

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д03680, Украина

## ПОЛИПЕПТИДНЫЙ СОСТАВ И КИЛЛЕРНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ КАК ПОКАЗАТЕЛИ МНОЖЕСТВЕННОСТИ КАРOTOBOРИЦИНОВ

Предложен способ разделения и очистки макромолекулярных бактериоцинов фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora*. На основе полипептидного состава частиц и их киллерной специфичности показано, что *E. carotovora* ESP86 представляет собой сложную дефектно-полилизогенную систему, которая включает не менее трех различных типов биологически активных хвостовых отростков (каротоворицинов) неполных умеренных бактериофагов.

**Ключевые слова:** *Erwinia carotovora*, макромолекулярные бактериоцины, полипептиды, киллерная специфичность, дефектно-полилизогенная система.

Известно лишь несколько видов энтеробактерий, бактериоцины которых представляют собой такие производные вириона как хвостовые отростки [14,15], тогда как преобладающее большинство этих бактерий спонтанно и при SOS-индукции образуют простые пептидные бактериоцины типа колицинов [7].

У фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora* были обнаружены два типа бактериоцинов, образующие большие и малые зоны ингибирования чувствительных клеток [2,5]. Первые исследования свойств макромолекулярного бактериоцина Ег *E. carotovora* показали, что морфология его частиц близка к таковой хвостовых отростков бактериофагов семейства *Myoviridae*; их линейные размеры составляют около 18,5x160 нм [9]. Длина макромолекулярных бактериоцинов, полученных из клеток продуцента L-аспарагиназы *E. carotovora* 268 находилась в пределах 140–440 нм, однако диаметр как нормальных, так и аберрантных структур типа фаговых хвостовых отростков был одинаковым и достигал 20 нм [4]. При лизогенной индукции клетки многих штаммов этой бактерии синтезируют фаговые отростки длиной 128–192 нм, несколько типов головок диаметром 18, 56, 70 и 95 нм и структуры типа базальных пластинок шириной от 39 до 53 нм. Во всех случаях компоненты вириона не собираются в полноценные инфекционные частицы [3]. Эти результаты позволяют предположить, что штаммы фитопатогенных пектолитических эрвиний персистируют как сложные дефектно-полилизогенные системы. В свою очередь дефектная лизогения бактерий *E. carotovora* сопряжена с бактериоциногенностью, носителями которой выступают макромолекулярные каротоворицины типа фаговых хвостовых отростков [2,3].

Не исключено, что в природе дефектные умеренные вирусы распространены наравне с полноценными. Они, как правило, являются продуктами соответствующих дефектных профагов, или, так называемых «профаговых остатков», которые широко встречаются в составе бактериальных хромосом [6]. Однако, до сих пор, механизмы формирования множественных профагов у бактерий и их экологическая роль остаются неизвестными. В связи с указанными проблемами представленная работа посвящена определению множественности каротоворицинов типа фаговых хвостовых отростков на основе простых показателей – полипептидного состава частиц и их киллерной специфичности.

**Материалы и методы.** В работе использовали фитопатогенную бактерию *E. carotovora* 78-3 (лабораторный номер этого штамма в коллекции отдела молекулярной генетики бактериофагов ИМВ НАН Украины – ESP86), предоставленную авторам профессором А.Н. Евтушенковым (кафедра молекулярной биологии БГУ, г. Минск).

Для получения каротоворицинов бактерии выращивали в жидкой питательной среде № 1, при температуре 27 °С до насыщения – 4x10<sup>9</sup> клеток/мл. Затем их разводили в 20 раз в свежей среде, выращивали при интенсивной аэрации еще в течение 3 часов и вносили митомицин С до конечной концентрации 1 мкг/мл [2]. Индуцированные лизаты обрабатывали хлороформом и центрифугировали при 5000g, 10 мин. Концентрацию бактериоцинов выражали в пятнообразующих единицах на мл (ПОЕ/мл), а киллерную активность (A<sub>к</sub>) – в единицах летальной дозы, (LD<sup>37%</sup>), что соответствует e<sup>-1</sup> [11]. При сравнительном изучении действия разных МСТV на индикаторные штаммы, использовали единицы удельной киллерной активности (A<sub>ен</sub>), учитывая концентрацию очищенных частиц каротоворицинов по белку.

© Ф.И. Товкач, Л.А. Максименко, 2010

Для тестирования и определения киллерной активности бактериоцинов применяли метод двухслойного агар. При этом нижний слой состоял из 1,2 % агара LB, а верхний – мягкий агар (0,5 %), на который наносили по 5 мкл исследуемого МСТV, – содержал индикаторные клетки. Для выявления бактериоцинов в качестве индикаторных штаммов использовали *E. carotovora* subsp. *carotovora* 66A (Есс66А), а также *Escherichia coli* K12 (ЕсоCR63) и В (ЕсоВЕ). После высыхания пятен чашки переворачивали и инкубировали при 27 °С. Результаты опытов учитывали через 18–24 час.

Концентрирование и очистку бактериоцинов проводили методом «осветления лизатов» [1] с помощью двухразового дифференциального ультрацентрифугирования на центрифуге Beckman (ротор SW-28), при 24000 об/мин в течение 120 мин. Далее их разделяли на ионообменной колонке размером 8x200мм с DEAE–Тоуорearle. Частицы сохраняли в буфере ST (10мМ NaCl, 50мМ трис–HCl, pH 7,5). Дополнительную очистку частиц бактериоцинов проводили гель-фильтрацией на колонках таких же размеров с сефарозой 2В или Тоуорearle HW65. Полипептидный состав высокоочищенных частиц МСТV определяли по [10]. В качестве маркеров использовали смесь белков фирмы Pharmacia: фосфолипаза – 94 кДа, сывороточный альбумин – 67 кДа, овальбумин – 43 кДа, карбоник-ангидраза – 30 кДа, химотрипсिनоген – 25 кДа, трипсин-ингибитор – 20,1 кДа, лактальбумин – 14,4 кДа и цитохром С – 12,3 кДа.

Спектры поглощения частиц каротоворицинов исследовали с помощью спектрофотометра Beckman DU-8.

### Результаты и их обсуждение

Множественность лизогении, в том числе и дефектной, является одним из малоизученных явлений микробного мира. В настоящее время этот феномен интенсивно исследуется на уровне структурной организации профагов, которые широко распространены в составе бактериальных хромосом [6]. При этом особенности функционирования и реальная роль профаговых элементов в экологии бактерии-хозяина остаются во многом неясными. Фитопатогенная бактерия *E. carotovora* является подходящим объектом для исследования дефектной полилизогении, так как ее неполные профаги экспрессируют отдельные компоненты вириона [3].

Для доказательства множественности дефектной лизогении у *E. carotovora*, мы провели исследования суммарных препаратов макромолекулярных каротоворицинов, полученных лизогенной индукцией клеток, случайно выбранного штамма ESP86, митомидином С. Определение киллерной активности показало, что индуцированные лизаты клеток содержат высокоактивные макромолекулярные каротоворицины (МСТV), которые способны убивать около 67 % штаммов *E. carotovora*, а также лабораторные штаммы *E. coli* групп K12 и В. Разделение концентрированных частиц МСТV на DEAE–Тоуорearle привело к получению трех высокоактивных фракций (I, II и III), которые элюировались с колонки 40, 120 и 300 мМ NaCl соответственно. По данным спектрофотометрии количественное соотношение фракций I, II и III составляло 60, 12 и 28 %, или приблизительно 5:1:2. УФ-спектры для фракций I и III характеризовались наличием нечетких пиков в районе 266–273 нм. Материал, который находился во II фракции не образовывал пика, а давал изгиб при тех же длинах волн (рис. 1).

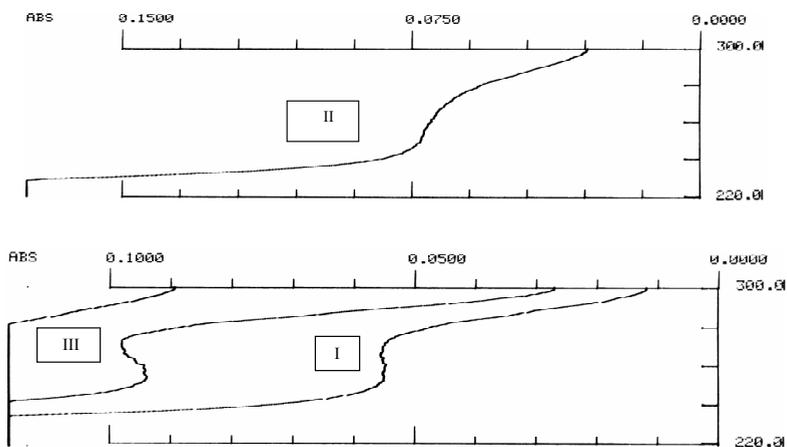
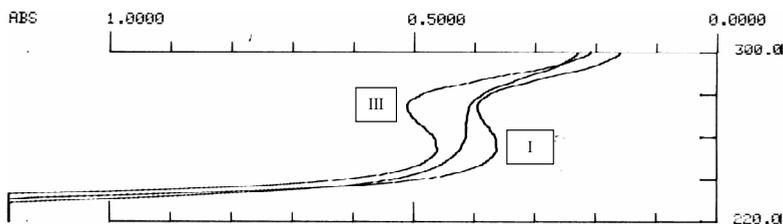


Рис. 1. Спектры поглощения фракций I, II и III МСТV *E. carotovora* ESP86 в диапазоне 220–300 нм.

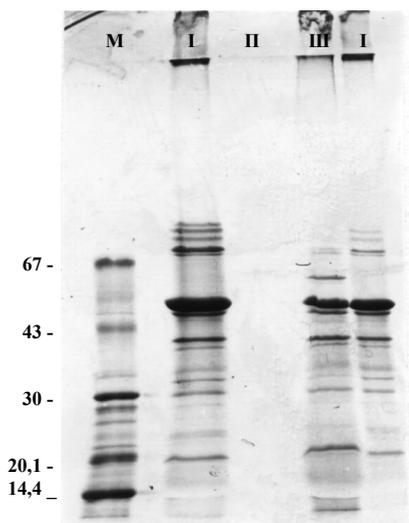
Для более надежной очистки МСТV каждую из трех фракций дополнительно центрифугировали как описано выше, а осадки растворяли в деионизированной воде. Поглощение растворов повторно измеряли в диапазоне длин волн 220–300 нм. После дополнительной очистки фракции I и III содержали исключительно белковые продукты, которые имели одинаковые УФ-спектры с максимумом поглощения при 275,8 нм (рис. 2). DEAE – фракцию II МСТV ESP86 не удалось дочистить этим способом, т.к. осадки после центрифугирования имели слабую растворимость. Таким образом, предложенная схема очистки и одновременной идентификации частиц, в отличие от двухступенчатого ультрацентрифугирования и последующей гель-фильтрации на колонке с сефарозой 2В, позволила обнаружить МСТV трех типов с различным средством к DEAE – носителю.



**Рис. 2.** Спектры поглощения фракций I и III МСТV ESP86 после дополнительной очистки; по центру – фракция II.

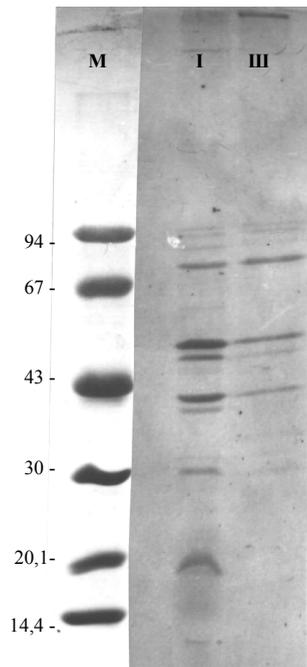
С учетом результатов (рис. 2), можно считать, что фракции I, II и III являются «минимальными киллерными структурами», так как они не содержат ощутимых количеств нуклеиновых кислот и обладают максимальной лизисной активностью по отношению к бактериям-индикаторам (см. далее). Эти фракции соответствуют индивидуальным каротоворицинам типа фаговых хвостовых отростков, которые мы обозначили через аббревиатуру TLCA (tail-like carotovoricin) – TLCA 86-1, TLCA 86-2 и TLCA 86-3.

Для определения разницы между указанными каротоворицинами устанавливали их полипептидный состав, используя градиентную систему SDS –ПААГ (8–20 %) [10]. На рис. 3. представлена электрофореграмма полипептидов фракций I, II и III МСТV ESP86, полученных после очистки на колонке с DEAE–Toyopearl. Во фракции II не удалось выявить иных полипептидов кроме одного, представленного слабо различимой полосой, которая соответствует структурному полипептиду с молекулярной массой (м.м.) 74,2 кДа. В отличие от этого, макромолекулярные частицы фракций I и III имели в своем составе около 17 полос (рис. 3, табл. 1). По характеру распределения молекулярных масс и по их относительному содержанию подавляющее количество этих полипептидов совпадает в обеих фракциях. Однако во фракции I не выявляются два полипептида а и б (58,2 и 57,5 кДа), а фракция III не содержит низкомолекулярных полипептидов с и д с м.м. 22,4 и 21,7 кДа соответственно.



**Рис. 3.** Электрофореграмма белков после хроматографического разделения частиц МСТV ESP86 (см. текст). М – маркерные белки, слева – значения молекулярной массы в кД; I, II, III – обозначение хроматографических фракций.

Из электрофореграммы, представленной на рис. 4, видно, что дополнительная очистка частиц каротоворицинов скоростным центрифугированием приводит не только к удалению нуклеиновых кислот, но и позволяет избавиться от контаминантных белков. Эти белки, которые, вероятно, не входят в состав TLCA, могут иметь клеточное происхождение и удерживаться макромолекулярными частицами даже на стадии очистки методом ионообменной хроматографии. В табл. 2 приведены значения молекулярных масс полипептидов TLCA 86-1 и TLCA 86-3, входящих в состав минимальной структуры MCTV ESP86. Как и в предыдущем случае, некоторые полипептидные полосы закономерно отсутствуют в высокоочищенных фракциях I и III (ср $\alpha$ , ср $\beta$ , ср $\gamma$ , ср $\delta$  и ср $\epsilon$ ; здесь и в табл. 2 «ср» означает *carotovoricin's protein*), тогда как другие полосы полностью совпадают по подвижности и по величине относительной интенсивности.



**Рис. 4. Электрофореграмма белков «минимальных» частиц TLCA 86-1 (I) и TLCA 86-3 (III). Слева – значения молекулярных масс маркерных белков (M).**

По нашему мнению, биологически активный материал обеих фракций MCTV штамма ESP 86 содержит не менее 12 полипептидов, три из которых – мажорные, а остальные 9 либо минорные, либо занимают некоторое промежуточное положение. Как было показано ранее [3, 12], сократимые отростки дефектных фагов эрвиний имеют достаточно сложный белковый состав, так как они могут включать такие разнообразные и, в свою очередь, сложные компоненты как базальная пластинка, хвостовые фибриллы, стержень, футляр, коннекторная часть стержня, остатки портальной вершины капсида и др. Не исключено также, что некоторые контаминантные белки, особенно низкомолекулярные, не учтены в данном исследовании, но они не столь важны на этом этапе работы. Из табл. 2 и рис. 4 видно, что обе фракции суммарного каротоворицина содержат три совпадающие мажорных полипептида с м.м. 72,4, 55,0 и 40,3 кДа. Они, вероятно, входят в состав чехла, стержня и сложной базальной пластинки. Скорее всего структурным белком чехла MCTV-частиц обоих видов является таковой с м.м. 55 кДа. Пока еще трудно предположить с какими компонентами хвостового отростка соотносятся остальные мажорные белки ср $\delta$  и ср $\epsilon$ , и, тем более, белки промежуточного и минорного характера. Японские исследователи определили белковый состав отдельных частиц одного из каротоворицинов и его составляющих компонентов [12]. С футляром, стержнем и хвостовыми фибриллами они соотнесли белки с молекулярной массой 50, 20 и 68 кДа соответственно. Сравнивая наши результаты с указанными данными, можно сделать вывод об их удовлетворительном соответствии. Исходя из этого можно допустить, что высокомо-

лекулярный полипептид ср4 (72,4 кДа) с высокой степенью вероятности претендует на роль основного белка в составе базальной пластинки, возможно, хвостовых фибрилл, TLCA 86-1 и TLCA 86-3 штамма ESP86.

Т а б л и ц а 1

**Значения молекулярных масс белков бактериоцинов MCTV 8/6 – I и MCTV 8/6 – III**

MCTV 8/6 - I		MCTV 8/6 – III	
№ полосы	м.м.	№ полосы	м.м.
1	85,1	1	85,1
2	80,4	2	80,4
3	76,3	3	76,3
4	72,4	4	72,4
5	69,2	5	69,2
-	-	a	58,2
-	-	b	57,5
6	55,0	6	55,0
7	46,2	7	46,2
8	44,7	8	44,7
9	40,3	9	40,3
10	37,6	10	37,6
11	32,4	11	32,4
12	30,2	12	30,2
13	29,0	13	29,0
14	25,7	14	25,7
c	22,4	-	-
d	21,7	-	-
15	18,4	15	18,4

Примечание. “-” – белок не выявлен. м.м. – молекулярная масса в кД.

Т а б л и ц а 2

**Состав белков высокоочищенных каротоворицинов TLCA 86-1 и TLCA 86-3**

Название белка	TLCA 86-1		TLCA 86-3	
	м.м.	Характеристика	м.м.	Характеристика
ср1	87,1	минорный	87,1	минорный
ср2	85,1	- « -	85,1	- « -
ср3	79,4	- « -	79,4	- « -
ср4	72,4	мажорный	72,4	мажорный
ср5	67,6	минорный	67,4	минорный
срa	-	-	60,3	минорный
ср6	55,0	мажорный	55,0	мажорный
ср7	47,9	промежуточный	47,9	промежуточный
срβ	46,2	минорный	-	-
ср8	45,2	минорный	45,2	минорный
ср9	40,3	мажорный	40,3	мажорный
ср10	38,0	промежуточный	38,0	промежуточный
срγ	32,0	минорный	-	-
срδ	-	-	30,9	минорный
ср11	29,0	промежуточный	29,0	промежуточный
срε	21,4	минорный	-	-
ср12	18,4	промежуточный	18,4	промежуточный

Примечание. Греческими буквами α, β, γ, δ и ε обозначены белковые полосы, которые не совпадают по молекулярной массе.

Таким образом, на основании изучения структурных белков фракций I, II и III MCTV ESP 78-3 и с учетом отличий их хроматографических параметров, можно сделать вывод о том, что эти фракции содержат разные каротоворицины. Этот вывод подтвердился при определении киллерной активности отдельных фракций.

Данные, представленные в табл. 3, указывают на то, что каротоворицины всех трех типов, полученные при лизогенной индукции *E. carotovora* ESP 86, отличаются не только величиной значений  $A_e$  и  $A_{en}$ , но и киллерной специфичностью. Так, каротоворицин TLCA 86-2 убивает только клетки индикаторной культуры *E. carotovora subsp. carotovora* 66A. Его удельная киллерная активность на этом штамме в десятки раз меньше, чем таковая TLCA 86-1 и TLCA 86-3. Не вызывает сомнения, что этот бактериоцин представляет собой MCTV, так как двукратное высокоскоростное центрифугирование, перед и после разделения частиц на ионообменнике не приводит к его потере. Возможно, что он представляет собой нестабильный хвостовой отросток дефектного эрвиниофага и поэтому не обнаруживается в системе SDS – ПААГ в виде набора отдельных полипептидов. С другой стороны, нельзя исключить, что этот MCTV представляет собой макромолекулярный комплекс, состоящий из идентичных мономерных субъединиц, аналогичный таковому, обнаруженному недавно у *Staphylococcus aureus* [8].

Разница между макромолекулярными каротоворицинами TLCA 86-1 и TLCA 86-3, которые способны убивать не только *E. carotovora*, но и *E. coli* K12 (EcoCR63) и В (EcoBE), состоит в незначительном отличии их киллерной активности, проявляемых в отношении всех трех индикаторных штаммов (табл. 3). Эти MCTV более эффективно убивают Eсс66А, чем штаммы *E. coli*. При увеличении температуры до 37 °С их киллерная эффективность в случае эшерихий значительно возрастает. Не удивительно, что активность двух вышеуказанных каротоворицинов относительно *E. carotovora* почти на порядок превышает таковую по отношению к *E. coli*. С другой стороны, каротоворицин TLCA 86-2 можно рассматривать как такой, что имеет родовую специфичность и нормально лизирует лишь индикаторный штамм Eсс 66А.

Т а б л и ц а 3

**Киллерная активность трех видов TLCA *Erwinia* sp. 78-3 на разных индикаторных штаммах**

Название MCTV	Температура (°С)	Киллерная активность : индикатор					
		ECO BE		ECO CR63		ECA 66A	
		$A_e$	$A_{en}$	$A_e$	$A_{en}$	$A_e$	$A_{en}$
TLCA 86-1	27	694	1826	561	1474	4422	11637
	37	759	1998	1166	3071	-	-
TLCA 86-2	27	-	-	+	+	41	537
TLCA 86-3	27	344	1906	363	2017	5291	29600
	37	500	2775	740	4107	-	-

**Примечание.** ECO – обозначение штаммов *E.coli*. “-“ – не выявлено. “+” – наличие непрозрачных пятен лизиса.

Эти данные, наряду с полипептидным составом частиц указывают на близкое родство частиц TLCA 86-1 и TLCA 86-3, которые, вероятно, отличаются друг от друга только строением прикрепительного аппарата – базальной пластинки и хвостовых фибрилл, отвечающих за формирование круга чувствительных бактерий-хозяев. Это предположение подтверждается литературными данными относительно гена инвертазы и Ein – элемента в составе дефектного профага, который определяет синтез каротоворицина Eg [13,16]. Показано, что круг чувствительных бактерий к киллерному действию Eg определяется именно за счет функционирования системы инвертаза – Ein, следствием которого является изменение дистальной части хвостовых фибрилл.

Таким образом, приведенные результаты являются прямым биохимическим и биологическим доказательством множественности каротоворицинов и в полной мере подтверждают электронномикроскопические результаты [3] о природном существовании *E. carotovora* в качестве сложной дефектно-полилизогенной системы.

## **ПОЛІПЕПТИДНИЙ СКЛАД І КІЛЕРНА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ЯК ПОКАЗНИКИ МНОЖИННОСТІ КАРОТОВОРІЦІНІВ**

### **Резюме**

Запропоновано спосіб розділення і очистки макромолекулярних бактеріоцинів фітопатогенної бактерії *Erwinia carotovora*. На основі поліпептидного складу часток та їх кілерної специфічності показано, що *E. carotovora* ESP86 є складною дефектно-полілізогенною системою, яка включає не менше трьох різних типів біологічно активних хвостових відростків (каротоворіцинів) неповних помірних бактеріофагів.

**Ключові слова:** *Erwinia carotovora*, макромолекулярні бактеріоцини, поліпептиди, кілерна специфічність, дефектно-полілізогенна система.

### **F.I. Tovkach, L.A. Maksimenko**

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## **POLYPEPTIDE COMPOSITION AND KILLER SPECIFICITY AS INDICES OF MULTIPLICITY OF CAROTOVORICINS**

### **S u m m a r y**

A method of separation and purification of macromolecular bacteriocins of phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora* is proposed. It is shown on the basis of polypeptide composition of the particles and their killer specificity, that *E. carotovora* ESP86 is a complex defective-polylysogenic system which includes no less than three different types of biologically active tails of incomplete temperate bacteriophages.

The paper is presented in Russian.

**Key words:** *Erwinia carotovora*, macromolecular bacteriocins, polypeptides, killer specificity, defective-polylysogenic system.

**The authors address:** Tovkach F.I., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv MSP, D03680, Ukraine.

1. Девис Р., Ботстайн Д., Рот Дж. Генетика бактерий. – М.: Мир, 1984. – 176 с.
2. Товкач Ф.И. Биологические свойства и классификация бактериоцинов *Erwinia carotovora* // Микробиология. – 1998. – **67**, № 6. – С. 767–774.
3. Товкач Ф.И. Дефектная лизогения *Erwinia carotovora* // Микробиология. – 2002. – **71**, № 3. – С. 359–367.
4. Товкач Ф.И., Григорян Ю.А., Рубан В.И., Кушко Я.Г. Полилизогения *Erwinia carotovora* 268 R // Микробиол. журн. – 1984. – **46**, № 3. – С. 71–78.
5. Campbell P., Echandi E. Bacteriocin production in *Erwinia carotovora* // Phytopathology. – 1979. – **69**. – P. 529.
6. Sanchaya C., Proux C., Fournous G. et al. Prophage Genomics // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2003. – **67**, N 2. – P. 238–276.
7. Cascales E., Buchanan S. K., Duche D., et al. Colicin Biology // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2007. – **71**, N 1. – P. 158–229.
8. Iqbal A., Ali S.A., Abbasi A., Volter W., Rasool S.A. Production, purification and some properties of Bac201, a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Staphylococcus aureus* AB201 // J. Basic Microbiol. – 2001. – **41**, N 1. – P. 25–36.
9. Itoh Y., Izaki K., Takahashi H. Purification and characterization of a bacteriocin from *Erwinia carotovora* // J. Gen. Appl. Microbiol. – 1978. – **26**, N 1. – P. 27–39.
10. Laemmli U.K., Favre M. Maturation of the head of bacteriophage T4 // J. Mol. Biol. – 1973. – **80**, N 4. – P. 575–599.
11. Maeda A., Nomura M. Interaction of colicins with bacterial cells. I. Studies with radioactive colicins // J. Bacteriol. – 1966. – **91**, N 2. – P. 685–694.
12. Nguyen A.H., Tomita T., Hirota M., Sato T., Kamio Y. A simple purification method and morphology and

- component analyses for carotovoricin Er, a phage-tail-like bacteriocin from the plant pathogen *Erwinia carotovora*// Biosci. Biotechnol. Biochem. – 1999. – **63**, N 10. – P. 1360–1369.
13. *Nguyen H.A., Tomita T., Hirota M. et al.* DNA inversion in the tail fiber gene alters the host range specificity of carotovoricin Er, a phage-tail-like bacteriocin of phytopathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Er // J. Bacteriol. – 2001. – **183**, N 21. – P. 6274–6281.
14. *Strauch E., Kaspar H., Schaudinn C. et al.* Characterization of enterocolitacin, a phage tail-like bacteriocin, and its effect on pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – **67**, N. 12. – P. 5634–5642.
15. *Thaler J.-O., Baghdiguian S., Boemare N.* Purification and characterization of xenorhabdycin, a phage tail-like bacteriocin, from the lysogenic strain F1 of *Xenorhabdus nematophilus* // Appl. Environ. Microbiol. – 1995. – **61**, N 5. – P. 2049–2052.
16. *Yamada K., Hirota M., Niimi Y. et al.* Nucleotide sequences and organization of the genes for carotovoricins (Ctv) from *Erwinia carotovora* indicate that Ctv evolved from the same ancestor as *Salmonella typhi* prophage// Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2006. – **70**, N 9. – P. 2236–2247.

Отримано 13.03.2009