

Взаимодействие белков-Аргонавтов с тιοфосфатными системами рестрикции-модификации в процессе вирусной инфекции

В.А. Пантелеев*, Б.К. Годнеева*, Д.М. Гельфенбейн, А.В. Кульбачинский**

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

** авторы внесли равный вклад*

*** avkulb@yandex.ru*

Ключевые слова: бактериальный иммунитет; белки-Аргонавты; системы рестрикции-модификации; бактериофаги

Interaction of Argonaute proteins with phosphorothioation restriction-modification systems during phage infection

V.A. Panteleev*, B.K. Godneeva*, D.M. Gelfenbein, A.V. Kulbachinskiy**

Institute of Gene Biology RAS, Moscow, Russia

** equal contribution*

*** avkulb@yandex.ru*

Key words: bacterial immunity; Argonaut proteins; restriction-modification systems; bacteriophages

Бактериальный антифаговый иммунитет обладает сложной организацией и включает разнообразные антифаговые системы. Белки-Аргонавты и тιοфосфатные системы рестрикции модификации (ТСРМ) широко распространены у бактерий и могут взаимодействовать. Аргонавты распознают и расщепляют ДНК-мишень с помощью гидовых олигонуклеотидов, которые продуцируются из чужеродной ДНК. ТСРМ-системы состоят из модуля модификации, который вносит тιοфосфатные группы в ДНК, и модуля рестрикции, который узнает и атакует немодифицированную ДНК. Нами были исследованы взаимодействия Аргонавтов и систем ТСРМ, а также особенности процессинга вирусной ДНК этими системами.

Исследование проводили в клетках *E. coli*, экспрессирующих белок-Аргонавт *Clostridium butyricum* (CbAgo) и ТСРМ-систему Dnd. Для выявления возможного синергизма между системами оценивали устойчивость бактерий к фагам T5, P1 и λ при совместной и отдельной экспрессии CbAgo и Dnd. Был проведен мониторинг кинетики бактериального роста и оценка бляшкообразующей активности. Было выявлено усиление антифаговой защиты против фагов P1 и λ при коэкспрессии обеих систем. Для детекции процессинга фаговой и клеточной ДНК мы выделили и секвенировали Аргонавт-ассоциированные короткие ДНК из инфицированных клеток. Анализ библиотек, полученных с использованием только каталитически неактивного Аргонавта, выявил активный естественный процессинг фаговой ДНК, что соответствует успешной репликации фага. В присутствии активного Аргонавта и ТСРМ-системы наблюдалось снижение покрытия фаговой ДНК и отсутствие пиков на профилях покрытия, что свидетельствует о подавлении вируса. Экспрессия ТСРМ-системы не изменяет профили покрытия хромосомной ДНК. Тιοфосфатные модификации не влияют на процессинг хромосомной ДНК клеточными нуклеазами.

Таким образом, Аргонавты способны изменять защитную активность ТСРМ систем и могут быть использованы для анализа процессинга ДНК этими и другими защитными системами бактерий.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Российского научного фонда 24-44-00107.