



ინტერდისციპლინური ბიოფიზიკის სამაგისტრო პროგრამა

მაგისტრანტი

დვალა ცოგნე

სამაგისტრო ნაშრომი

ბაქტერიოფაგთა აწყობისა და გენომის ექექციის მექანიზმები, კონდენსირებული გენომის სტრუქტურის ანალიზი და ორ ჯაჭვიანი დნმ-ის მოდელები ფაგებში.

ხელმძღვანელი - პროფესორი თ. მძინარაშვილი

თბილისი

2020

Abstract

Bacteriophages, phages (Greek $\phi\acute{\alpha}\gamma\omicron\varsigma$ - 'absorption') are virus selectively destroying bacterial cells. Their influence on Ecosystem and evolution is immense. Around 4000 bacteriophages are studied in relation with ~ 100 bacterias.

In this work, studied bacteriophages are from: *Myoviridae*, *Siphoviridae* and *Podoviridae* families, with different specificities. From using available experimental data, I analysed every step of bacteriophage life cycle: assembly, packaging and ejection / infection. Assembly is a very complex process, similar to ejection and incorporation of phage DNA in the bacterial genome. I found significant correlation between ejection background processes and expression patterns. During packaging capsid is expanding (12-25% / increasing volume by ~50%) which is connected to inter-strand spacing (standard / outer of 2.8-2.5 nm).

Goal of this work is to present multiple suggested models and analysis of processes involved in the assembly, packaging and infection. From multiple sources and available experimental data bases, decision was made to focus on few very important bacteriophages - T4, SPP1, P22, T7 (T-even(s)), λ , ϕ 29, HK97 ...etc.), their importance is consequence of shared traits and characteristics with related and unrelated phages of same and different groups, super families and even types (eukaryotic viruses). Majority of analysed phages are tailed and double stranded, but even in those frames, diversity, differences between associated individuals are significant. There are few very important questions about dimensions, limitations, involved forces of the capsid. According to few experiments and simulation results on DNA (ds) packaging module, was established a general models of condensation, symmetry and mechanism of working element (motor complex), but because mismatches and simplifications of involved components, mainly water, counterions, DNA helices (their sections with different or changed properties in different conditions and environment) and internal proteins (including capsomer i.surfaces), in contrast with new advances create new questions. Important aspect of this work is partial deconstruction of mechanisms controlling the system and fluidity, range of mutations and alterations in those processes and what they produce.

Analysis from energetical and structural standpoint allowed me to suggest a few schemes of processing and interaction models, involved in every captured step of bacteriophage 'life cycle', including effects of repulsive and attractive interactions of ds DNA in different local conditions, with and without environmental modification.

აბსტრაქტი

ბაქტერიოფაგები, ფაგები (ბერძ. φάγις — „შთანთქმა“) ვირუსები, რომლებიც შერჩევით ანადგურებენ ბაქტერიულ უჯრედებს. ფაგები ვირუსების ყველაზე მრავალრიცხოვანი ჯგუფია. დღეისათვის შესწავლილია 100-მდე ბაქტერიული გვარის მიმართ სპეციფიკური 4000-მდე ბაქტერიოფაგის იმოლაგია.

ნაშრომში განხილული ბაქტერიოფაგები მიეკუთვნებიან *Myoviridae*, *Siphoviridae* და *Podoviridae* ოჯახებს, რომლებიც განსხვავებული სპეციფიურობით გამოირჩევიან.

ნამუშევარში განხილულია ბაქტერიოფაგთა სიცოცხლის ციკლის ყველა ძირითადი ეტაპი - ფაგის აწყობა, გენომის შეფუთვა და მისი ექვეცნია. ცილური კაპსიდის აწყობა ბაქტერიულ უჯრედში საკმაოდ რთული პროცესია, ისევე როგორც ფაგური გენომის ექვეცნია ბაქტერიულ უჯრედში. ჩატარებული კვლევისას აღმოჩენილი იქნა მეტად საინტერესო კორელაცია, რომელიც გაკავშირებულია გენომის ექვეცნიის თანმხლებ პროცესებთან, რომლებიც ბაქტერიულ უჯრედში ვითარდება. მიღებული შედეგის თანახმად ადგილი აქვს ფაგის მოცულობის გაზრდას, რაც ხდება ფაგური გენომის კაპსიდში გადასვლისას, მისი მოცულობა ~50%-ით იზრდება. ეს გამოწვეული უნდა იყოს ღნმ-ის ჯაჭვებს შორის განსხვავებული მანძილის არსებობით, რაც დაკავშირებულია ღნმ-ის ჯაჭვების განსხვავებულ/ შეცვლილ დაშორებებთან, პორტალ პროტეინის არეში და გარე შრეებს შრეებში, სადაც საშუალო დაშორება 2.5 -2.8 ნმ-ს არ სცდება.

კვლევის ძირითადი მონაცემები : T4, SPP1, P22, T7 (λ , ϕ 29, HK97) ბაქტერიოფაგებისაა, შესწავლილია მათ შორის განსხვავებები და მსგავსებები, მაგალითად: SPP1 და P22 -ის მოუმწიფებელი კაპსიდის შემავსებელი, გენომის შეფუთვის პარალელურად ფაგის კაპსიდის კარკასის პროტეინის გადასვლის პროცესმა, მომცა საშუალება გამეანალიზებინა გენომის სტანდარტული 500 მგ/მლ სიმკვრივიდან გადახრები, რამაც შესაძლებლობა მომცა შემეფასებინა T4-ის ~ 1000 შიდა პროტეინიდან რამოდენიმეს, შესაძლო განაწილება (პორტალ პროტეინის გარშემო) და დანიშნულება. კერძოდ კაპსიდში შემავალი პროტეინების გაშლილი ფორმით გადასვლა პორტალ პროტეინში.

ნაშრომში მოყვანილი ჰიპოთეზა მოიცავს ფაგური ორჯაჭვიანი ღნმ-ის შეფუთვის და მის პარალელურად მიმდინარე პროცესებს. ნაჩვენებია, რომ კაპსიდის სტაბილობა და მისი სიმყარე გარე ფაქტორების მიმართ იზრდება, მას შემდეგ რაც მოხდება გენომის შეფუთვა. ღნმ-ის ჯაჭვებს შორის მანძილის ცვლილების პარალელურად იცვლება შეფუთვის ძალაც, ~125 პიკონიუტონამდე, და ღნმ-ის შეფუთვის ენერგიის სიდიდე 2.5 ბაზისური წყვილი(ბწ)/აგფ. შესაბამისად, გამოვიგანე დასკვნა, რომ გენომის გარეგანი შრეების დაშორების ფარდობითი სიდიდე მაღალ დაუთრგუნავ რეპულსიურ, განზიდვის ძალასთან არის კავშირში ($\sim 3 \text{ kT/ბწ}$ განზიდვა |ენერგია $\sim 100 \text{ კალ/მოლი (ბწ)}$ | იცვლება სხვადასხვა დამთრგუნავი იონების მოქმედებისას |ფაგი λ -ს შემთხვევისას $P_a^2 = 6.2 \times 10^7 \text{ ერგი /სმ}^3$ ურთიერთქმედების სიდიდე ზედაპირებს შორის | ენერგიის მინიმუმით აღნიშნულ 2.8 ნმ-ზე) ხოლო პორტალ პროტეინის მახლობლად, ღნმ-ის ჯაჭვებს შორის დაშორების შემცირება განზიდვის ძალით არის განპირობებული, რაც თავისთავად ემთხვევა ექვეცნისას მიმდინარე პროცესებს. შეფუთვისას წარმოიქმნება შიდა წნევის ძალა, ანუ ამით ენერგია აკუმულირდება, ინახება სისტემაში. ხოლო ექვეცნიისას, ფაგის კუდის სტრუქტურის ცვლილებასთან ერთად პორტალ პროტეინის მდგომარეობაც იცვლება, რაც ჩემს მიერ შემოწმებული მონაცემებიდან, გენომის ერთერთი ბოლოს გადასვლით იწყება პორტალ პროტეინის არხში, საწყისი მანძილებით $\sim 8 \text{ ნმ}$).

