

УДК 578.323

БАКТЕРИОФАГ Т4 КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СРЕДСТВ

Краснобаева А.В.¹, Краузе Ю.Г.¹, Лытаев В.И.¹

¹ФГБОУ ВолгГМУ Минздрава Российской Федерации – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Россия, Волгоград, e-mail: itsmearinak@gmail.com

Бактериофаг Т4 является уникальной и информативной модельной системой для изучения молекулярно-генетических механизмов, происходящих в организме человека. Биология фага Т4 и его геномная последовательность позволяет изучать посттранскрипционный контроль для изучения РНК-зависимых процессов, избыточность систем репликации ДНК и рекомбинации, лизис, дубликации генов и мембранную локализацию белков. Также фаг Т4 может выступать в качестве модели для изучения механизмов противоопухолевых средств, ингибирующих деятельность ДНК-топоизомеразы II типа, поскольку топоизомераза, кодируемая бактериофагом Т4, напоминает фермент млекопитающих.

Ключевые слова: бактериофаг Т4, модельный объект, генетика, молекулярная биология, структура вирусов, противоопухолевые средства.

BACTERIOPHAGE T4 AS A MODEL OBJECT FOR THE STUDY OF ANTITUMOR AGENTS

Krasnobaeva A.V.¹, Krause Y.G.¹, Lytaev V.I.¹

¹FGBOU VolgSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Volgograd State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, the direction of training "Biology", Russia, Volgograd.

Bacteriophage T4 is a unique and informative model system for studying molecular genetic mechanisms occurring in the human body. The biology of the T4 phage and its genomic sequence allows us to study post-transcriptional control to study RNA-dependent processes, redundancy of DNA replication and recombination systems, lysis, gene duplication and membrane localization of proteins. Also, phage T4 can act as a model for studying the mechanisms of antitumor agents that inhibit the activity of DNA-topoisomerase type II, since the topoisomerase encoded by bacteriophage T4 resembles a mammalian enzyme.

Keywords: bacteriophage T4, model object, genetics, molecular biology, virus structure, antitumor agents.

Бактериофаг Т4 представляет собой двуцепочечный ДНК-содержащий вирус, который способен заражать *Escherichia coli*. Такие особенности реализации геномной информации, как зависимость от РНК-полимеразы клетки хозяина и ее модификация белками фага, посттранскрипционный контроль, избыточность систем репликации и рекомбинации делают вирус основной модельной системой в современной генетике и молекулярной биологии

начиная с 1940-х годов и позволяют изучать эволюцию генома, адаптацию к новым хозяевам и условиям роста, РНК-зависимые процессы, лизис, дубликации генов и мембранную локализацию белков [6].

Бактериофаг Т4 является одним из самых сложно устроенных вирусов, его геном содержит 289 открытых рамок считывания, которые кодируют более 50 структурных белков. Вирион вируса построен из более чем 2000 субъединиц, состоит из капсида и сократимого хвоста, на дистальном конце которого находится базальная пластинка с присоединенными длинными и короткими фибриллами [1]. Капсид фага Т4 представляет собой удлиненный икосаэдр длиной 120 нм и шириной 86 нм, построенный из трех основных белков: *gp23* – отвечает за образование гексагональной решетки капсида, *gp24* – образует пентамерные вершины капсида и *gp20* – образует уникальную вершину, состоящую из 12 субъединиц, через которую ДНК входит во время упаковки и выходит во время заражения клетки [5,8]. Сборка капсида, хвоста и длинных фибрилл осуществляется независимо друг от друга с последующим их объединением в зрелый вирион [1].

Длина упаковки ДНК пропорциональна объему капсида и осуществляется с помощью трех белков: *gp20* – портал для выхода и входа ДНК, *gp17* – двигатель, осуществляет транслокацию ДНК в предварительно собранный капсид и *gp16* – регулятор, способствует снятию суперспирализации с ДНК генома хозяина [1,7,2]. Длина генома составляет 168 903 п.о., он богат А+Т парами оснований, в то время как наличие G+C составляет лишь 34,5%, это связано с тем, что ферменты (такие как РНК-полимераза и ДНК-полимераза), могут транскрибировать и реплицировать ДНК, богатую АТ, быстрее, чем они транскрибировали бы и реплицировали ДНК со сбалансированным содержанием GC и АТ, или могут привлекать РНК-полимеразу и другие белки хозяина конкурентным образом [6].

Фаг Т4 использует только литический путь развития, который состоит из:

- Адсорбции и проникновения внутрь клетки хозяина;
- Остановки экспрессии генов хозяина;
- Синтез ферментов (начинается через 5 минут);
- Репликация ДНК (начинается через 10 минут);
- Образование новых вирусных частиц (начинается через 12 минут);

Клетка-хозяин разрывается и высвобождает вновь созданные вирионы после завершения литического жизненного цикла. Размер порции бактериофага Т4 составляет около 100-150 вирусных частиц на инфицированного хозяина.

Бактериофаг Т4 является важнейшим модельным объектом благодаря своей способности получать полную генетическую и физиологическую информацию с помощью простых экспериментов. Благодаря Т4 были сформулированы многие базовые концепции, включая четкое распознавание нуклеиновых кислот как генетического материала; определение гена по тонкой структуре с помощью рекомбинационного, мутационного и функционального анализов; триплетность генетического кода; открытие мРНК; значение процесса рекомбинации в репликации ДНК; механизмы светозависимой и светонезависимой репарации ДНК; модификация и рестрикция ДНК и многое другое.

Преимуществом бактериофага Т4 в качестве модельного объекта является полное ингибирование экспрессии генов клетки хозяина, что позволяет проводить различие между макромолекулярным синтезом фага и хозяина [9].

Бактериофаг Т4 предоставляет простую модельную систему для анализа механизма действия противоопухолевых агентов, которые ингибируют ДНК-топоизомеразы II типа млекопитающих. Топоизомеразы Т4 и млекопитающих имеют несколько общих областей консервативной аминокислотной последовательности и проявляют сходные ферментативные свойства, включая катализ АТФ-зависимой релаксации, отсутствие внутренней активности сверхспирализации ДНК и ингибирование одноцепочечной ДНК [4].

ДНК-топоизомеразы II типа катализируют АТФ-зависимое расщепление обеих цепей ДНК с последующим переносом цепей через разрыв и его лигированием. Ключевой промежуточный продукт в этих реакциях, *комплекс расщепления*, состоит из топоизомеразы, ковалентно присоединенной посредством фосфотирозиновых связей к 5'-фосфатам расщепленной ДНК [3]. Результаты исследований различных систем указывают на то, что мощная цитотоксичность ингибиторов топоизомеразы является результатом стабилизации *комплекса расщепления*, а не простого ингибирования фермента.

Было обнаружено, что аминокридин *m*-AMSA (4'-(9-акридиниламино)-метансульфон-*m*-анизидид) ингибирует как топоизомеразы млекопитающих, так и топоизомеразы Т4. В обоих случаях *m*-AMSA индуцирует образование *комплекса расщепления* [4]. Ингибиторы топоизомеразы стабилизируют *комплекс расщепления* путем связывания с ДНК в активном центре фермента. Например, было показано, что идентичность пары оснований, которые непосредственно примыкают к фосфодиэфирным связям, определяет, какие химические семейства ингибиторов могут стабилизировать *комплекс расщепления* в определенной последовательности [3]. Лекарственно-устойчивые мутанты могут быть выделены с помощью простой процедуры за 1 день и проанализированы генетически всего за несколько недель [4].

Таким образом, бактериофаг Т4 представляет собой одну из наиболее тщательно изученных систем метаболизма нуклеиновых кислот (репликации, рекомбинации, транскрипции, репарации). Большинство белков, выделяемых фагом, очищаются и анализируются в простых системах *in vitro*, что делает Т4 недорогой, удобной и ценной модельной системой для анализа противоопухолевого действия лекарственных средств.

Список литературы

1. Молекулярная архитектура Бактериофага Т4 / В.В. Месянжинов, П.Г. Лейман, В.А. Костюченко [и др.] // БИОХИМИЯ. - 2004. – т. 69. - № 11. – с. 1463–1476.
2. Alam T.I., The ATPase Domain of the Large Terminase Protein, gp17, from Bacteriophage T4 Binds DNA: Implications to the DNA Packaging Mechanism / T.I. Alam, V.B. Rao // J Mol Biol. Academic Press. - 2008. - Vol. 376. - № 5. - P. 1272–1281.
3. Freudenreich C.H. Mutations of the Bacteriophage T4 Type II DNA Topoisomerase That Alter Sensitivity to Antitumor Agent 4'-(9-Acridinylamino) methanesulfon-m-anisidide and an Antibacterial Quinolone / C. H. Freudenreich, C. Chang, K. N. Kreuzer // Cancer Research. - 1998. – Vol. 58. - №6. – P. 1260-1267.
4. Kreuzer K.N. Bacteriophage T4, a model system for understanding the mechanism of type II topoisomerase inhibitors/ K. N Kreuzer // Biochimica et Biophysica Acta. – 1998. - Vol. 1400. - № 1-3. – P. 339–347.
5. Rao V.B. Structure and assembly of bacteriophage T4 head/ V.B. Rao, L.W. Black // Virology Journal. - 2010. - Vol. 7.
6. Bacteriophage T4 Genome / Eric S. Miller, Elizabeth Kutter, Gisela Mosig [et al] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. American Society for Microbiology. - 2003. - Vol. 67. - № 1. - P. 86–156.
7. Bacteriophage T4 Head: Structure, Assembly, and Genome Packaging / V. B. Rao, A. Fokine, Q. Fang [et al] // Viruses. - 2023. - Vol. 15. - № 2.
8. Structural and functional similarities between the capsid proteins of bacteriophages T4 and HK97 point to a common ancestry / A. Fokine, P. G. Leiman, M. M. Shneider [et al] // Proc Natl Acad Sci U S A. - 2005. – Vol.102. - № 20. – P. 7163–7168.
9. T4 BACTERIOPHAGE AS A MODEL ORGANISM / M.K. Taj, Z. Shamreen, I. Taj [et al] // International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences. - 2014. – Vol. 2. - № 2. – P. 19-24.