

УДК 577.21

РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ БАКТЕРИОФАГОВ – МОДИФИКАЦИЯ МОДЕЛЬНЫХ ФАГОВ T7, T5 И T3 ПРИ ПОМОЩИ РЕКОМБИНИРОВАНИЯ И SpCas9 СЕЛЕКЦИИ[#]

© 2022 г. А. Исаев^{a, *}, А. Андриянов^a, Е. Знобищева^b, Е. Зорин^a,
Н. Морозова^b, К. Северинов^{a, b, c, **}

^a Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Москва, 143028 Россия

^b Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251 Россия

^c Waksman Institute of Microbiology, Piscataway, NJ 08854 USA

*e-mail: tcft18@gmail.com

**e-mail: severik@waksman.rutgers.edu

Поступила в редакцию 01.04.2022 г.

После доработки 22.05.2022 г.

Принята к публикации 22.05.2022 г.

Бактериофаги – вирусы, инфицирующие бактериальные клетки, – самые распространенные биологические объекты на Земле. Использование фагов в фундаментальных исследованиях и индустрии требует методов, позволяющих проводить редактирование их геномов. По сравнению с генетической инженерией бактерий, модификацию геномов фагов значительно затрудняет недостаток маркеров селекции и необходимость трудозатратной ручной проверки рекомбинантных/мутировавших вариантов. Развитие технологий CRISPR-Cas позволило решить эту проблему за счет использования принципа негативной селекции, т.е. подавления размножения фагов с родительским вариантом генома. В данной статье мы опишем методы, используемые для редактирования геномов фагов, а также их варианты, сопряженные с использованием технологий CRISPR-Cas. Мы также приводим собственные результаты применения данных технологий, позволивших внести точечные мутации, делеции и инсерции в геномы модельных фагов *Escherichia coli* T7, T5 и T3.

Ключевые слова: бактериофаг, CRISPR-Cas, редактирование генома, рекомбинирование, фаговая терапия, гомологичная рекомбинация, “перезагрузка” фага, T7, T5, T3

DOI: 10.31857/S002689842206009X

Editing of Phage Genomes – Recombineering-Assisted SpCas9 Modification of Model Coliphages T7, T5, and T3

A. Isaev^{1, *}, A. Andriianov¹, E. Znobishcheva², E. Zorin¹, N. Morozova², and K. Severinov^{1, 2, 3, **}

¹ Skolkovo Institute of Science and Technology, Skolkovo, Moscow, 143028 Russia

² Peter the Great St Petersburg State Polytechnic University, Saint Petersburg, 195251 Russia

³ Waksman Institute of Microbiology, Piscataway, NJ 08854 USA

*e-mail: tcft18@gmail.com

**e-mail: severik@waksman.rutgers.edu

Bacteriophages – viruses that infect bacterial cells – are the most abundant biological entities on Earth. The use of phages in fundamental research and industry requires tools for precise manipulation of their genomes. Yet, compared to bacterial genome engineering, modification of phage genomes is challenging because of the lack of selective markers and thus requires laborious screenings of recombinant/mutated phage variants. The development of the CRISPR-Cas technologies allowed to solve this issue by the implementation of negative selection that eliminates the parental phage genomes. In this manuscript, we summarize current methods of phage genome engineering and their coupling with CRISPR-Cas technologies. We also provide examples of our successful application of these methods for introduction of specific insertions, deletions, and point mutations in the genomes of model *Escherichia coli* lytic phages T7, T5, and T3.

Keywords: bacteriophage, CRISPR-Cas, genome editing, recombineering, phage therapy, homologous recombination, phage rebooting, T7, T5, T3

[#] Статья представлена авторами на английском языке.