

УДК 577.213

Характеристика генома двух новых фагов *Lactococcus lactis* phage vL_296 и vL_20A

Т. А. Чуксина¹, А. А. Фаткулин¹, Н. П. Сорокина², И. Т. Смыков², Е. В. Кураева²,
Е. С. Масежная², К. А. Смагина², М. Ю. Шкурников^{1*}

¹Высшая школа экономики, факультет биологии и биотехнологии, Москва, 101000 Россия

²ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Москва, 109316 Россия

*E-mail: mshkurnikov@hse.ru

Поступила в редакцию 29.07.2024

Принята к печати 15.09.2024

DOI: 10.32607/actanaturae.27468

РЕФЕРАТ Производство ферментированных молочных продуктов основано на использовании заквасочных культур, которые сквашивают молоко с образованием продукта с определенной текстурой, ароматом и вкусом. Однако используемые в производстве молочнокислые бактерии подвержены инфицированию бактериофагами. Изучали геномы двух бактериофагов, выделенных из подсырной сыворотки при производстве сыров. Определили видовую принадлежность и литический спектр этих бактериофагов. Фаги vL_20A и vL_296, выделенные с использованием индикаторных культур лактококков, обладают уникальными литическими спектрами: только четыре бактерии-хозяина из 21 возможной выявленной у них общие. Геномы vL_20A и vL_296 состоят из линейной ДНК длиной 21909 и 22667 п.н. соответственно. Наиболее похожим на фаги vL_20A и vL_296 оказался *Lactococcus phage bIL67* (ANI 93.3 и 92.6 соответственно). Анализ спейсеров CRISPR в геномах заквасочных культур не выявил среди них специфичных к фагам vL_20A и vL_296. Это исследование подчеркивает биоразнообразие фагов *L. lactis*, а также широкое присутствие фагов на молочных заводах и их вирулентность. Однако вирулентность фагов уравнивается наличием в ряде заквасочных культур значительного количества штаммов бактерий, обладающих благодаря системе CRISPR-Cas различной чувствительностью к фагам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА бактериофаг, CRISPR-Cas, сыроделие, заквасочные культуры, единое здоровье.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ R-M – система рестрикции-модификации; Abi – система абортирования фаговой инфекции.

ВВЕДЕНИЕ

Производство ферментированных молочных продуктов, таких, как сыры и йогурты, основано на использовании заквасочных культур, которые сквашивают молоко, создавая продукт с определенной текстурой, ароматом и вкусом [1]. Однако молочнокислые бактерии, которые используются в производстве, подвержены инфицированию бактериофагами [2]. Молочные предприятия являются специфичной обособленной экологической нишей для бактериофагов молочнокислых бактерий, поскольку лактобактерии всегда присутствуют в сыром молоке и вносятся в пастеризованное молоко в виде бактериальных заквасок [3].

Высокий уровень молочнокислого брожения предотвращает размножение в молоке посторонних и патогенных микроорганизмов, не уничтоженных при пастеризации или попавших в молоко после

пастеризации, а также определяет популяционные характеристики микробиома молочных продуктов за счет повышения кислотности и специфического антагонизма в отношении немолочнокислых бактерий. Развитие бактериофагов может негативно влиять на ферментацию и рост бактериальных культур [1]. Если фаги атакуют заквасочную культуру, то процесс сквашивания может замедлиться или даже остановиться. В результате возникает риск развития патогенной микрофлоры и появления пороков вкуса, аромата и текстуры [4].

В состав заквасок для большого числа кисломолочных продуктов и сыров входят лактококки (*Lactococcus lactis* sps., *L. cremoris*). Поэтому в молочной промышленности широко распространены бактериофаги, лизирующие лактококки. Наиболее уязвимым для фаговых атак является сыроделие. Это обусловлено тем, что при производстве сыров

используется самый мягкий режим пастеризации молока (72–76°C, 20–25 с) и часть популяции бактериофагов, находящихся в сыром молоке, не уничтожается. Кроме того, сыворотка, образующаяся в производстве сыров, практически всегда содержит значительные количества вирионов и служит источником распространения бактериофагов, которые обнаруживаются на различных объектах, в том числе в производственной закваске, на оборудовании, санитарной одежде и открытых частях тела работников [5]. После сообщения о лактококковых бактериофагах в 1930-е годы [6] и дальнейших многочисленных исследований этого явления фаголизис считается одной из постоянных и трудно устранимых проблем с молочнокислым брожением в молочной отрасли.

Для защиты молочнокислых бактерий от бактериофагов используют фагоустойчивые штаммы молочнокислых бактерий и систематически меняют партии заквасок [7]. Это обуславливает целесообразность изучения фагоустойчивости и фаготипа коллекционных культур лактококков. Эффективность отбора фагоустойчивых культур лактококков в значительной степени зависит от набора используемых фагов и спектра их литического действия. Это свидетельствует о необходимости систематического определения фагового фона на предприятиях молочной промышленности. Рассмотрение проблемы бактериофагии интересно также с позиции концепции «Единое здоровье», подразумевающей комплексный единый подход, направленный на устойчивое балансирование и оптимизацию здоровья людей, животных и экосистем, в том числе экосистемы молочных предприятий.

Бактериофаги – это самые распространенные вирусы на Земле. Считается, что большинство свободноживущих бактерий заражено фагами. Об этом свидетельствует присутствие профагов в подавляющем большинстве геномов бактерий [8, 9]. Бактерии выработали множество механизмов защиты от бактериофагов, которые можно назвать «прокариотической иммунной системой» [10]. Эти системы можно разделить на врожденную и адаптивную «прокариотическую иммунную систему» [11]. Классическими примерами врожденного иммунитета являются системы рестрикции-модификации (R-M) [12] или абортирования фаговой инфекции (Abi) [13]. Однако недавно было открыто множество дополнительных врожденных иммунных механизмов, подчеркивающих сильное избирательное давление, оказываемое фагами на микробные сообщества [14, 15].

Единственной «адаптивной» иммунной системой, известной на сегодняшний день, является система CRISPR-Cas. Она позволяет бактериям включать

короткие фрагменты фаговой ДНК в специальные матрицы CRISPR. При встрече с фагом транскрибированные спейсеры связываются с ДНК фага и направляют ее на деградацию с помощью белков Cas [16].

Мы изучали геномы двух новых видов бактериофагов, выделенных при производстве сыров. Определена видовая принадлежность и литический спектр этих фагов, проанализированы возможные механизмы вирулентности и их чувствительность к системе CRISPR-Cas основных заквасочных культур.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выделение и очистка бактериофагов

В работе использовали бактериальные штаммы и бактериофаги из Коллекции молочнокислых бактерий для производства сыров и бактериофагов к ним (ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН).

Бактериофаги были выделены из образцов подсырной сыворотки. Бактериофаг vL_20A выделен из сыворотки, полученной при изготовлении полутвердого сыра на Переславском сыродельном заводе (Ярославская область) 01.06.1985 года, и размножен на чувствительной культуре *L. lactis* subsp. *lactis* 393-8. Бактериофаг vL_296 выделен из сыворотки, полученной при изготовлении полутвердого сыра на Юговском комбинате молочных продуктов (Пермский край) 07.06.2022 года, и размножен на чувствительной культуре *L. lactis* subsp. *lactis* 345-8.

Чувствительную культуру выращивали на среде M17 с лактозой (HiMedia, Индия). Образцы сыворотки фильтровали через стерильный фильтр с размером пор 0.45 мкм.

Бактериофаги выделяли с использованием метода поверхностного посева: на чашки Петри с подсушенной твердой средой M17 (1.5% агара) наносили 0.1 мл культуры *L. lactis* subsp. *lactis* в фазе логарифмического роста, растирали стеклянным шпателем и оставляли на 10–15 мин для впитывания влаги в агар. Затем на чашку наносили каплю отфильтрованной сыворотки, закрывали крышкой и оставляли на 10–15 мин при комнатной температуре. После чего чашки переворачивали и термостатировали в течение 16–18 ч при температуре $30 \pm 1^\circ\text{C}$. При наличии зон лизиса в месте нанесения сыворотки кусочек агара из зоны лизиса помещали в пробирку с 3 мл среды M17, тщательно взбалтывали и выдерживали в течение 24 ч при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ для более полного выхода частиц фага из агара. Затем каплю среды из пробирки наносили

на свежий газон культуры и термостатировали в течение 16–18 ч. Для получения чистого бактериофага выделенные смеси бактериофагов титровали методом двухслойного агара: по 0.1 мл культуры и 0.1 мл десятикратных разведений смеси фагов вносили в пробирки с 3 см³ полужидкого агара M17 (0.6% агара) и выливали суспензию в чашку с плотной средой. Инкубировали в течение 18–24 ч при температуре 30 ± 1°C. Кусочки агара из отдельных негативных колоний (бляшек) использовали для накопления фагов в жидкой среде с чувствительной культурой. Полученные культуры бактериофагов фильтровали через стерильный фильтр с размером пор 0.22 мкм и хранили при температуре 4 ± 2°C.

Определение литического спектра

Спектр литической активности фагов в отношении 35 штаммов *L. lactis* subsp. *lactis*, 35 штаммов *L. cremoris* и 35 штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* определяли методом культивирования на двухслойном агаре в культуральных планшетах [17]. О чувствительности лактококков к бактериофагам судили по наличию или отсутствию зоны просветления в месте нанесения фага.

Электронная микроскопия

Отобранные образцы фагов фиксировали при комнатной температуре 1.5% раствором глutarальдегида в 0.1 М фосфатном буфере Sorenson, pH 7.2, в течение 20 мин. После чего 5 мкл образца переносили на поддерживающую медную сетку (mesh-400), покрытую пленкой нитроцеллюлозы (parlodium), и выдерживали в течение 2 мин для осаждения дисперсных частиц на поверхность пленки. Контрастность образца повышали с помощью негативного контрастирования [18, 19]. Для этого пипеткой переносили каплю (2 мкл) 2% раствора уранилацетата на каплю зафиксированного образца, находящуюся на сетке, и выдерживали в течение 4 мин. После этого излишки раствора убирали с поверхности сетки фильтровальной бумагой и помещали в вакуумную камеру для окончательной сушки при комнатной температуре.

Морфологию бактериофагов изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа EM-410 (Philips, Нидерланды) при напряжении 40 кВ. Изображения получены на пленке Fujicolor C-200 (FUJIFILM Corporation, TOKYO 106-8620, Япония).

Выделение ДНК-фагов и секвенирование

К образцам лизата бактерий добавляли раствор для осаждения (4% PEG-6000, 1 моль/л NaCl). Инкубировали при температуре 4°C в течение 3 ч. После инкубации пробирки центрифугировали в те-

чение 15 мин при 12 000 *g* при 4°C. Супернатант отбирали, а осадок ресуспендировали в 180 мкл PBS. Затем к образцам добавляли 1.25 мкл протеиназы К (20 мг/мл) и инкубировали при 56°C в течение 1.5 ч, избегая встряхивания. ДНК выделяли с помощью набора QiaAmp Viral DNA (Qiagen, ФРГ) по протоколу производителя. Концентрацию и качество ДНК оценивали с использованием Nanodrop и Qubit.

Библиотеки ДНК готовили с помощью NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina® (New England BioLabs, США) согласно протоколу производителя. Секвенирование полученных библиотек осуществляли на секвенаторе NovaSeq 6000 (Illumina, США) в режиме парных прочтений 2 × 150 п.н.

Анализ результатов секвенирования

Качество сырых прочтений оценивали с использованием программы FastQC 0.12.1. Затем прочтения предобрабатывали с помощью fastp 0.23.2. Дополнительно проводили таксономическую классификацию прочтений с использованием стандартной базы данных Kraken 2. Сборку геномов выполняли с использованием SPAdes 4.0.0. Бактериальные геномы получены с применением флага «-- isolate», в то время как для сборки вирусных геномов использовали опцию «--metaviral». Качество сборок оценивали с помощью программы QUAST 5.2.0.

Вирусные геномы затем были валидированы с использованием CheckV 1.0.1. Предварительная таксономическая идентификация фагов выполнена с помощью BLAST. Полные геномы вирусов, относящихся к виду *Lactococcus phage*, получены из базы данных Nucleotide NCBI, после чего ruANI 0.2.12 использовали для оценки средней идентичности нуклеотидов (ANI) методом ANIb. Геномы бактериофагов были переориентированы с помощью dnaapl 0.7.0 и далее аннотированы с использованием PharoKka 1.7.3. clinker 0.0.29 для построения сравнительной визуализации геномов.

При анализе спейсеров CRISPR изучили 562 генома заквасочных культур родов *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Propionibacterium freudenreichii* из базы данных NCBI GenBank [20]. Наличие систем иммунитета в бактериальных геномах определяли с помощью MinCED 0.4.2 и PADLOC 2.0.0.

Размещение данных

Полногеномные последовательности фагов vL_20A и vL_296 размещены в репозитории GenBank под номерами PQ062249 и PQ062250.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выделение и морфологическая характеристика фагов

Фаги vL_20A и vL_296 были выделены из подсырной сыворотки с использованием индикаторных культур лактококков *L. lactis* subsp. *lactis* 393-8 и *L. lactis* subsp. *lactis* 345-8 в качестве бактериальных хозяев. Просвечивающая электронная микроскопия (рис. 1) показала, что фаг vL_20A имеет икосаэдрическую головку диаметром 39 ± 3 нм, хвост длиной 107 ± 6 нм. В свою очередь фаг vL_296 имеет икосаэдрическую головку диаметром 45 ± 4 нм и хвост длиной 125 ± 8 нм. Данная морфология указывает на сходство с каудовиридами (Caudoviricetes). Согласно Международному кодексу классификации и номенклатуры вирусов [21], эти фаги обозначены как *L. lactis* phage vL_20A и *L. lactis* phage vL_296 (Viruses; Duplodnaviria; Heunggongvirae; Uroviricota; Caudoviricetes; Ceduvovirus; Ceduvovirus vL_20A and vL_296).

Литический спектр

Литический спектр фагов определяли в зависимости от наличия или отсутствия образования зоны просветления (рис. 2). Четыре штамма *L. cremoris* были лизированы фагом vL_20A и восемь – vL_296. Литическая активность в отношении *L. cremoris* составила 11,8% (4/34) для vL_20A и 22,9% (8/35) для vL_296. Литическая активность в отношении *L. lactis* subsp. *lactis* составила 5,7% (2/35) и 14,3% (5/35) соответственно. Литическая активность фагов vL_20A и vL_296 в отношении *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* находилась на уровне 5,7% (2/35) и 14,3% (4/28) соответственно. Можно отметить, что фаги vL_20A и vL_296 обладают уникальными литическими спектрами. Из 21 выявленной бактерии-хозяина общими были только четыре (*L. cremoris* T4-39, *L. cremoris* 591-4-7, *L. cremoris* T5-1, *L. lactis* subsp. *lactis* 85-10).

Анализ генома

Полные последовательности геномов vL_20A и vL_296 получены с использованием платформы Illumina NovaSeq 6000. Их геномы состояли из линейной ДНК длиной 21 909 п.н. (GC 35,75%) и 22667 п.н. (GC 35,89%) соответственно. Предсказано 47 открытых рамок считывания (ORF) у vL_20A и 43 ORF у vL_296, из которых 11 были похожи на гены, кодирующие известные функциональные белки (рис. 3), в то время как остальные ORF кодируют предполагаемые белки.

По функциональной активности все предсказанные белки были разделены на четыре группы

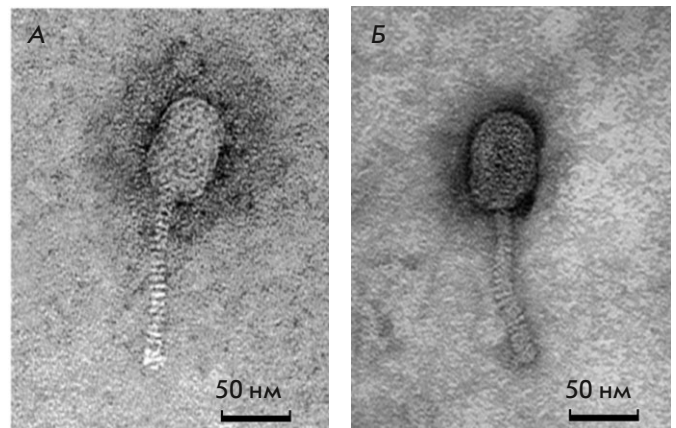


Рис. 1. Микрофотографии фагов *L. lactis* phage vL_20A (А) и *L. lactis* phage vL_296 (Б)

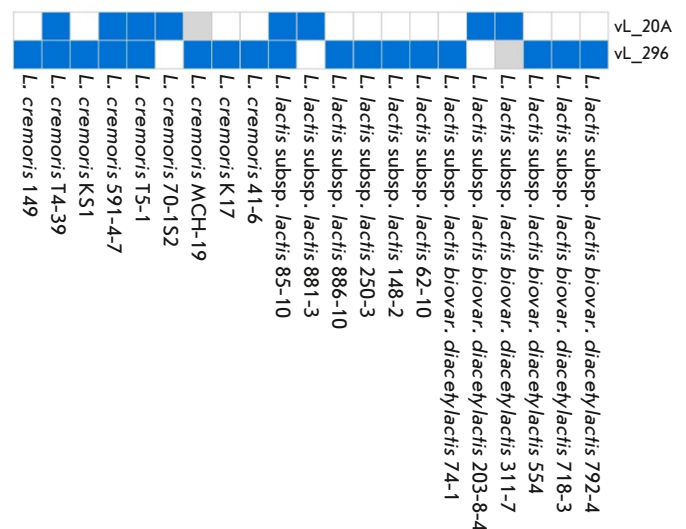


Рис. 2. Литический спектр фагов vL_20A и vL_296. Синий – наличие негативных колоний, белый – отсутствие негативных колоний, серый – не анализировали

(рис. 3): белки метаболизма ДНК (по две ORF), белки упаковки и формирования головки (по пять ORF), белки лизиса (по две ORF) и белки хвоста (по две ORF). Остальные ORF предположительно кодируют белки с неизвестной функцией. Поиск в базах данных VFDB и CARD не выявил генов вирулентности или устойчивости к антибиотикам.

Сравнительный анализ генома

Основным критерием при определении вида вируса была идентичность последовательности генома менее чем на 95% с остальными представителями рода [21]. Чтобы определить геномное сходство vL_20A и vL_296 с другими фагами, сначала про-

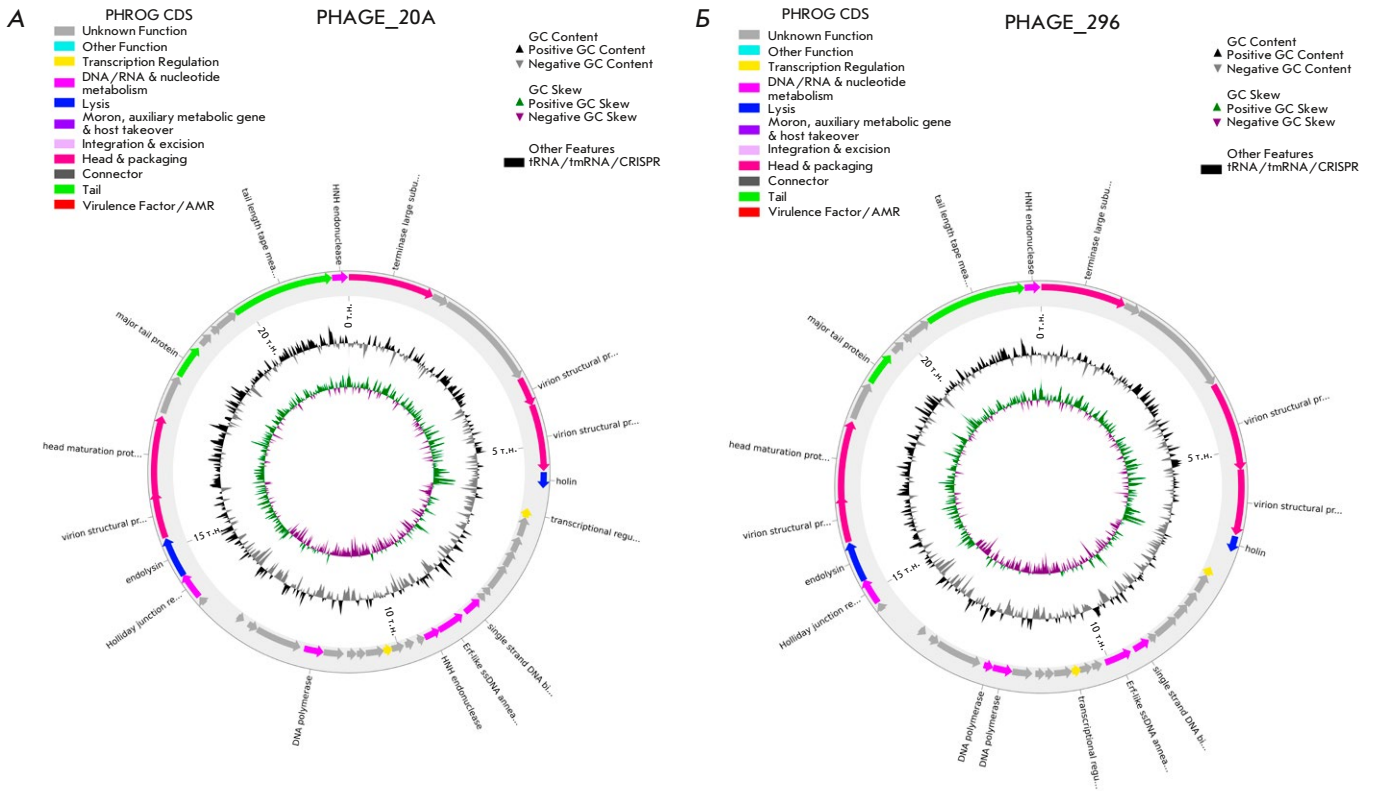


Рис. 3. Визуализация известных функциональных белков, кодируемых в геноме фагов *L. lactis* phage vL_20A (A) и *L. lactis* phage vL_296 (B)

вели BLASTn-поиск в NCBI. Геномы вирусов семейства *L. phage* получили из базы данных Nucleotide NCBI и оценили среднюю идентичность нуклеотидов (ANI).

На рис. 4 представлены результаты оценки ANI геномов 10 наиболее генетически близких фагов из 254 проанализированных. Наиболее сходным с фагами vL_20A и vL_296 был *L. phage* bIL67 (ANI 93.3 и 92.6 соответственно). Необходимо отметить, что значение ANI при сравнении vL_20A и vL_296 было меньше, чем для вида *L. phage* bIL67 и составляет 92.5 (рис. 5). Можно предположить, что vL_20A и vL_296 являются представителями отдельных видов, не описанных ранее.

ANI между двумя фагами составляет лишь 92.5. Сравнение геномов vL_20A и vL_296 выявило большое количество полиморфизмов в главном белке хвоста (major tail protein), который участвует в связывании фага с клеткой-хозяином (рис. 6). Кроме того, различия в нуклеотидной последовательности фагов предположительно могут отразиться на эффективности механизмов защиты бактериальной клетки, направленных на деградацию генома вируса.

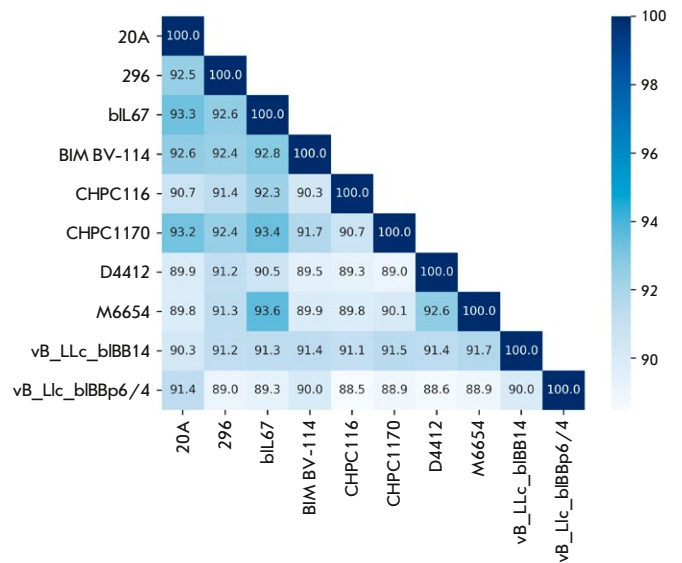


Рис. 4. Тепловая диаграмма ANI *L. lactis* phage vL_20A и *L. lactis* phage vL_296 и восьми наиболее гомологичных фагов *L. lactis*

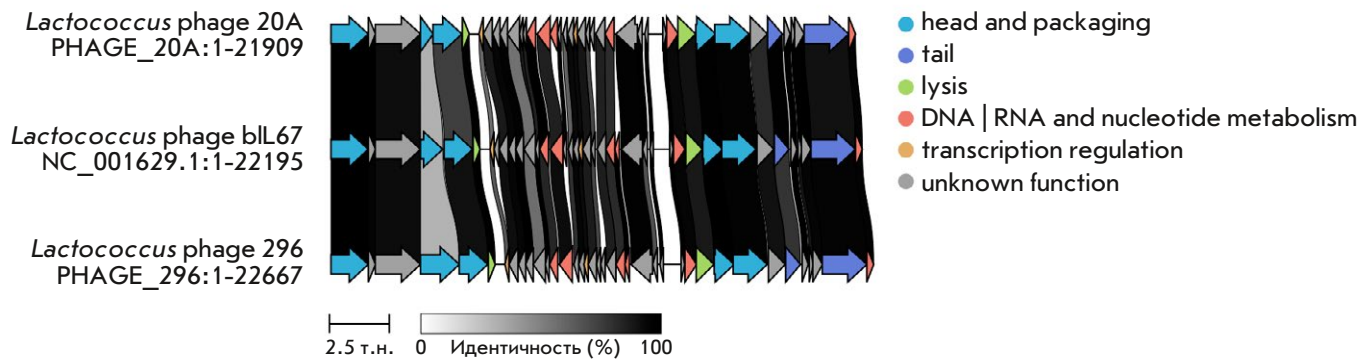


Рис. 5. Схема строения и гомологии геномов фагов *L. phage blL67*, *L. lactis phage vL_20A* и *L. lactis phage vL_296*

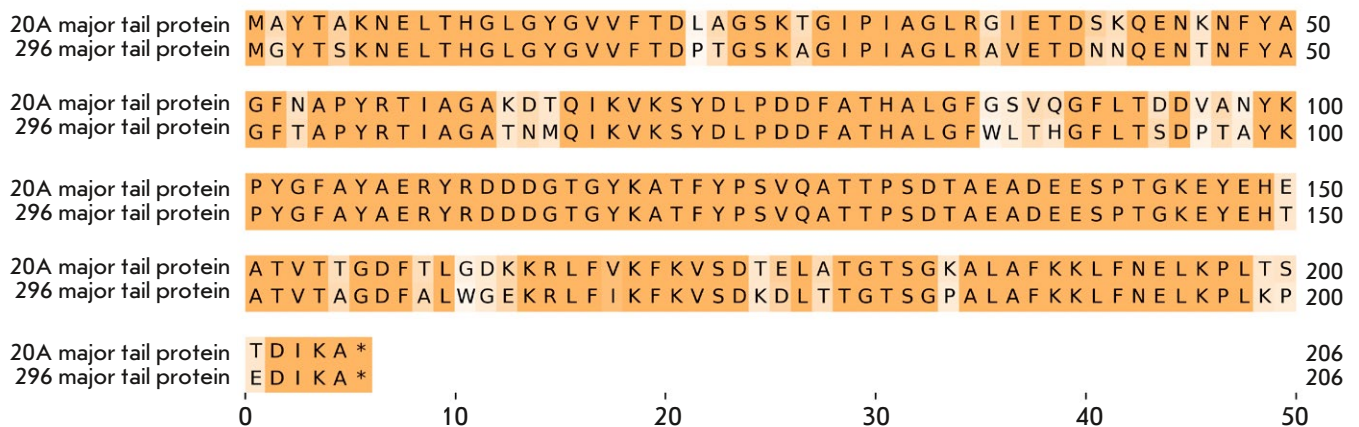


Рис. 6. Выравнивание аминокислотных последовательностей главного белка хвоста в геномах vL_20A и vL_296

Анализ CRISPR-спейсеров молочнокислых бактерий

Бактерии обладают средствами защиты от чужеродных захватчиков, включая широко распространенную систему CRISPR-Cas. Спейсеры CRISPR участвуют в адаптивном иммунитете, обеспечивая комплементарное связывание РНК с нуклеиновыми кислотами чужеродных элементов и последующее разрушение их белками Cas. Эту систему содержит подавляющее большинство заквасочных культур бактерий (рис. 7).

Мы проанализировали наличие спейсеров, специфичных к фагам vL_20A и vL_296, в геномах заквасочных культур. Среди 562 проанализированных геномов заквасочных бактерий не удалось выявить ни одного спейсера, специфичного к фагам vL_20A и vL_296. Можно предположить, что выявленные нами новые виды фагов не контактировали длительное время с проанализированными заквасочными культурами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Фаговые атаки на кислотообразующую микрофлору сыров чрезвычайно опасны с точки зрения безопасности продукции, поскольку представляют угрозу интенсивного развития остаточной постпастеризационной микрофлоры. Для снижения риска выпуска недоброкачественной и опасной для здоровья потребителей продукции большое значение имеет ограничение репродукции бактериофагов путем использования многоштаммовых заквасок, их систематической ротации и включением в состав заквасочной микрофлоры фагорезистентных культур.

Подбор фагорезистентных штаммов, входящих в состав заквасок, требует изучения разнообразия и свойств фагов, способных заражать заквасочные культуры. В частности, описанные нами фаги были выделены из подсырной сыворотки с интервалом в 37 лет и вызывали проблемы ферментации сыра. Это свидетельствует о том, что фаги и чувствительные к ним штаммы бактерий сохраняются

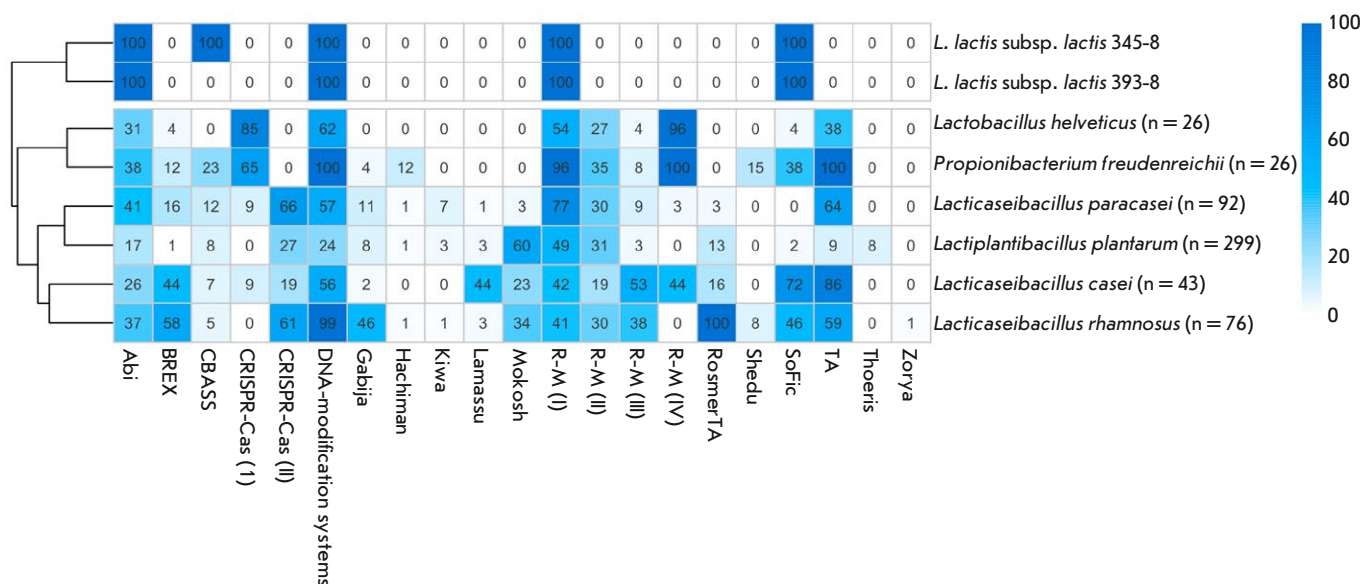


Рис. 7. Системы иммунитета молочнокислых бактерий. В ячейках указана частота встречаемости механизма иммунитета у представителей заквасочных культур. В названии рода указано число проанализированных геномов

в заквасочных культурах как показано ранее [22]. Учитывая, что уровень сходства ANI у вновь выделенных фагов был значительно ниже 95, можно предположить, что нами впервые описаны два новых вида фагов.

Наиболее генетически близким к этим фагам является вид *L. phage* biL67 [23]. Нами установлено, что геномы новых фагов *L. lactis* phage vL_20A и *L. lactis* phage vL_296 представляют собой линейную ДНК длиной 21 909 и 22 667 п.н. соответственно. В геномах vL_20A и vL_296 можно выделить 47 и 43 ORF, из которых 11 похожи на гены белков с известной функциональной активностью.

Литический спектр фагов довольно узкий и практически не перекрывается. Можно выделить только четыре общих штамма бактерий-хозяев: *L. cremoris* T4-39, *L. cremoris* 591-4-7, *L. cremoris* T5-1 и *L. lactis* subsp. *lactis* 85-10. Эти данные отличаются от результатов, полученных Stuer-Lauridsen и соавт., где большинство изученных фагов *L. lactis* были способны лизировать 10–90% штаммов [24]. Это можно объяснить различиями в источниках молочных продуктов, из которых были выделены фаги.

В CRISPR-кассетах заквасочных бактерий не удалось выявить ни одного спейсера, специфичного для фагов vL_20A и vL_296. Можно предположить, что выявленные нами новые виды фагов не контактировали длительное время с проанализированными заквасочными культурами. Тем не менее в геномах многих культур обнаружены системы

CRISPR/Cas типа 1 и 2, что позволяет ожидать формирование у них иммунитета при встрече с данными фагами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В текущих условиях мировой обстановки необходимо переходить к устойчивым, инклюзивным и независимым от внешних факторов агропродовольственным системам. Этого можно достичь, рассматривая пищевую систему как непрерывную и взаимосвязанную цепочку, в которой отслеживаются и контролируются риски на каждом этапе: от выращивания сырья до производства продукции, от состояния производственной среды до качества и безопасности готового продукта. В этой цепочке «фаговое здоровье производства» можно рассматривать как основную причину нарушений устойчивости при производстве кисломолочных продуктов.

Это исследование подчеркивает биоразнообразие фагов *L. lactis*, выделенных из подсырной сыворотки. Оно также подтвердило, что фаги широко распространены на молочных заводах и их вирулентность. Однако присутствие в заквасках штаммов бактерий с различной степенью чувствительности к фагам уравнивает эту опасность за счет систем бактериального иммунитета.

Высокий уровень устойчивости заквасочных штаммов к фаговой инфекции может препятствовать массовому размножению фагов в многокомпонентных заквасочных культурах и объяснять то,

почему фаги обнаруживаются в ферментированных молочных продуктах без проблем с подкислением. Однако иногда одновременное присутствие различных фагов, активных против большей части штаммов в пределах одной заквасочной культуры, может привести к получению дефектного продукта [7]. Необходимы дополнительные исследования для лучшего понимания экологической роли фагов и оценки их влияния на процесс ферментации. Обилие бактериофагов на молочных предприятиях,

инфицирующих закваски, еще раз подчеркивает важность разработки стратегий борьбы с фагами в молочной промышленности. ●

*Исследование выполнено за счет гранта
Министерства науки и высшего образования
Российской Федерации на проведение крупных
научных проектов по приоритетным
направлениям научно-технологического развития
(проект № 075-15-2024-483).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- White K., Eraclio G., McDonnell B., Bottacini F., Lugli G.A., Ventura M., Volontè F., Dal Bello F., Mahony J., van Sinderen D. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2024. V. 90. № 3. P. e02152–23.
- Lahbib-Mansais Y., Mata M., Ritzenthaler P. // *Biochimie.* 1988. V. 70. № 3. P. 429–435.
- Kelleher P., Mahony J., Schweinlin K., Neve H., Franz C.M., van Sinderen D. // *International Journal of Food Microbiology.* 2018. V. 272. P. 29–40.
- White K., Yu J.-H., Eraclio G., Bello F.D., Nauta A., Mahony J., van Sinderen D. // *MRR.* 2022. <https://www.oaepublish.com/articles/mrr.2021.04>.
- Eller M.R., Dias R.S., De Moraes C.A., De Carvalho A.F., Oliveira L.L., Silva E. a. M., da Silva C.C., De Paula S.O. // *Arch Virol.* 2012. V. 157. № 12. P. 2265–2272.
- Whitehead H.R., Cox G.A. // *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 1935. V. 16. P. 319–320.
- Mahony J., McDonnell B., Casey E., van Sinderen D. // *Annu Rev. Food Sci. Technol.* 2016. V. 7. P. 267–285.
- Roux S., Hallam S.J., Woyke T., Sullivan M.B. // *eLife.* 2015. V. 4. P. e08490.
- Touchon M., Bernheim A., Rocha E.P.C. // *The ISME Journal.* 2016. V. 10. № 11. P. 2744–2754.
- Bernheim A., Sorek R. // *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. V. 18. № 2. P. 113–119.
- Dimitriu T., Szczelkun M.D., Westra E.R. // *Current Biology.* 2020. V. 30. № 19. P. R1189–R1202.
- Vasu K., Nagaraja V. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2013. V. 77. № 1. P. 53–72.
- Labrie S.J., Moineau S. // *J. Bacteriol.* 2007. V. 189. № 4. P. 1482–1487.
- Doron S., Melamed S., Ofir G., Leavitt A., Lopatina A., Keren M., Amitai G., Sorek R. // *Science.* 2018. V. 359. № 6379. P. eaar4120.
- Kronheim S., Daniel-Ivad M., Duan Z., Hwang S., Wong A.I., Mantel I., Nodwell J.R., Maxwell K.L. // *Nature.* 2018. V. 564. № 7735. P. 283–286.
- Koonin E.V., Makarova K.S. // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2019. V. 374. № 1772. P. 20180087.
- Kutter E. In: *Bacteriophages* / Eds Clokie M.R.J., Kropinski A.M. Totowa, NJ. Humana Press, 2009. P. 141–149.
- Miller S.E. // *J. Elec. Microsc. Tech.* 1986. V. 4. № 3. P. 265–301.
- Wyffels J.T. // *Microsc. Microanal.* 2001. V. 7. № 1. P. 66.
- Sayers E.W., Beck J., Bolton E.E., Bourexis D., Brister J.R., Canese K., Comeau D.C., Funk K., Kim S., Klimke W., et al. // *Nucleic Acids Research.* 2021. V. 49. № D1. P. D10–D17.
- Adriaenssens E., Brister J.R. // *Viruses.* 2017. V. 9. № 4. P. 70.
- Zago M., Scaltriti E., Rossetti L., Guffanti A., Armiento A., Fornasari M.E., Grolli S., Carminati D., Brini E., Pavan P., et al. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79. № 15. P. 4712–4718.
- Schouler C., Ehrlich S.D., Chopin M.-C. // *Microbiology.* 1994. V. 140. № 11. P. 3061–3069.
- Stuer-Lauridsen B., Janzen T., Schnabl J., Johansen E. // *Virology.* 2003. V. 309. № 1. P. 10–17.