i>B. cereus</i>	Карстове озеро (Литва)	<i>Abedon T., Yin J.</i> 2009
Mgbh1	<i>B. halodurans</i>	Лужне озеро Шала (Ефіопія)	<i>Zyl J., et al.</i> 2016
Shbh1	<i>B. pseudofirmus</i>	Лужне озеро Шала (Ефіопія)	<i>Zyl J., et al.</i> 2016
DK1, DK2, DK3	<i>B. cereus</i>	Річка Гуанчжоу (Китай)	<i>Kong L., et al.</i> 2019
Bubs, OmnioDeoPrimus, Phireball, ALPS, Zainny, PPIsBest, AaronPhadgers, KamFam, Beyonphe, YungSlug	<i>B. cereus</i> group	Річка Джеймс (США)	<i>Kostyk N., et al.</i> 2021
DLc1	<i>B. cereus</i>	Стічні води, Гуанчжоу (Китай)	<i>Li C., Yuan X., Li N.</i> 2020
Goe2, Goe3	<i>B. subtilis</i>	Стічні води, Геттінген (Німеччина)	<i>Willms M., et al.</i> 2017
Goe4	<i>B. thuringiensis</i>	Стічні води, Геттінген (Німеччина)	<i>Schilling T., et al.</i> 2018
AP631	<i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i>	Стічні води (Китай)	<i>Liu X., et al.</i> 2019
BVE2	<i>B. cereus</i> group	Глибоководні відкладення з Індійського океану	<i>Chen Y., et al.</i> 2020
BVW1	<i>Bacillus</i> sp. w13	Гідротермальне джерело Тихого океану	<i>Liu B., et al.</i> 2006
Bc431v3	<i>B. cereus</i> group	Зразки води з водоочисної станції (Канада)	<i>Arabi E., et al.</i> 2013
VMY22	<i>B. cereus</i>	Льодовик (Китай)	<i>Ji X., et al.</i> 2015
φB05-1 φB05-2 φB05-3 φB05-4	<i>B. fusiformis</i>	Проба води Мексиканської затоки	<i>Mobberley J., et al.</i> 2010
P59	<i>B. oceanisediminis</i>	Донні відкладення Південнокитайського моря	<i>Feng Z., et al.</i> 2020



Біоінформатичний аналіз геному *phiAGATE* виявив наявність довгих кінцевих повторів та сегмент довжиною 2669 п.н., який, ймовірно, відповідає довгим кінцевим повторам, що перекриваються. Більш того, ця ділянка фланкована двома тандемними повторами із 7 і 8 нуклеотидів, які можуть бути пов'язані з утворенням фізичних кінців молекули ДНК [7]. Повний геном фагу *phiAGATE* має довжину 148844 п.н. Його унікальна послідовність складається з 147175 п.н. і має вміст G+C 41,0%, аналогічний тому, який спостерігається в геномах бактерій *B. pumilus* (41,3–41,7%) [43]. Детальний аналіз виявив 204 різних кодувальні послідовності (32 на прямому ланцюгу і 172 на зворотному ланцюгу), трьох генів тРНК і послідовність, яка дослідниками ідентифікована як псевдоген *Glu*. Найбільш часто впізнаваним стартовим кодоном є ATG (80,9%), в той час як TTG і GTG становлять 9,8% і 9,3%, відповідно, а стоп-кодонами є TAA (63,7%), TAG – 20,1%, TGA – 16,2%. Виявлені 108 з 204 кодувальних послідовностей аналогічні відомим послідовностям в базах даних, але їх функції були визначені лише для 53 з них [7].

Геном бактеріофагу *phiAGATE* має модульну структуру. Дві групи генів, пов'язаних з реплікацією і рекомбінацією ДНК, разом з кластером генів, що кодують послідовності, пов'язані з біосинтезом нуклеотидів, утворюють модуль реплікації. Гени структурних білків складають модуль морфогенезу, який надалі може бути розділений на частини, які кодують білки голови та білки хвостового відростка. Останні включають, серед іншого, три кодувальні послідовності, які нагадують відомі гени ферментів, що беруть участь у деградації компонентів клітинної стінки: хвостовий лізин 1 (що містить домен пептидази), хвостовий лізин 2 (аналогічний відомим ендо-бета-N-ацетилглюкозамінідазам) і білок, що містить домен, який, ймовірно, є іншою пептидазою.

Кодувальна послідовність для ендолізину (N-ацетилмурамоїл-L-аланінамідаза), була виявлена поряд з геном великої субодиниці термінази, а не поруч з геном, відповідальним за синтез холіну. Слід зазначити, що в геномі *phiAGATE* також кодуються два білки, що нагадують відомі полімерази, які розщиплюють екзополімери (полі-γ-глутаматгідролаза і пектинліазоподібний білок) [23]. Розмір геному, діаметр головки та довжина хвостового відростка знаходяться в межах, встановлених для членів підродини *Spounavirinae* (127–157 т.п.н., 75–100 нм і 140–220 нм, відповідно) [25].

Це дозволило авторам віднести бактеріофаг *phiAGATE* до виду-кандидата для підродини *Spounavirinae*, родини *Herelleviridae*. По базах даних бактеріофаг не змогли об'єднати ні з фагом SPO1, ні з Twort, які досліджені краще за інші. Тому його виділили в окремий кластер (названий «група Бастилія») або в філогенетичну гілку разом з бактеріофагами *Bacillus* B4, B5S, Bastille. Модульна організація геному *phiAGATE* схожа на типову для групи Bastille. Незважаючи на низьку схожість послідовностей, синтенія в центральних районах аналізованих геномів очевидна [25].

Помірний бактеріофаг *vB_VceS_KLEB30-3S* (KLEB30-3S) виявлено у бактерій *B. cereus*, ізольованих з екосистеми гіпсового карстового озера в Литві. Геном KLEB30-3S являє собою лінійну, дволанцюгову ДНК, що складається з 37 134 п.н. Він має 38,3% G+C пар, що відповідає вмісту G+C у



B. cereus. Геном KLEB30-3S щільно упакований із середнім розміром відкритої рамки читування (ORF) 592 п.н. У ньому 58 генів, що кодують білки, і немає генів тРНК. У той час як було виявлено, що більшість генів KLEB30-3S ініціюються з AUG (51 з 58 ORF), 4 ORF ініціюються за допомогою GUG, а 3 за допомогою UUG. Встановлено помітну асиметрію в розподілі генів на двох ланцюгах ДНК фагу. Передбачено, що переважна більшість (56 з 58) ORF для KLEB30-3S транскрибуються з одного і того ж ланцюга ДНК, тоді як тільки дві ORF були виявлені на протилежному ланцюгу.

Геном KLEB30-3S має модульну організацію з генами для упакування ДНК (малі та великі субодиниці термінази), структура/морфогенез (білок морфогенезу головки, головний білок капсиду, білок хвостового відростка і білок хвостового волокна), лізис хазяїна (лізоцим і ендолізін), лізогенія (інтегрази та репресор) і реплікація/рекомбінація ДНК (реплікативна ДНК-геліказа і регулятори транскрипції) згруповані разом. Примітно, що в геномі KLEB30-3S не виявлено факторів вірулентності або детермінант стійкості до антибіотиків [48].

Бактеріофаги Mgbh1 і Shbh1, знайдені у бактерій *B. halodurans* і *B. pseudofirmus*, які були ізольовані з лужного озера Шала, Ефіопія. Фаг Shbh1 здатний інфікувати обидва види, в той час, як Mgbh1 інфікує тільки *B. halodurans*. За морфологією Shbh1 належить до родини *Myoviridae*, тоді як Mgbh1 – до родини *Siphoviridae*. Фаг Shbh1 має діаметр головки 92 нм та довжиною хвостового відростка 226 нм, а бактеріофаг Mgbh1 має діаметр головки 49 нм, а довжина хвостового відростка – 200 нм [57].

Розмір геномів фагів Mgbh1 і Shbh1 варіює від 58,9 до 138,0 т.п.н. Фагові геноми демонструють модульну структуру, добре задокументовану в інших фагів з цих родин. Геноми мають лише 12% і 13% не кодувальних відтинка у Mgbh1 і Shbh1, відповідно. Геном Shbh1 має довгі кінцеві повтори, обсягом від 26700 п.н. до 30500 п.н. Вміст G+C для Shbh1 трохи нижчий, ніж у геномі хазяїна *B. halodurans* (43,7%) або *B. pseudofirmus* (40,3%). Різниця вмісту G+C для ДНК фага Shbh1 у порівнянні з бактеріальною ДНК *B. halodurans* більша, ніж між фагом Shbh1 і бактерією *B. pseudofirmus* [42]. У разі Mgbh1 вміст G+C дещо вищий, ніж у його хазяїна – *B. halodurans*. Це узгоджується з даними про те, що літичні фаги часто мають вищий, а лізогенні фаги нижчий вміст G+C порівняно з їх хазяїнами [42]. Вирівнювання нуклеотидної послідовності Shbh1 з декількома його найближчими родичами показує деяку консервативність на рівні нуклеотидів. Однак є чотири відтинка, які демонструють слабку або відсутню гомологію зі структурними білками близькоспоріднених фагів: 75678–76596 п.н., 82861–86954 п.н., 91464–95056 п.н., 98815–102490 п.н. Перший з цих відтинків відображає відмінності у довжині хвостового відростка між Shbh1 і його родичами. Останні три відтинка знаходяться в регіоні, що кодує білки хвостових волокон і два інших хвостових білки без певної функції [57].

Велика субодиниця термінази, ідентифікована в Mgbh1, демонструє найбільшу схожість з білками фагів *Bacillus* (phBC6A51) і *Paenibacillus* (Tripp) згідно бази даних BLAST. За результатами пошуку в базі даних NCBI терміназа найтісніше пов'язана з багатьма послідовностями термінази, виявленими в

геномах різних видів *Bacillus*. Це дає підстави вважати, що фаг Mgbh1 близький до лізогенних, а не літичних фагів *Bacillus*, які інфікують цих господарів. Передбачувана велика субодиниця термінази у Shbh1 найближче споріднена з субодиницею бактеріофагів Grass, phiNIT1, vB_VseM-Bc431v3 і кластерам фагів з групи *B. cereus*. Порівняльний аналіз з базою даних показав, що найближчим родичом бактеріофагу Shbh1 може бути бактеріофаг phiAGATE [57].

Для обох фагів ідентифіковані основні капсидні та хвостові білки, а з'єднувальні «голова до хвоста» білки – лише у фага Mgbh1. Аналіз послідовностей фагу Shbh1, показав, що вони кодують білки хвостових волокон, які містять повторювані послідовності білків, подібні до тих, що були ідентифіковані в білках довгих і коротких хвостових волокон (gp34 і gp12) фага T4. Оскільки фаг Shbh1 не надто відрізняється від фагів, що інфікують мезофільні бактерії роду *Bacillus*, його структурні білки можуть дати уявлення про адаптацію білків в цілому або, зокрема, структурних білків фага до високих рН і до сольових середовищ [57].

Бактеріофаги Mgbh1 і Shbh1 кодують тимідилатсинтази. Продемонстровано, що тимідилатсинтази TS1-типу унікальні для групи бактеріофагів Bastille, що інфікують бактерії *Bacillus*, можуть використовуватися як філогенетичний маркер [4]. Фаг Shbh1 позбавлений гомолога дигідрофолатредуктази, який також був ідентифікований як ще один маркерний ген для цієї групи. Він також не кодує метал-залежний гомолог бета-лактамази, що було виявлено в інших членів цієї групи, але кодує два метал-залежних ферменти: металофосфоестеразу і металоендопептидазні мембранні білки. Гомолог фагу Shbh1 SpoIII_E, ще одна відмінна риса цієї групи фагів, що також спостерігається в інших фагів Bastille [57].

Mgbh1 і Shbh1 кодують ДНК-полімерази, які мають 3'-5'-екзонуклеазну активність, однак ДНК-полімераза, ідентифікована у Shbh1, також містить N-кінцевий домен урацил-ДНК-глікозилази, аналогічний тому, що виявлений у ДНК-полімеразі фага SPO1 бактерій роду *Bacillus*. Передбачається, що присутність цього домену у ДНК-полімеразі сприяє процесивності полімерази [22]. Велика субодиниця термінази фагу Mgbh1 найбільш схожа на послідовності, які походять від лізогенних фагів у послідовності геномів бактерій видів роду *Bacillus*. Разом зі спостереженням, що на середовищі утворюються прозорі бляшки, це може свідчити про те, що фаг є літичною версією фага, який найчастіше веде лізогенний спосіб життя. Ідентифікована нуклеотидна послідовність на Mgbh1 довжиною 65 п.н. має повну ідентичність з послідовністю сусідньою з 5S рДНК *B. halodurans*. Це може вказувати на те, що фаг вбудовується в це положення на хромосомі *B. halodurans* при лізогенізації бактерії-хазяїна [57].

З води та мулу річки Гуанчжоу (Китай) виділено та очищено три бактеріофаги, які здатні до інфікування *B. cereus* [26]. Фаги отримали назву DK1, DK2, DK3. Морфологія їх подібна до бактеріофага vB_BthP-Goe4, який належить до родини *Podoviridae* [44]. Розміри геномів DK1, DK2 і DK3 складають 27 180 п.н., 26 357 п.н. та 26 865 п.н., відповідно, з вмістом G+C 30,9%, 30,9% і 31,1%. У геномі знайдено гени рРНК і тРНК. Ці фаги не несуть будь-яких генів вірулентності або генів стійкості до антибіотиків. Кожен фаг мав



передбачуваний ендолізін, який відіграє важливу роль у процесі зараження *B. cereus* [38].

Також повідомлено про послідовність геномів 10 бактеріофагів (Bubs, OmnioDeoPrimus, Phireball, ALPS, Zainny, PPIsBest, AaronPhadgers, KamFam, Beyonphe, YungSlug), що інфікують бактерії групи *B. cereus*, виділених з річки Джеймс (США) [27]. Всі ці фаги визначені як такі, що належать до родини *Myoviridae* за морфологією фагових часток або наявністю генів хвостового відростка. Їх геноми представлені дволанцюговою ДНК, довжиною від 150 033 до 163 540 п.н. з вмістом G+C близько 38%. Розмір кінцевих повторів коливається від 2154 до 2871 п.н. Геноми дев'яти фагів містять від 295 до 304 генів, що кодують білок, а двох фагів – гени тРНК. Функції визначено для 13–19% генів, і майже всі гени мають гомологи в GenBank. Навпаки, геном YungSlug на 10 000 п.н. коротший і містить 227 генів, що кодують білок, 101 з яких має відповідність з бактеріальними генами. Крім того, функція визначена для 36% його білків, а 43 білки мають гомологи в фагах SP-10 і SPO1, що походять від бактерії господаря *B. subtilis* [52].

В зразках стічних вод, зібраних в Гуанчжоу (Китай) було знайдено бактеріофаг vB_ВсеP-DLc1 (DLc1), який визначили як новий член ф29-подібних фагів, що інфікує бактерії *B. cereus* [30]. Бактеріофаг *Bacillus* ф29 і його родичі вважаються одними з найбільш важливих модельних організмів для реплікації ДНК, транскрипції, морфогенезу, досліджень упакування ДНК і застосування нанотехнологій [30]. Фаг DLc1 з унікальним вбудованим кластером генів має найбільший геном серед відомих бактеріофагів, подібних ф29.

Фаги ф29-подібної групи є літичними фагами та несуть невелику лінійну дволанцюгову ДНК з кодованим фагом кінцевим білком, ковалентно пов'язаним з кожним 5'-кінцем, який бере участь в реплікації ДНК, разом з високоточною ДНК-полімеразою [56]. Ділянка короткого інвертованого кінцевого повтору, консервативного на кінцях геному фагів, подібних ф29, з повторенням принаймні двох нуклеотидів на 3'-кінцях, що потрібно для більш точної роботи механізму ініціації реплікації гарантує, що ініціація реплікації відбувається з високою точністю. Наступна унікальна особливість – це молекулярний мотор, який використовується ф29 подібними фагами, для упакування ДНК в капсид [34]. DLc1 може використовувати поверхневі вуглеводні структури клітини-господаря як рецептор та інфікує тільки найбільш споріднені до *B. cereus* види, що вказує на високу специфічність по відношенню до клітин хазяїна [30].

Фаг DLc1 здатний утворювати прозорі бляшки діаметром приблизно 1 мм на чашках Петрі з двошаровим агаром після періоду інкубації від 4 до 12 годин при 37 °C [30]. Частка фага DLc1 має структуру голова-хвіст та містить подовжену головку (64,2±4,6 на 33,1±3,0 нм) і короткий неконтракtilьний хвостовий відросток (37,6±3,5 нм на 3,8±0,9 нм). Морфологія DLc1 типова для порядку *Caudovirales* і родини *Podoviridae*, а розміри та структура хвостового відростка дозволяють віднести DLc1 до підродини *Picovirinae* [24].

Бактеріофаг DLc1 має лінійний геном, представлений дволанцюговою ДНК розміром 28 950 п.н. і з вмістом G+C 31,1%. Геном містить інвертовані кінцеві повтори по 5 нуклеотидів. Виявлено 50 ORF, передбачених для коду-

вання білка, серед яких 18 ORF можна віднести до білків з потенційно відомою функцією [30]. ORF 40 і 41 відповідальні за кодування ДНК-транслокази та білка родини релаксації реплікації, відповідно, а продукт ORF 39 містить трансмембранні домени. Ця вставка трьох генів в DLc1 може походити від бактерії, що передбачає участь бактеріофагів в горизонтальному перенесенні генів [19]. За складом і розташуванням білків відзначено високий ступінь подібності з фагом $\phi 29$. Ідентичні патернам експресії типового фага $\phi 29$, ранні гени фага DLc1 розподілені в лівій і правій областях геному, а пізні гени вставлені всередину [19]. Високий ступінь подібності спостерігається також в ДНК-полімеразі та термінальному білку в лівій ранній ділянці, яка відповідають за реплікацію ДНК, а також в білках для морфогенезу та інкапсидизації ДНК, що знаходяться в пізній ділянці [30].

Латентний період бактеріофагу DLc1 становить 31 хвилину. Середній вихід віріонів складає 20 фагових частинок на інфіковану клітину. При інкубації при різних температурах протягом години фаг DLc1 проявляє високий ступінь стабільності в діапазоні температур від 4 до 55 °C, а активність різко знижується з 65 °C і повністю зникає при 75 °C. Фаг демонструє постійну активність у діапазоні значень pH від 5,0 до 11,0 і в присутності NaCl в концентрації до 500 мМ [21]. Крім того, DLc1 може протистояти обробці етанолом в концентраціях до 75%, який часто використовується для дезінфекції.

Відкрито два нових віруси, vB_BsuM-Goe2 (Goe2) та vB_BsuM-Goe3 (Goe3), виділені з неочищених стічних вод муніципальної станції очищення стічних вод в Геттінгені (Німеччина), що інфікують бактерії видів *Bacillus* [50]. Обидва бактеріофаги були морфологічно класифіковані як представники підродини *Spounavirinae*, що належать до родини *Herelleviridae*. Геномне секвенування та аналіз дозволили віднести фаг vB_BsuM-Goe2 до групи вірусів, подібних SPO1, а фаг vB_BsuM-Goe3 – до групи вірусів, подібних Bastille. Константа адсорбції, латентний період і діапазон хазяїв для обох вірусів виявили різні стратегії виживання. Бактеріофаг vB_BsuM-Goe2 покладається на меншу кількість видів хазяїв в порівнянні з бактеріофагом vB_BsuM-Goe3, але ефективно їх інфікує. Обидва віруси найкраще зберігаються в LB-середовищі або ТМК-буфері при 4 °C, тоді як кріоконсервація сильно знижує їх життєздатність [50].

Для фага Goe2 характерні ширші бляшки (~ 1,1 мм) ніж для фага Goe3 (~ 0,6 мм). Крім збільшеного розміру бляшки Goe2 часто мають ореол на своїй периферії. Помітні бляшки можна спостерігати тільки на штаммах *B. amyloliquefaciens*, де обидва віруси демонструють розмір і морфологію бляшок, аналогічні бляшкам на культурі *B. subtilis* [50]. Обидві вірусні частки мають морфологію голови та хвоста, типову для представників порядку *Caudovirales*. Крім того, виявлений довгий скоротливий хвостовий відросток, характерний для родини *Herelleviridae*. Додатковими морфологічними особливостями, притаманними обом вірусам, є ізометричний капсид і хвостові волокна, прикріплені під базальною пластинкою на кінці хвостового білка. Всі морфологічні властивості підтверджують віднесення бактеріофагів Goe2 і Goe3 до підродини *Spounavirinae* [25]. Голова інтактного віріона Goe2 становить близько 95 нм в ширину та 103 нм у висоту, а хвостовий відросток –



163 нм в довжину і 18 нм в ширину. Голова інтактного віріона Goe3 становить близько 96 нм в ширину і 98 нм у висоту, а хвіст – 163 нм в довжину і 18 нм в ширину. Волокна хвостового відростка у фагу Goe3 значно довші, ніж у Goe2 [50].

Геноми бактеріофагів Goe2 і Goe3 лінійні та мають довгі кінцеві повтори, які фланкують геном, що підтверджує їх відношення до підродини *Spounavirinae* [25]. Геном фагу Goe2 складається з 146,11 т.п.н., включаючи довгі кінцеві повтори розміром 13,85 т.п.н. на обох кінцях і вмістом G+C 40,26%. Аналіз геному показує наявність 4 тРНК і 226 генів, що кодують білок, з яких 165 кодують гіпотетичні білки, 4 – пов'язані з виходом із клітини, 31 – з транскрипцією і реплікацією, а 17 – білки морфогенезу [50].

Геном фагу Goe3 складається з 156,43 т.п.н. з довгими кінцевими повторами 4,95 т.п.н. на обох кінцях геному і вмістом G+C 41,93%. Він містить 5 тРНК і 246 генів, з яких 186 кодують білки, 2 – пов'язані з виходом із клітини, 25 – білки транскрипції і реплікації, а 15 – пов'язані з морфогенезом. Один ген кодує фермент полі-гамма-глутаматгідролазу [50], який не пов'язаний безпосередньо з реплікацією вірусу, але корисний для подальшої інфекції хазяїна, оскільки він руйнує матрицю біоплівки, отже, забезпечує кращий доступ до відповідного хазяїна [50].

Пошуки подібності фагу Goe2 на рівні нуклеотидів виявили 96% ідентичність послідовностей з вірусами бактерій групи *Bacillus* CampHawk [41] і SPO1 [49], а геном фагу Goe3 – з вірусами Grass і phiNIT1, які належать до групи вірусів, подібних SPO1, тоді як phiNIT1 належить до групи вірусів, подібних Bastille. Це також підтверджується загальною геномною схожістю фагів Goe2 і Goe3 з їхніми найближчими родинними вірусами. Комплементарні регіони фагів Goe2, CampHawk і SPO1 знаходяться в аналогічних положеннях і виявляють подібне розташування генів і орієнтацію. На відміну від фага Goe2, геном бактеріофагу Goe3 має менші області з високою схожістю зі своїми найближчими родичами і менш схожий на Grass і phiNIT1 [50].

Бактеріофаг vB_{BthP}-Goe4 (Goe4) виділений з неочищених стічних вод з використанням *B. thuringiensis* як бактерії-хазяїна [44]. Бактеріофаг має структуру голова-хвіст, характерну для представників порядку *Caudovirales*. Подовжена головка (висота $70,7 \pm 1,9$ нм і ширина $50,4 \pm 1,5$ нм) і короткий неконтрактильний хвостовий відросток (довжина $45,4 \pm 2,8$ нм і ширина $6,6 \pm 0,4$ нм) дозволили віднести його до родини вірусів *Podoviridae*, тоді як його розміри та відростки вказують на асоціацію з підродиною *Picovirinae* [44].

Секвенування та анотація геному виявляють лінійну вірусну хромосому розміром 25 722 п.н. з вмістом G+C 30,43%. Геном кодує одну пакувальну РНК і 43 білки, з яких 16 можна віднести до білків з потенційною функцією. Ановані гени демонструють схожість з генами фагу $\phi 29$, що інфікують *B. subtilis*. Пряме порівняння геномів фагів Goe4 і $\phi 29$ виявило високий ступінь подібності щодо організації геному і вмісту генів. Приблизно 80% компонентів геному фагу $\phi 29$ мають подібність з відповідними компонентами в геномі бактеріофагу Goe4. Найвищі ідентичності зареєстровані для генів, що беруть участь в морфогенезі, і генів, що кодують ДНК-полімеразу та кінцевий

білок, розташовані в ранній області на лівій ділянці геному. Ці гомології дозволяють віднести фаг Goe4 до групи φ29-подібних вірусів [34].

У 1963 році Донг з співавторами виділили фаг, що інфікує *B. anthracis* з неочищених стічних вод і позначили його AP631. Це був перший фаг *B. anthracis*, виділений в Китаї [32]. Оскільки бактеріофаг AP631 може специфічно інфікувати не інкапсульовані бактерії *B. anthracis* і утворювати прозорі бляшки, нині він широко використовується в Китаї для ідентифікації бактерій сибірки. Під електронним мікроскопом AP631 має шестикутну головку діаметром близько 50 нм і довгий нескоротливий хвостовий відросток довжиною близько 180 нм. Таким чином, AP631 можна таксономічно віднести до родини *Siphoviridae* порядку *Caudovirales*. У 2016 році Zhang з колегами виявили, що AP631 може неспецифічно лізувати вісім ізолятів *B. cereus*, що зберігаються в їх лабораторії, з утворенням каламутних бляшок [54].

Геном фагу AP631 має довжину 39 549 п.н. з вмістом G+C 35,01%, як і у його хазяїна *B. anthracis*. Всього 56 ORF ідентифіковані як ймовірні гени, що кодують білок. Як і більшість фагових геномів, геном AP631 щільно упакований: приблизно 89% геномної послідовності кодує генні продукти. З 56 ORF 51 (91%) має високий ступінь подібності послідовностей з передбаченими ORF фагів групи *B. cereus*, таких як фаги *B. anthracis* Wbeta, Gamma і Fah. ORF44 – ORF46 показує подібність послідовностей з генами трьох видів *B. cytotoxicus*, *B. cereus* і *B. anthracis*, відповідно, що, ймовірно, вказує на еволюційну історію колишніх хазяїв фагу AP631 [32].

Геном AP631 колінеарний і демонструє аналогічну касетну організацію як і в інших фагів цього виду. Лівий кінець геному містить гени, пов'язані з упакуванням ДНК, білком фагової голови, білком голова-хвіст і хвостовими білками, а центральна область геному містить гени, пов'язані з лізисом клітини-господаря, контролем лізогенії, реплікації ДНК і генною регуляцією. Встановлено, що ці області майже ідентичні ділянкам геному фагу Fah і демонструють високий ступінь подібності з геномами фагів Gamma і Wbeta. Навпаки, правий кінець геному AP631 сильно відрізняється порівняно з іншими фаговими геномами *B. anthracis* [32].

Новий бактеріофаг BVE2, що заражає бактерії групи *B. cereus*, був виділений з глибоководних відкладень в південно-західній частині Індійського океану [12]. Фаг BVE2 викликає лізис клітини хазяїна протягом 1,5 год після зараження. Однак наявність двох генів, що кодують інтегрази, в геномі BVE2 дає підстави передбачити, що BVE2 також може дотримуватися помірної стратегії. Геномний і філогенетичний аналіз показав, що BVE2 – мозаїчний фаг, який успадкував генетичні особливості від Wbeta-подібних вірусів, профагів *B. cereus* і їх хазяїна. Це дозволяє припустити часті горизонтальні перенесення генів, які відбувалися під час його еволюції [12].

Wbetavirus – це вірусний рід родини *Siphoviridae*, порядок *Caudovirales*, який включає бактеріофаги, гомологічні профагу *B. cereus* Wbeta. Wbeta-подібні віруси мають високий рівень подібності послідовностей і загальний порядок генів з профагами, які часто виявляються у представників групи *B. cereus*, але походження Wbeta-подібних вірусів залишається не з'ясованим [2].



Фаг BVE2 має ікосаедричну головку (діаметр $69,3 \pm 3,1$ нм) і довгий, гнучкий і нескоротливий хвостовий відросток (довжина $186,6 \pm 3,3$ нм). На підставі його морфології BVE2 віднесено до родини *Siphoviridae* із порядку *Caudovirales*. Латентний період фагу BVE2 складає приблизно 1,0–1,5 год, досягаючи плато росту приблизно за 4 години. BVE2 демонструє відносно невеликий вихід віріонів, приблизно 120 частинок. Геном представлений лінійною дволанцюговою ДНК розміром 20 021 п.н. Бактеріофаг BVE2 має вміст G+C 33,8%, що можна порівняти з вмістом Wbeta-подібних вірусів [45]. В геномі BVE2 виявлено 28 генів, що кодують білки довжиною понад 50 амінокислот. З них 27 мають впізнавані гомологи в базі даних, 14 з яких можна присвоїти передбачувану функцію, що відображає той факт, що білки, які кодуються морськими сіфовірусами, все ще недостатньо досліджені. Більшість генів BVE2 (85,7%) транскрибуються в одному напрямку. Подібно до більшості фагових геномів кодувальні відтинки в геномі BVE2 щільно упаковані, приблизно 86,6% геному складається з кодувальних відтинків. У геномах дволанцюгових ДНК бактеріофагів функціонально споріднені гени мають тенденцію до кластеризації, утворюючи модулі, які можуть спільно регулюватися і спільно успадковуватися [29].

Для BVE2 ідентифіковано кластер генів в лівому плечі геному, функції якого пов'язані з метаболізмом ДНК, реплікацією ДНК і регуляцією транскрипції для більшості генів в цьому кластері. Навпаки, порядок генів BVE2 в правому плечі є більш випадковим. За винятком кластерного модуля, що відповідає за лізис хазяїна (холін та ендолізін), інші функціонально пов'язані гени в правому плечі розсереджені та включають гени, які, як передбачається, беруть участь в контролі лізогенії, збірці віріонів, регуляції транскрипції, реплікації та допоміжних клітинних процесах. Принаймні три гени кодують регулятори транскрипції, наприклад, мотив спіраль-поворот-спіраль у білків, що дозволяє їм зв'язувати ДНК та регулювати рівень її експресії. Крім того, в геномі BVE2 ідентифіковані гени, що кодують дві інтегрази – XerC і XerD, що дозволяє припустити, що він також може бути лізогенним [12].

При дослідженні західної та східної частини Тихого океану виділено штам, який був ідентифікований як *Bacillus sp.* w13 – аеробна паличкоподібна і спороутворювальна термофільна бактерія, яка може рости в діапазоні температур 45–85 °C з оптимумом 65–70 °C [31]. Подальше вивчення привело до виявлення літичного бактеріофага W1 (BVW1), здатного інфікувати штам *Bacillus sp.* w13. BVW1 має довгий хвостовий відросток (300 нм довжиною і шириною 15 нм) і шестикутну головку (70 нм в діаметрі). Бактеріофаг здатний інфікувати тільки бактерії штаму *Bacillus sp.* w13. Аналізи термостабільності показують, що фаг BVW1 найбільш стабільний при 60 °C, однак, виживання фага різко знижується з підвищенням температури. Геном фагу BVW1 представлений дволанцюговою ДНК розміром в 18 т.п.н. [31].

Бактеріофаг vB_ВсеМ_Vc431v3 (Vc431v3), виділений зі зразків води з водоочисної станції у Канаді, продукує невеликі (1,8 мкм) прозорі бляшки з мутними краями на культурі бактерій *B. cereus*. Цей фаг має ікосаедричну головку діаметром $85,4 \pm 3$ нм з видимими окремими капсомерами. Вірус має довгий скорочувальний хвостовий відросток довжиною 180 ± 3 нм і шириною

12±4 нм. Базова пластина має групу виступів і щось на зразок центрально-го волокна хвостового відростка. У сукупності ці ознаки вказують на те, що цей вірус належить до родини *Myoviridae*. Діапазон кола хазяїв фагу Bc431v3 включає штами *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. licheniformis* і *B. weihenstephanensis* з різним ступенем лізису. Фаг Bc431v3 також інфікував *B. thuringiensis*, *B. psychrosaccharolyticus* і *B. megaterium*, але не зміг лізувати штам *B. subtilis* [3].

Геном фагу Bc431v3 має розмір 158 618 п.н. і містить 39% G+C. В кодуванні білків беруть участь 90,7% геному. Всього в геномі ідентифіковано 239 передбачуваних ORF. З них 38 ORF мають ідентифіковані функції, в той час як 76 ORF мають гомологію з білками в базі даних NCBI, але їх функції невідомі. Велика частка ORF належать до білків, унікальних для цього фага. У геномі використовуються три різних стартових кодони – ATG, GTG і TTG та ідентифіковано дві С-5-цитозин-специфічні ДНК-метилтрансферази.

Прогнози на основі послідовностей визначають, що багато генів беруть участь у метаболізмі нуклеотидів і синтезі ДНК. Перші включають тимідилатсинтазу, рибонуклеотидредуктазу, дигідрофолатредуктазу, гомолог екзонуклеаз I та II та білки, які беруть участь в реплікації ДНК, включаючи ДНК-полімерази, ДНК-праймази та дві ДНК-гелікази [3].

У геномі бактеріофагу Bc431v3 ідентифіковано кілька генів, що кодують білки, які беруть безпосередню участь в упакуванні та морфогенезі ДНК. Вкрай незвичним є те, що гени термінази відділяються від генного комплексу капсид-хвіст. Геном Bc431v3 містить 20 генів tРНК для 17 амінокислот. Одна з унікальних особливостей цього вірусу – наявність декількох рідкісних або унікальних генів. Ген 174 прогнозовано кодує ДНК-зв'язувальний білок, пов'язаний з чинником інтеграції бактерій-хазяїв і бере участь у низці хромосомних функцій, включаючи укладання ДНК. Бактеріофаг Bc431v3 також несе кілька генів, безпосередньо пов'язаних з регуляторами споруляції хазяїна [3].

Докладний аналіз показав, що фаг Bc431v3 має майже 36,4% гомології послідовності з фагом *Listeria* A511 та фагом *Enterococcus* ØEF24C, тоді як з фагом SPO1 *Bacillus* він має тільки 24,3% гомології послідовності [3]. У цього вірусу відсутні детермінанти репресора, сайт-специфічної інтегрази, вірулентності та стійкості до антибіотиків, що збільшує його потенційне застосування для біоконтролю членів групи *B. cereus*.

Активний при низьких температурах літичний бактеріофаг, позначений VMY22, що інфікує бактерії *B. cereus*, виділено з льодовика Мінгйон в Китаї [20]. Холодоактивні бактеріофаги здатні інфікувати та розмножуватися при температурах ≤ 4 °C [40]. Фаг VMY22 має ікосаедричну головку (59,2 нм в довжину, 31,9 нм в ширину) і хвостовий відросток (43,2 нм в довжину). Бактеріофаг VMY22 був класифікований як член родини *Podoviridae*. Крива росту показує, що латентний період становить 70 хвилин, із середньою кількістю виходу віріонів в 78 часток фагу на інфіковану клітину.

Бактерії штамів *B. cereus* утворюють прозорі бляшки після інфікування VMY22 при 4–37 °C і демонструють максимальну продукцію фагу при 15–20 °C. Термочутливість найбільш помітна фізична характеристика холо-



до-активного фага VMY22, який може витримувати понад 60 хв при 20 °C з мінімальними втратами та його активність швидко знижується, коли температура перевищує 60 °C. Максимальна стабільність бактеріофагу VMY22 спостерігається при pH 8,0 і залишається стабільною при pH 5,0–9,0 [20].

Бактеріофаг VMY22 нечутливий до хлороформу – він зберігає понад 80% інфекційної активності після впливу 15% хлороформу, але інфекційність VMY22 повністю втрачається за обробки протеазою K або інкубацією з SDS або TritonX-100. Нечутливість до хлороформу передбачає, що капсид VMY22 не містить ліпідів. Бактеріофаг VMY22 має дволанцюгову ДНК [20].

Аналіз послідовності показує, що геном має 18 609 п.н. із загальним вмістом G+C 36,4% і 25 ORF. Послідовність містить 46 потенційних промоторів, 6 термінаторів транскрипції та не містить tPHK. Зроблено висновок, що, по-перше, один з прогнозованих білків, ORF 19, демонструє високу схожість послідовності з білком біосинтезу бактеріоцину з *B. cereus*. Виходячи з цієї інформації, можна припустити, що фаг VMY22 знаходиться на проміжній фазі спільної еволюції з бактеріальним хазяїном [53], а по-друге, сім з гіпотетичних білків, є унікальними для холодонечутливого фага *B. cereus* [20].

З 25 виявлених ORF 10 були ідентифіковані як такі, що кодують білки. Решта ORF розділені на п'ять функціональних груп: структурні білки (білок хвостового відростка фага, білок капсиду фага) ферменти та білки реплікації і транскрипції ДНК (ДНК-полімераза, реплікаційний білок, одноланцюгові ДНК-зв'язувальні білки і регулятори транскрипції), ДНК-пакувальні білки (білки морфогенезу і фагові ДНК-пакувальні АТФази), фермент лізису хазяїна (ендолізін) і потенційні білки біосинтезу бактеріоцинів. Також визначено сім нових прогнозованих білків, які не можуть бути зіставлені з будь-якими іншими фагами в базах даних [53].

Дослідження одинадцяти ізолятів *Bacillus*, виділених з поверхневих і підземних вод Мексиканської затоки, засвідчує наявність фагів у бактерій, ідентифікованих як *B. fusiformis* [35].

Бактеріофаг фВ05-1 має одноланцюговий геном довжиною 18 118 п.н. з вмістом G+C 33%. Його геном містить чотири прогнозованих регулятори транскрипції. Шістнадцять ORF (61%) мають високий ступінь схожості з відомими послідовностями [47]. Дванадцять ORF схожі з послідовностями інших бактеріофагів роду *Bacillus* [35]. ORF 1 подібна до інтегрази, а ORF 6 подібна білку реплікації фагу BC6A52 *B. cereus*. ORF 2 подібна ДНК-зв'язувальному домену регуляторів транскрипції у *B. halodurans* C-125. ORF 17 відповідає регулятору транскрипції MerR-типу [9]. Регулятори транскрипції цієї родини були виявлені у бактерій і фагів і відповідальні за реагування на різні стресові стимули, включаючи присутність металів і антибіотиків [47].

ORF 17 відповідальний за синтез холоіглїцингїдролази та аналогічний гену, виявленому в геномі *B. cereus* [17]. Холоіглїцингїдролази – це бактеріальні білки, які розкладають солі жовчних кислот в кишківнику ссавців [8]. Оскільки *B. cereus* є умовно-патогенним мікроорганізмом, ці гени можуть служити механізмом виживання бактерії, а присутність їх у профагу морських *Bacillus* може вказувати на горизонтальне перенесення генів, опосередковане трансдукцією. Цікавою особливістю геному фагу фВ05-1 є наявність

чотирьох регуляторів транскрипції. Ці регулятори транскрипції, які включають AbrB і SinR, перенаправляють метаболічну активність клітини на використання доступного джерела живлення, і регулюють експресію генів споруляції на початку стаціонарної фази [46].

SinR специфічно пригнічує транскрипцію генів споруляції. Наявність у профагів регуляторів перехідного стану може забезпечити додатковий рівень контролю споруляції у морських представників *Bacillus* [35]. Різноманітність регуляторів транскрипції в фВ05-1 може вказувати на роль цих білків в регуляції функцій хазяїна і фагу. Пригнічення метаболічно дорогих або марнотратних шляхів може дати лізогенії перевагу під час виживання при голодуванні [47].

У геномі *B. fusiformis* знайдено бактеріофаг фВ05-2 у стані профагу. Він має довжину 17 159 п.н. з вмістом G+C 35,5%. Ця область складається з 24 ORF, 18 з яких мають значну схожість на рівні білка з відомими послідовностями в базах даних [47]. У геномі виявлено два білки, пов'язаних з реплікацією фага – ORF 5 подібний білку реплікації, виявленому у літичного фага *Bacillus* Fah, і ORF 7 подібний білку, що зв'язує одноланцюгову ДНК профагу *Staphylococcus aureus* PVL. Фаг фВ05-2 не індукується мітоміцином С [35].

Ідентифікований бактеріофаг фВ05-3 має довжину 25 898 п.н. Сегмент складається з 43 ORF, 27 (62%) з яких мають схожість з іншими відомими білками [47]. Геном фВ05-3 містить гени, пов'язані з лізогенією і реплікацією фагу, які аналогічні генам інших помірних фагів. ORF 3 кодує репресор, який має схожість з фагами *Geobacillus* і *B. cereus*. ORF 7 подібна до фагових антирепресорних білків з профагу *S. aureus* фPV83 і помірного колифагу P1 [35]. З правого боку геному фВ05-3 знаходяться гени, що експресуються останніми та беруть участь у пакуванні та лізисі. ORF 36 кодує велику субодиницю термінази, яка має схожість з генами фагів *Bacillus* і *Staphylococcus*. ORF 41 і 42 подібні до холіну і лізину. На підставі пошуку схожості з відомими білковими послідовностями не виявлено ні капсидних, ні хвостових генів [35].

Профагоподібна ділянка ДНК фВ05-4 має довжину 17 991 п.н.. Геном містить 24 ORF, 22 з яких мають схожість з іншими білками [47]. Десять ORF для фВ05-4 схожі з генами дефектного фага *Bacillus* PBSX, відомого своїм упакуванням випадкових ділянок ДНК хазяїна [18]. У фВ05-4 не було виявлено ніяких ідентифікованих генів реплікації, капсиду або упакування ДНК [35]. фВ05-4 є ймовірним профагом, який містить кілька ідентифікованих структурних генів [35].

Відсутність будь-яких реплікативних або пакувальних генів у фВ05-4 може означати, що цей сегмент може кодувати дефектний фаг. Дефектні фаги здатні утворювати фагові частки, які мають бактерицидну активність, але не є інфекційними [18]. У разі PBSX випадкові ділянки хромосомного геному господаря розміром 13 т.п.н. упаковуються, але не інфікують інші клітини. Помітною відмінністю між двома фагами є відсутність ідентифікованих терміназних, капсидних і пакувальних білків в фВ05-4 [35].

У PBSX ця група генів, довжина якої становить близько 6000 п.н., розташована між репресором і геном, що відповідає за синтез хвостового відростка [28], але ця ділянка не ідентифікована в фВ05-4. З огляду на відсутність



капсидних білків, фВ05-4 може бути хвостоподібним бактеріоцином. Бактеріоцини зазвичай являють собою білкові частинки, що мають бактерицидну активність проти близькоспоріднених штамів. Деякі високомолекулярні бактеріоцини нагадують хвостові відростки фагів.

Електронні мікрофотографії зазначених вище фагових лізатів показують дві різні морфології фагових часток. Спостерігаються міовірусоподібні частки з діаметром капсиду 138 нм, довжиною хвостового відростка 307 нм і шириною 23 нм, а також виявлені більш дрібні частинки з ікосаедричними капсидами (діаметр 103 нм) та товстими хвостовими відростками (довжина 210 нм і ширина 35 нм). Розміри геномів цих чотирьох профагів варіюють від 17 991 до 25 898 п.н., що набагато менше розмірів типових хвостових фагів [37].

Менші розміри геному фагу зазвичай спостерігаються у літичних фагів, дефектних фагів або залишків фагів [33]. Однак дослідження геномів 113 морських бактеріальних ізолятів показало, що більшість профагових відростків мають розмір менше 30 т.п.н. [37]. Вміст генів, хоча він може бути пов'язаний з розміром, є більш важливим чинником. Геноми фВ05-1, фВ05-3 і фВ05-4 містять інтегрази та білки-репресори, тоді як геном фВ05-2 містить тільки гени реплікації фага, термінази та транспозази. Оскільки фВ05-2 не індукується мітоміцином С, автори зробили припущення про те, що ця область є залишком профагу. Залишки профагів, які можуть містити функціональні гени, часто зустрічаються в бактеріальних геномах і вважаються результатом процесів поступової деградації бактеріофагів [11].

фВ05-1 і фВ05-3 є помірними фагами, здатними до індукції. Окрім наявності модуля лізогенії, геномна архітектура цих двох профагів істотно різниться. Геном фВ05-3 є найбільшим з профагоподібних ділянок і за вмістом найбільш близький до такого у класичного хвостового фага. Гени, що беруть участь в реплікації фагів, збірці фагових частинок і лізису, аналогічні генам, виявленим у помірних фагів. Геном фВ05-1 менший за розміром і не має функціональних модулів, пов'язаних з хвостовими відростками [35].

З бактерій типового штаму *B. oceanisediminis*, виділеного з донних відкладень Південнокитайського моря, отримано бактеріофаг P59 [14], який утворює невеликі (~1 мм), але прозорі бляшки на газоні *B. oceanisediminis*. Частки фага P59 мають типову морфологію представників родини *Myoviridae*, з ікосаедричною головкою 85 нм в діаметрі та скорочувальним хвостовим відростком довжиною 200 нм [14]. Фаг P59 має лінійний дволанцюговий геном довжиною 159 363 п.н. з вмістом G+C 42,34%. Всього виявлено 261 ORF з середньою довжиною 535 п.н. Передбачено, що 136 ORF кодують гіпотетичні білки, а 47 ORF кодують білки з відомими функціями. Білки, які кодуються іншими 78 ORF, не мають гомології з іншими відомими фаговими білками, що підтверджує новизну фагу P59. Функціонально анотовані ORF були далі розділені на п'ять груп: структура, реплікація та упакування, лізис, допоміжні метаболічні гени та інші. Слід зазначити, що всі збіги цих 47 ORF були отримані від фагів *Bacillus*, а 23 збіги – від фагів *Bacillus*, які були перекласифіковані в недавно запропоновану родину *Herelleviridae* (раніше відома як підгрупа всередині родини *Myoviridae*) [5]. Крім того, 14 генів, однакових для

членів родини *Herelleviridae* [6], були виявлені в геномі P59. У геномі P59 було ідентифіковано п'ятнадцять генів тРНК [14].

Як і багато інших фагів, P59 містить кілька допоміжних метаболічних генів у своєму геномі, включаючи ті, які зазвичай виявляються в фагах, що кодуєть тимідилатсинтазу, білок, індукований фосфатним голодуванням, і рибонуклеотидредуктазу. Вважається, що експресія допоміжних метаболічних генів змінює метаболізм господаря під час інфекції та збільшує фагову активність. Наприклад, тимідилатсинтаза є одним з допоміжних метаболічних генів, що беруть участь в синтезі нуклеотидів. Показано, що як синтез тимідину, так і експресія гена тимідилатсинтази, кодованого фагом, збільшуються після фагової інфекції [55]. Синтез білка, індукованого фосфатним голодуванням, посилюється у відповідь на фосфатне голодування в клітинах хазяїна та може брати участь у регуляції метаболізму фосфору в умовах його дефіциту [15].

Рибонуклеотидредуктази – ще один поширений допоміжний продукт, виявлений у фагів, який перетворює рибонуклеотиди в дезоксирибонуклеотиди та, отже, забезпечує будівельні блоки для синтезу ДНК. Хоча фаги сильно залежать від апарату трансляції свого хазяїна, гени тРНК іноді виявляються в їх власних геномах [36]. Гени тРНК в геномах фагів можуть компенсувати відмінності у використанні кодонів або амінокислот між фагом і хазяїном. Гени тРНК також можуть сприяти ефективності трансляції унікальних генів, таких як допоміжні метаболічні гени [51]. Присутність допоміжних метаболічних генів і тРНК в геномі P59 свідчить про адаптацію фага до свого хазяїна і навколишнього середовища [14].

У геномі P59 ановано білок FtsK/SpoIII ϵ , який описано в декількох геномах фагів *Bacillus*, включаючи фаг Grass і Moonbeam. У спорулювальних клітинах *Bacillus* SpoIII ϵ переміщує ДНК в проспору під час споруляції [10], але роль цього білка в циклі фагової інфекції залишається невизначеною. Пошук з використанням повногеномної послідовності P59 у базі даних GenBank показує, що P59 має дуже низьку схожість послідовностей з іншими фаговими геномами. Побудовані філогенетичні дерева показують, що фаг P59 є новим фагом бактерій роду *Bacillus*, що належить до родини *Herelleviridae*, який споріднений з фагами підродини *Bastillevirinae* [14].

Аналіз сучасних даних літератури стосовно бактеріофагів, здатних інфікувати бактерії роду *Bacillus*, ізольованих з водного середовища, свідчить про те, що всі виявлені бактеріофаги належать до порядку *Caudovirales*. Вони мають ікосаедричну головку, хвостовий відросток та геном, що представлений дволанцюговою ДНК. Описані бактеріофаги характеризуються великим діапазоном умов існування та потреб для розмноження. Вони можуть рости при температурах в діапазоні 4–60 °C, значних змінах pH, впливати на метаболізм хазяїна та процеси споруляції. Подальше виявлення та вивчення фагів у водних мікробних біоценозах дасть розуміння їх ролі у функціонуванні мікробних спільнот, біогеохімічних циклах, біології водних мікроорганізмів, а також визначення перспектив їх використання в біотехнології, в першу чергу для пошуку генів, що відповідають за синтез антибіотичних сполук, та розробки засобів боротьби з такими особливо небезпечними представниками цього роду.



D.S. Smalchuk, I.V. Strashnova, T.V. Ivanytsia

Odesa I.I. Mechnykov National University,
2, Dvoryanska St., Odesa, 65082. Ukraine,
tel.: +38(048) 746 61 02, e-mail: smalchukdaria@gmail.com

PHAGES OF BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS* ISOLATED FROM THE AQUATIC ENVIRONMENT

Summary

Despite the fact that bacteria of the genus Bacillus isolated from the soil have been studied for centuries, there are still topics that are not sufficiently covered or need further research. Most often, members of the genus Bacillus are isolated from soil or food. In recent years, these bacteria have begun to isolate from various aquatic biocenoses of ecosystems of oceans, seas, estuaries, lakes, rivers. Studies of such isolates indicate that bacteria of almost all species of the genus Bacillus are infected with bacteriophages of the order Caudovirales, which have caudal processes, integrase and excision systems necessary for the lysogenic development cycle. Although most of the bacteriophages found belong to the order Caudovirales, they have a wide range of differences, such as the relationship to temperature and pH, the impact on metabolism and sporulation of the host. The review presents data from the modern literature on bacteriophages that infect bacteria of the genus Bacillus isolated from aquatic biocenoses, features of their structure, chemical composition, genome structure and interaction with the host cell.

Key words: bacteriophages, genus Bacillus, aquatic environments

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Abedon T., Yin J.* Bacteriophage plaques: theory and analysis // *Methods Mol Biol.* – 2009. – Vol. 501. – P. 161–174.
2. *Adams M.J., Lefkowitz E.J., King A.M.* Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses // *Arch Virol.* 2016. – Vol. 161. – P. 2921–2949.
3. *Arabi E., Griffiths T., She Y.* Genome sequence and analysis of a broad-host range lytic bacteriophage that infects the *Bacillus cereus* group // *Virol. J.* – 2013. – Vol. 10. – P. 48–59.
4. *Asare T., Jeong Y., Ryu S., Klumpp J., Loessner J., Merrill D., Kim P.* Putative type 1 thymidylate synthase and dihydrofolate reductase as signature genes of a novel Bastille-like group of phages in the subfamily *Spounavirinae* // *BMC Genomics.* – 2015. – Vol. 16. – P. 582–587.
5. *Barylski E., Dutilh B., Schuller M., Edwards A.* Analysis of *Spounaviruses* as a Case Study for the Overdue Reclassification of Tailed Phages // *Systematic Biology.* – 2020. – Vol. 69. – P. 110–123.
6. *Barylski J., Kropinski M., Alikhan F., Adriaenssens M.* ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Herelleviridae* // *J Gen Virol.* – 2020. – Vol. 101. – P. 362–363.
7. *Barylski J., Nowicki G., Goździcka-Józefiak A.* The Discovery of phiAGATE, A Novel Phage Infecting *Bacillus pumilus*, Leads to New Insights into the Phylogeny of the Subfamily *Spounavirinae* // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. 1–14.



8. Begley M., Gahan G., Hill C. The interaction between bacteria and bile // FEMS Microbiol Rev. – 2005. – Vol. 29. – P. 625–651.
9. Brown N.L., Stoyanov J.V., Kidd S.P., Hobman J.L. The MerR family of transcriptional regulators // FEMS Microbiol Rev. – 2003. – Vol. 27. – P. 145–163.
10. Burton M., Marquis A., Sullivan L., Rapoport A., Rudner Z. The ATPase SpoIIIE transports DNA across fused septal membranes during sporulation in *Bacillus subtilis* // Cell. – 2007. – Vol. 131. – P. 1301–1312.
11. Casjens S. Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? // Mol Microbiol. – 2003. – Vol. 49. – P. 277–300.
12. Chen Y., Guo X., Wu J., Jin M., Zeng R. A novel deep-sea bacteriophage possesses features of Wbeta-like viruses and prophages // Arch Virol. – 2020. – Vol. 165. – P. 1219–1223.
13. Danovaro R., Dell'Anno A., Corinaldesi C., Magagnini M., Noble R., Tamburini C., Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems // Nature. – 2008. – Vol. 454. – P. 1084–1087.
14. Feng Z., Xinwu L., Liu W., Yong N. Complete genome sequence of a novel *Bacillus* phage, P59, that infects *Bacillus oceanisediminis* // Archives of Virology. – 2020. – Vol. 165. – P. 1–5.
15. Gao B., Huang Y., Ning D. Metabolic Genes within Cyanophage Genomes: Implications for Diversity and Evolution // Genes (Basel). – 2016. – Vol. 7. – P. 80–91.
16. Gillis A., Mahillon J. Phages preying on *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*: past, present and future // Viruses. – 2014. – Vol. 6. – P. 2623–2672.
17. Han S., Xie G., Challacombe F., Altherr R., Bhotika S., Brown N., Bruce D. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis* // J Bacteriol. – 2006. – Vol. 188. – P. 3382 – 3390.
18. Hemphill E., Whiteley R. Bacteriophages of *Bacillus subtilis* // Bacteriol Rev. – 1975. – Vol. 39. – P. 257–315.
19. Jean N.L., Rutherford T.J., Löwe J. FtsK in motion reveals its mechanism for double-stranded DNA translocation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2020. – Vol. 117. – P. 14202–14208.
20. Ji X., Zhang C., Fang Y., Zhang Q., Lin L., Tang B., Wei Y. Isolation and characterization of glacier VMY22, a novel lytic cold-active bacteriophage of *Bacillus cereus* // Virol Sin. – 2015. – Vol. 30. – P. 52–58.
21. Kampf G. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection // J Hosp Infect. – 2018. – 98 (4). – P. 331–338.
22. Kazlauskas D., Venclovas C. Computational analysis of DNA replicases in double-stranded DNA viruses: relationship with the genome size // Nucleic Acids Research. – 2011. – Vol. 1. – P. 8291–8305.
23. Kimura K., Itoh Y. Characterization of poly-gamma-glutamate hydrolase encoded by a bacteriophage genome: possible role in phage infection of *Bacillus subtilis* encapsulated with poly-gamma-glutamate // Appl Environ Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 2491–2497.



24. King A., Lefkowitz E., Adams M.J., Carstens E.B. *Virus Taxonomy*. 1st ed. – Amsterdam: Elsevier. Press, 2011. – 384 p.
25. Klumpp J., Lavigne R., Loessner J., Ackermann W. The SPO1-related bacteriophages // *Arch Virol*. – 2010. – Vol. 155. – P. 1547–1561.
26. Kong L., Ding Y., Wu Q., Wang J., Zhang J., Li H., Yu S., Yu P., Gao T., Zeng H., Yang M., Liang Y., Wang Z., Xie Z., Wang Q. Genome sequencing and characterization of three *Bacillus cereus*-specific phages DK1, DK2 and DK3 // *Arch Virol*. – 2019. – Vol. 164. – P. 1927–1929.
27. Kostyk N., Chigbu O., Cochran E., Davis J., Essig J., Do L., Farooque N. Complete Genome Sequences of *Bacillus cereus* Group Phages AaronPhadgers, ALPS, Beyonphe, Bubs, KamFam, OmnioDeoPrimus, Phireball, PPIsBest, YungSlug and Zainny // *Microbiol Resour Announc*. – 2021. – Vol. 10. – P. 33.
28. Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini M., Alloni G., Azevedo V., Bertero G., Bessi res P., Bolotin A. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis* // *Nature*. – 1997. – Vol. 390. – P. 249–256.
29. Lawrence J.G., Hatfull G.F., Hendrix R.W. Imbroglis of viral taxonomy: genetic exchange and failings of phenetic approaches // *J Bacteriol*. – 2002. – Vol. 184. – P. 4891–4905.
30. Li C., Yuan X., Li N. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Phage vB_BceP-DLc1 Reveals the Largest Member of the Φ 29-Like Phages // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8. – P. 1750–1760.
31. Liu B., Wu S., Song Q., Zhang X., Xie L. Two novel bacteriophages of thermophilic bacteria isolated from deep-sea hydrothermal fields // *Curr Microbiol*. – 2006. – Vol. 53. – P. 163–166.
32. Liu X., Wang D., Pan C., Feng E., Fan H., Li M., Zhu L., Tong Y., Wang H. Genome sequence of *Bacillus anthracis* typing phage AP631 // *Arch Virol*. – 2019. – Vol. 164. – P. 917–921.
33. Lucchini S., Desiere F., Br ssow H. Comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* phage species supports a modular evolution theory // *J Virol*. – 1999. – Vol. 73. – P. 8647–8656.
34. Meijer J., Horcajadas A., Salas M. Phi29 family of phages // *Microbiol Mol Biol Rev*. – 2001. – Vol. 65. – P. 261–287.
35. Mobberley J., Authement N., Segall M., Edwards A., Slepecky A., Paul H. Lysogeny and sporulation in *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico // *Appl Environ Microbiol*. – 2010. – Vol. 76. – P. 829–842.
36. Morgado S., Vicente C. Global in-silico scenario of tRNA genes and their organization in virus genomes // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11. – P. 180–188.
37. Paul H. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? // *ISME J*. – 2008. – Vol. 2. – P. 579–589.
38. Porter J., Schuch R., Pelzek J., Buckle M., McGowan S., Wilce C., Rossjohn J., Russell R., Nelson D., Fischetti A., Whisstock C. The 1.6   crystal structure of the catalytic domain of PlyB, a bacteriophage lysin active against *Bacillus anthracis* // *J Mol Biol*. – 2007. – Vol. 366. – P. 540–550.



39. Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Rodriguez-Brito B., Pasic L., Thingstad T.F., Rohwer F., Mira R. Explaining microbial population genomics through phage predation // *Nat Rev Microbiol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 828–836.
40. Rex A., Etter J., Morris S., Crouse J., McLain R., Johnson A., Stuart T., Deming W., Thies R., Avery R. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos // *Marine Ecology Progress Series.* – 2006. – Vol. 317. – P. 1–8.
41. Ritz M.P., Perl A.L., Colquhoun J.M., Chamakura K.R., Kutty G.F. Complete Genome of *Bacillus subtilis* Myophage CampHawk // *Genome Announc.* – 2013. – Vol. 1. – P. 984–997.
42. Rocha E.P., Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources // *Trends Genet.* – 2002. – Vol. 18. – P. 291–294.
43. Sayers W., Barrett T., Benson A., Bolton E., Bryant H., Canese K., Chetvernin V., Church M., Dicuccio M., Federhen S., Feolo M. Database resources of the National Center for Biotechnology Information // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – Vol. 40. – P. 13–25.
44. Schilling T., Hoppert M., Hertel R. Genomic Analysis of the Recent Viral Isolate vB_BthP-Goe4 Reveals Increased Diversity of ϕ 29-Like Phages // *Viruses.* – 2018. – Vol. 10. – P. 624–638.
45. Schuch R., Fischetti V.A. Detailed genomic analysis of the Wbeta and gamma phages infecting *Bacillus anthracis*: implications for evolution of environmental fitness and antibiotic resistance // *J Bacteriol.* – 2006. – Vol. 188. – P. 3037–3051.
46. Shafikhani H., Mandic-Mulec I., Strauch A., Smith I., Leighton T. Postexponential regulation of *sin* operon expression in *Bacillus subtilis* // *J Bacteriol.* – 2002. – Vol. 184. – P. 564–571.
47. Siefert J.L., Larios-Sanz M., Nakamura L.K., Slepecky R.A., Paul J.H., Moore E.R., Fox G.E., Jurtshuk P. Phylogeny of marine *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico // *Curr Microbiol.* – 2000. – Vol. 41. – P. 84–88.
48. Šimoliūnienė M., Tumėnas D., Kvederavičiūtė K., Meškys R., Šulčius S., Šimoliūnas E. Complete Genome Sequence of *Bacillus cereus* Bacteriophage vB_BceS_KLEB30-3S // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Vol. 9. – P. 1–3.
49. Stewart C.R., Casjens S.R., Cresawn S.G. The genome of *Bacillus subtilis* bacteriophage SPO1 // *J Mol Biol.* – 2009. – Vol. 388. – P. 48–70.
50. Willms M., Hoppert M., Hertel R. Characterization of *Bacillus subtilis* Viruses vB_BsuM-Goe2 and vB_BsuM-Goe3 // *Viruses.* – 2017. – Vol. 9. – P. 146.
51. Xu L., Zhang R., Wang N., Cai L., Tong G., Sun Q., Chen F., Jiao Z. Novel phage-host interactions and evolution as revealed by a cyanomyovirus isolated from an estuarine environment // *Environ Microbiol.* – 2018. – Vol. 20. – P. 2974–2989.
52. Yee M., Matsumoto T., Yano K., Matsuoka S., Sadaie Y., Yoshikawa H., Asai K. The genome of *Bacillus subtilis* phage SP10: a comparative analysis with phage SPO1 // *Biosci Biotechnol Biochem.* – 2011. – Vol. 75. – P. 944–952.



53. Yuan Y., Gao M., Wu D., Liu P., Wu Y. Genome Characteristics of a Novel Phage from *Bacillus thuringiensis* Showing High Similarity with Phage from *Bacillus cereus* // PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7. – P. 143–147.
54. Zhang H., Liu L., He L. Detection and identification of *Bacillus cereus* susceptible to phage AP631 // Chin J Zoonos. – 2016. – Vol. 32. – P. 507–511.
55. Zhao X., Shen M., Jiang X. Transcriptomic and Metabolomics Profiling of Phage-Host Interactions between Phage PaP1 and *Pseudomonas aeruginosa* // Front Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – P. 548–571.
56. Zhonghe X., Yang S., Jeffrey W., Cao Y. Directional mechanical stability of Bacteriophage ϕ 29 motor's 3WJ-pRNA: Extraordinary robustness along portal axis // Science Advances. – 2017. – Vol. 3. – P. 1–8.
57. Zyl J., Nemavhulani S., Cass J., Cowan A., Trindade M. Three novel bacteriophages isolated from the East African Rift Valley soda lakes // Virol J. – 2016. – Vol. 13. – P. 204–228.

REFERENCES

1. Abedon T, Yin J. Bacteriophage plaques: theory and analysis. Methods Mol Biol. 2009; 501: 161–174.
2. Adams MJ, Lefkowitz EJ, King AM. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. Arch Virol. 2016; 161: 2921–2949.
3. Arabi E, Griffiths T, She Y. Genome sequence and analysis of a broad-host range lytic bacteriophage that infects the *Bacillus cereus* group. Virol. J. 2013; 10: 48–59.
4. Asare T, Jeong Y, Ryu S, Klumpp J, Loessner J, Merrill D, Kim P. Putative type 1 thymidylate synthase and dihydrofolate reductase as signature genes of a novel Bastille-like group of phages in the subfamily Spounavirinae. BMC Genomics. 2015; 16: 582–587.
5. Barylski E, Dutilh B, Schuller M, Edwards A. Analysis of Spounaviruses as a Case Study for the Overdue Reclassification of Tailed Phages. Systematic Biology. 2020; 69: 110–123.
6. Barylski J, Kropinski M, Alikhan F, Adriaenssens M. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herelleviridae. J Gen Virol. 2020; 101: 362–363.
7. Barylski J, Nowicki G, Goździcka-Józefiak A. The Discovery of phiAGATE, A Novel Phage Infecting *Bacillus pumilus*, Leads to New Insights into the Phylogeny of the Subfamily Spounavirinae. PLoS One. 2014; 9: 1–14.
8. Begley M, Gahan G, Hill C. The interaction between bacteria and bile. FEMS Microbiol Rev. 2005; 29: 625–651.
9. Brown NL, Stoyanov JV, Kidd SP, Hobman JL. The MerR family of transcriptional regulators. FEMS Microbiol Rev. 2003; 27: 145–163.
10. Burton M, Marquis A, Sullivan L, Rapoport A, Rudner Z. The ATPase SpoIIIE transports DNA across fused septal membranes during sporulation in *Bacillus subtilis*. Cell. 2007; 131: 1301–1312.
11. Casjens S. Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? Mol Microbiol. 2003; 49: 277–300.



12. Chen Y, Guo X, Wu J, Jin M, Zeng R. A novel deep-sea bacteriophage possesses features of Wbeta-like viruses and prophages. *Arch Virol.* 2020; 165: 1219–1223.
13. Danovaro R, Dell'Anno A, Corinaldesi C, Magagnini M, Noble R, Tamburini C, Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature.* 2008; 454: 1084–1087.
14. Feng Z, Xinwu L, Liu W, Yong N. Complete genome sequence of a novel *Bacillus* phage, P59, that infects *Bacillus oceanisediminis*. *Archives of Virology.* 2020; 165: 1–5.
15. Gao B, Huang Y, Ning D. Metabolic Genes within Cyanophage Genomes: Implications for Diversity and Evolution. *Genes (Basel).* 2016; 7: 80–91.
16. Gillis A, Mahillon J. Phages preying on *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*: past, present and future. *Viruses.* 2014; 6: 2623–2672.
17. Han S, Xie G, Challacombe F, Altherr R, Bhotika S, Brown N, Bruce D. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol.* 2006; 188: 3382–3390.
18. Hemphill E, Whiteley R. Bacteriophages of *Bacillus subtilis*. *Bacteriol Rev.* 1975; 39: 257–315.
19. Jean NL, Rutherford TJ, Löwe J. FtsK in motion reveals its mechanism for double-stranded DNA translocation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117: 14202–14208.
20. Ji X, Zhang C, Fang Y, Zhang Q, Lin L, Tang B, Wei Y. Isolation and characterization of glacier VMY22, a novel lytic cold-active bacteriophage of *Bacillus cereus*. *Virol Sin.* 2015; 30: 52–58.
21. Kampf G. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. *J Hosp Infect.* 2018; 98 (4): 331–338.
22. Kazlauskas D, Venclovas C. Computational analysis of DNA replicases in double-stranded DNA viruses: relationship with the genome size. *Nucleic Acids Research.* 2011; 1: 8291–8305.
23. Kimura K, Itoh Y. Characterization of poly-gamma-glutamate hydrolase encoded by a bacteriophage genome: possible role in phage infection of *Bacillus subtilis* encapsulated with poly-gamma-glutamate. *Appl Environ Microbiol.* 2003; 69: 2491–2497.
24. King A, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB. *Virus Taxonomy.* 1st ed. Amsterdam: Elsevier. Press. 2011. 384 p.
25. Klumpp J, Lavigne R, Loessner J, Ackermann W. The SPO1-related bacteriophages. *Arch Virol.* 2010; 155: 1547–1561.
26. Kong L, Ding Y, Wu Q, Wang J, Zhang J, Li H, Yu S, Yu P, Gao T, Zeng H, Yang M, Liang Y, Wang Z, Xie Z, Wang Q. Genome sequencing and characterization of three *Bacillus cereus*-specific phages DK1, DK2 and DK3. *Arch Virol.* 2019; 164: 1927–1929.
27. Kostyk N, Chigbu O, Cochran E, Davis J, Essig J, Do L, Farooque N. Complete Genome Sequences of *Bacillus cereus* Group Phages AaronPhadgers,



- ALPS, Beyonphe, Bubs, KamFam, OmnioDeoPrimus, Phireball, PPIsBest, YungSlug and Zainny. *Microbiol Resour Announc.* 2021; 10: 33.
28. Kunst F, Ogasawara N, Moszer I, Albertini M, Alloni G, Azevedo V, Bertero G, Bessi eres P, Bolotin A. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature.* 1997; 390: 249–256.
29. Lawrence JG, Hatfull GF, Hendrix RW. Imbroglions of viral taxonomy: genetic exchange and failings of phenetic approaches. *J Bacteriol.* 2002;184: 4891–4905.
30. Li C, Yuan X, Li N. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Phage vB_BceP-DLc1 Reveals the Largest Member of the Φ 29-Like Phages. *Microorganisms.* 2020; 8: 1750–1760.
31. Liu B, Wu S, Song Q, Zhang X, Xie L. Two novel bacteriophages of thermophilic bacteria isolated from deep-sea hydrothermal fields. *Curr Microbiol.* 2006; 53: 163–166.
32. Liu X, Wang D, Pan C, Feng E, Fan H, Li M, Zhu L, Tong Y, Wang H. Genome sequence of *Bacillus anthracis* typing phage AP631. *Arch Virol.* 2019; 164: 917–921.
33. Lucchini S, Desiere F, Br ussow H. Comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* phage species supports a modular evolution theory. *J Virol.* 1999; 73: 8647–8656.
34. Meijer J, Horcajadas A, Salas M. Phi29 family of phages. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001; 65: 261–287.
35. Mobberley J, Authement N, Segall M, Edwards A, Slepecky A, Paul H. Lyso-geny and sporulation in *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76: 829–842.
36. Morgado S, Vicente C. Global in-silico scenario of tRNA genes and their organization in virus genomes. *Viruses.* 2019; 11: 180–188.
37. Paul H. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *ISME J.* 2008; 2: 579–589.
38. Porter J, Schuch R, Pelzek J, Buckle M, McGowan S, Wilce C, Rossjohn J, Russell R, Nelson D, Fischetti A, Whisstock C. The 1.6   crystal structure of the catalytic domain of PlyB, a bacteriophage lysin active against *Bacillus anthracis*. *J Mol Biol.* 2007; 366: 540–550.
39. Rodriguez-Valera F, Martin-Cuadrado AB, Rodriguez-Brito B, Pasic L, Thingstad TF, Rohwer F, Mira R. Explaining microbial population genomics through phage predation. *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7: 828–836.
40. Rex A, Etter J, Morris S, Crouse J, McLain R, Johnson A, Stuart CT, Deming W, Thies R, Avery R. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos. *Marine Ecology Progress Series.* 2006; 317: 1–8.
41. Ritz MP, Perl AL, Colquhoun JM, Chamakura KR, Kutty Everett GF. Complete Genome of *Bacillus subtilis* Myophage CampHawk. *Genome Announc.* 2013; 1: 984–997.
42. Rocha EP, Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources. *Trends Genet.* 2002; 18: 291–294.



43. Sayers W, Barrett T, Benson A, Bolton E, Bryant H, Canese K, Chetvernin V, Church M, Dicuccio M, Federhen S, Feolo M. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40: 13–25.
44. Schilling T, Hoppert M, Hertel R. Genomic Analysis of the Recent Viral Isolate vB_BthP-Goe4 Reveals Increased Diversity of ϕ 29-Like Phages. *Viruses.* 2018; 10: 624–638.
45. Schuch R, Fischetti VA. Detailed genomic analysis of the Wbeta and gamma phages infecting *Bacillus anthracis*: implications for evolution of environmental fitness and antibiotic resistance. *J Bacteriol.* 2006; 188: 3037–3051.
46. Shafikhani H, Mandic-Mulec I, Strauch A, Smith I, Leighton T. Postexponential regulation of *sin* operon expression in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 2002; 184: 564–571.
47. Siefert JL, Larios-Sanz M, Nakamura LK, Slepecky RA, Paul JH, Moore ER, Fox GE, Jurtshuk P. Phylogeny of marine *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico. *Curr Microbiol.* 2000; 41: 84–88.
48. Šimoliūnienė M, Tumėnas D, Kvederavičiūtė K, Meškys R, Šulčius S, Šimoliūnas E. Complete Genome Sequence of *Bacillus cereus* Bacteriophage vB_BceS_KLEB30-3S. *Microbiol Resour Announc.* 2020; 9: 1–3.
49. Stewart CR, Casjens SR, Cresawn SG. The genome of *Bacillus subtilis* bacteriophage SPO1. *J Mol Biol.* 2009; 388: 48–70.
50. Willms M, Hoppert M, Hertel R. Characterization of *Bacillus subtilis* Viruses vB_BsuM-Goe2 and vB_BsuM-Goe3. *Viruses.* 2017; 9: 146.
51. Xu L, Zhang R, Wang N, Cai L, Tong G, Sun Q, Chen F, Jiao Z. Novel phage-host interactions and evolution as revealed by a cyanomyovirus isolated from an estuarine environment. *Environ Microbiol.* 2018; 20: 2974–2989.
52. Yee M, Matsumoto T, Yano K, Matsuoka S, Sadaie Y, Yoshikawa H, Asai K. The genome of *Bacillus subtilis* phage SP10: a comparative analysis with phage SPO1. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011; 75: 944–952.
53. Yuan Y, Gao M, Wu D, Liu P, Wu Y. Genome Characteristics of a Novel Phage from *Bacillus thuringiensis* Showing High Similarity with Phage from *Bacillus cereus*. *PLOS ONE.* 2012; 7: 143–147.
54. Zhang H, Liu L, He L. Detection and identification of *Bacillus cereus* susceptible to phage AP631. *Chin J Zoonos.* 2016; 32: 507–511.
55. Zhao X, Shen M, Jiang X. Transcriptomic and Metabolomics Profiling of Phage-Host Interactions between Phage PaP1 and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2017; 8: 548–571.
56. Zhonghe X, Yang S, Jeffrey W, Cao Y. Directional mechanical stability of Bacteriophage ϕ 29 motor's 3WJ-pRNA: Extraordinary robustness along portal axis. *Science Advances.* 2017; 3: 1–8.
57. Zyl J, Nemavhulani S, Cass J, Cowan A, Trindade M. Three novel bacteriophages isolated from the East African Rift Valley soda lakes. *Virol J.* 2016; 13: 204–228.

Стаття надійшла до редакції 13.10.2021 р.

