

Сокрытый в тени: бактериофаг T5 и его SSB-белок

Евменов Константин Сергеевич

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: kevmenov@mail.ru

Изучение механизмов, лежащих в основе жизненного цикла бактериофагов, имеет высокий прикладной потенциал в современной биологии. Например, белки репликации бактериофагов широко используются в области молекулярной биологии. Кроме того, простота получения и очистки таких рекомбинантных белков позволяет снизить затраты на получение конечного продукта в сравнении с аналогичными ферментами из эукариотических организмов.

Ранее был описан белок бактериофага T5, имеющий высокий уровень гомологии с эукариотическим ко-активатором транскрипции PC4, что может указывать на его участие в репликативном цикле бактериофага [1,2]. Однако в данных работах не было проведено никаких исследований функциональной активности обнаруженного белка, тем не менее авторы предположили, что он может выступать в роли SSB-белка. Для того чтобы подтвердить или опровергнуть эту гипотезу нами были получены конструкции, кодирующие этот белок, а так же SSB-белок бактериофага T4. SSB-белок бактериофага T4, он же gp32, хорошо изучен и охарактеризован еще в конце XX века, а его препараты сейчас коммерчески широко доступны. Это позволяет использовать его как контрольный белок с заранее известными функциями.

После экспрессии и очистки данных белков нами было изучено их взаимодействие с оцДНК и оцРНК, а также дцДНК. Оказалось, что белок, описанный ранее как SSB-белок фага T5, не связывается ни с ДНК, ни с РНК. Также этот белок не проявлял хеликазной активности. Однако проведенный анализ влияния на температуру плавления коротких ДНК-дуплексов показал, что оба исследованных белка способны на 1-3 градуса снижать температуру плавления дцДНК. Это указывает на способность исследуемых белков дестабилизировать двуцепочечную ДНК. Мы предполагаем, что в репликативном цикле бактериофага T5 этот белок повышает доступность цепей ДНК для других ферментов. Более того, белок фага T5, вероятно в виду собственного малого размера, оказался более термостабильным и был способен дестабилизировать дцДНК при более высоких температурах.

Проведенное исследование позволило пролить свет на функциональную активность “SSB-белка” бактериофага T5, однако предстоит определить его точную роль в цикле фаговой репликации.

Источники и литература

- 1) Steigemann, Birthe et al. “Bacteriophage T5 encodes a homolog of the eukaryotic transcription coactivator PC4 implicated in recombination-dependent DNA replication.” *Journal of molecular biology* vol. 425,22 (2013): 4125-33. doi:10.1016/j.jmb.2013.09.001
- 2) Werten, Sebastiaan. “Identification of the ssDNA-binding protein of bacteriophage T5: Implications for T5 replication.” *Bacteriophage* vol. 3,4 (2013): e27304. doi:10.4161/bact.27304