

# Полиморфизм генов оперона *capABCD* и генов регуляторных белков биосинтеза капсулы *acrA* и *acrB* у штаммов сибирезвенного микроба

Автор: аспирант, м.н.с. лаборатории микробиологии сибирской язвы **Гончарова Юлия Олеговна**  
Руководитель: в.н.с. лаборатории микробиологии сибирской язвы **Тимофеев Виталий Сергеевич**

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», отдел особо опасных инфекций, лаборатория микробиологии сибирской язвы

**Цель:** исследование аллельного полиморфизма последовательностей генов *capABCD*-оперона (*capA*, *capB*, *capC*, *capD*) и генов *acrA* и *acrB* у 37 штаммов *Bacillus anthracis* из рабочей коллекции лаборатории микробиологии сибирской язвы, имеющих различное географическое происхождение, и описание филогенетического разнообразия выборки.

## Актуальность работы:

*Bacillus anthracis* является возбудителем сибирской язвы и патогенным членом группы *Bacillus cereus sensu lato*, которая включает несколько близкородственных видов. Главное отличие *B. anthracis* от других видов заключается в наличии в составе генома двух плазмид: рХО1 и рХО2, обуславливающих патогенность и специфичность.

Факторами патогенности сибирезвенного микроба являются трехкомпонентный токсин, кодируемый плазмидой рХО1, и капсула. Плазмида рХО2 несет оперон *capABCD*, ответственный за синтез поли- $\gamma$ -D-глутаминовой капсулы *B. anthracis*, а также гены регуляторных белков биосинтеза капсулы *acrA* и *acrB*.

Актуальность исследования полиморфизма генов факторов патогенности обусловлена изучением возможного влияния выявленных мутаций на вирулентность и филогенетического разнообразия возбудителя сибирской язвы.

## Материалы и методы:

В ходе работы осуществляли сборку нуклеотидных последовательностей плазмиды рХО2 исследуемой выборки штаммов на основе данных полногеномного секвенирования на платформе Illumina MiSeq, проведенного в отделе коллекционных культур ФБУН ГНЦ ПМБ. Для сборки использовали программу DNASTAR Lasergene. В качестве референсного генома использовали геном штамма *B. anthracis* Ames Ancestor, в соответствии с которым описывали выявленные мутации и их координаты. Для определения влияния обнаруженных мутаций на аминокислотные последовательности соответствующих белков проводили трансляцию *in silico* полученных нуклеотидных последовательностей. Филогенетическое древо было построено на основе слитых последовательностей исследуемых генов. Множественное выравнивание, трансляцию *in silico* и филогенетический анализ проводили в программе MEGA 7.0.

## Результаты исследования:

У исследуемой выборки в последовательностях генов *capA* и *acrA* выявлено по 1 несинонимичной замене, в гене *capD* – 3 несинонимичных замены, приводящих к аминокислотным заменам. По гену *capC* выявлена одна синонимичная замена. В генах *capB* и *acrB* мутаций не обнаружено. Результаты представлены в таблице 1.

По генам *capA*, *capC* и *acrA* выборка разделена на 2 сиквенс-типа, по гену *capD* – на 3 сиквенс-типа.

В результате филогенетического анализа слитых последовательностей исследуемых генов штаммы были разделены на 6 кластеров (Рисунок 1).

**Таблица 1.** Выявленные мутации и соответствующие аминокислотные замены у штаммов исследуемой выборки.

Ген	Мутация	Аминокислотная замена	Штаммы
<i>capA</i>	1033A→G	186V→L	LP53/5YA, I-364, 157(B-1107), Yamal_2
<i>capC</i>	351A→G	нет	1173, 822/7, 331/214, 1259
<i>capD</i>	12C→G	4I→M	1(14)Stavropol, 555/288, 644/268
	1120T→G	374F→V	157(B-1107)
	1183A→G	395T→A	
<i>acrA</i>	853G→A	285E→K	44, 157(B-1107), LP53/5YA, I-364, Yamal_2

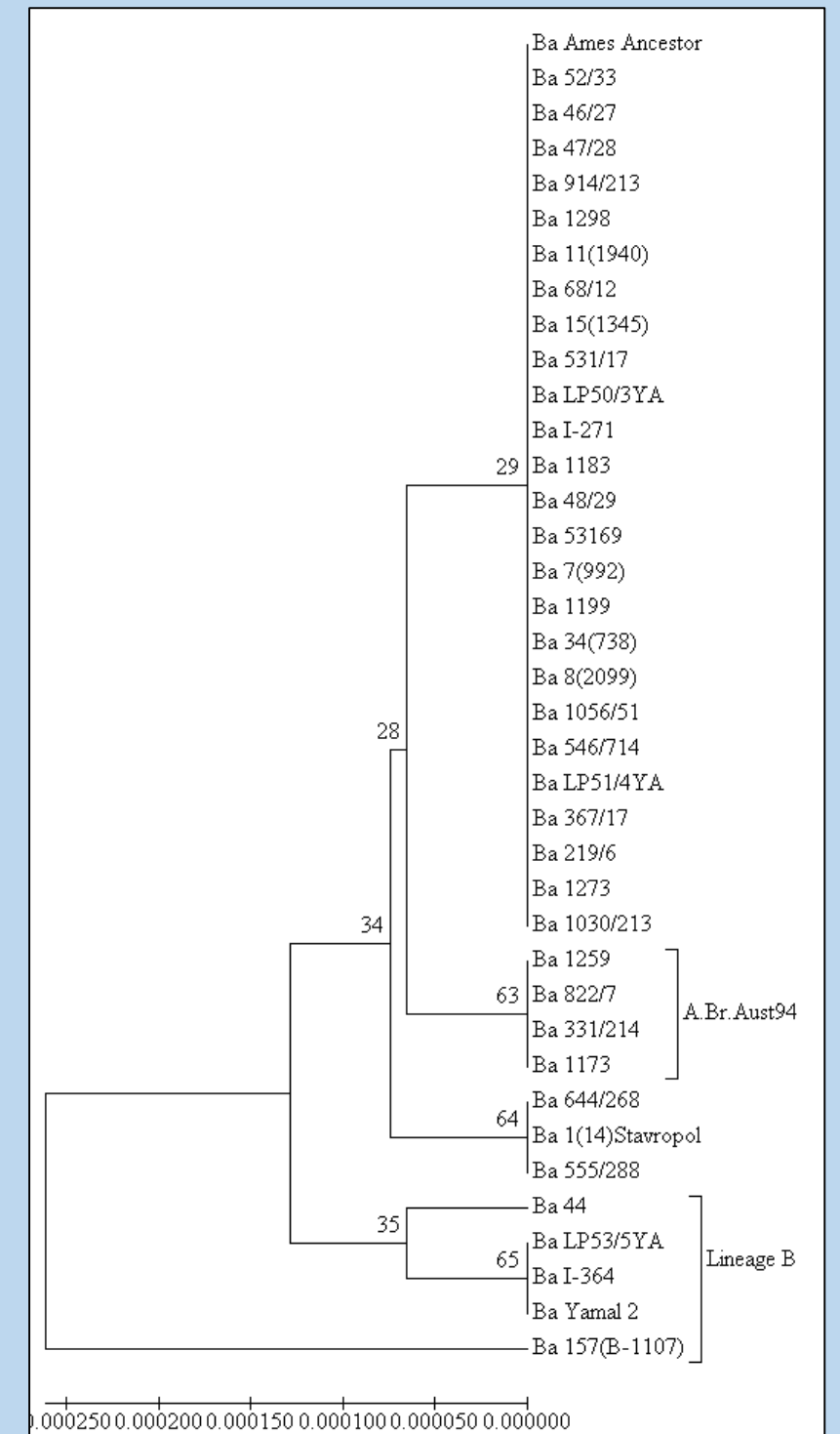
## Заключение

Таким образом, описан аллельный полиморфизм оперона *capABCD* и генов регуляторных белков биосинтеза капсулы *acrA* и *acrB*. Интересно, что по генам *capA*, *acrA* и *capD* нами выявлено схожее филогенетическое разделение выборки (таблица 1).

При этом мы обнаружили SNP *capC* 351A→G, служащую маркером принадлежности штамма к canSNP-группе A.Br.Aust94 и SNP *acrA* 853G→A, указывающую на принадлежность штамма к эволюционной линии В – к canSNP-группам V.Br.001/002 и V.Br.CNEVA.

Мы выражаем благодарность сотрудникам лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ПМБ: Т.Б. Кравченко, И.В. Бахтеевой, Г.М. Титаревой, Р.И. Мироновой, К.В. Хлоповой, В.В. Евсеевой; сотрудникам отдела коллекционных культур ФБУН ГНЦ ПМБ; заведующему отделом особо опасных инфекций ФБУН ГНЦ ПМБ А.Н. Мокриевичу.

Работа выполнена в рамках НИР 074



**Рисунок 1.** Дендрограмма, полученная в результате филогенетического анализа слитых последовательностей генов оперона *capABCD*, *acrA* и *acrB* штаммов исследуемой выборки.