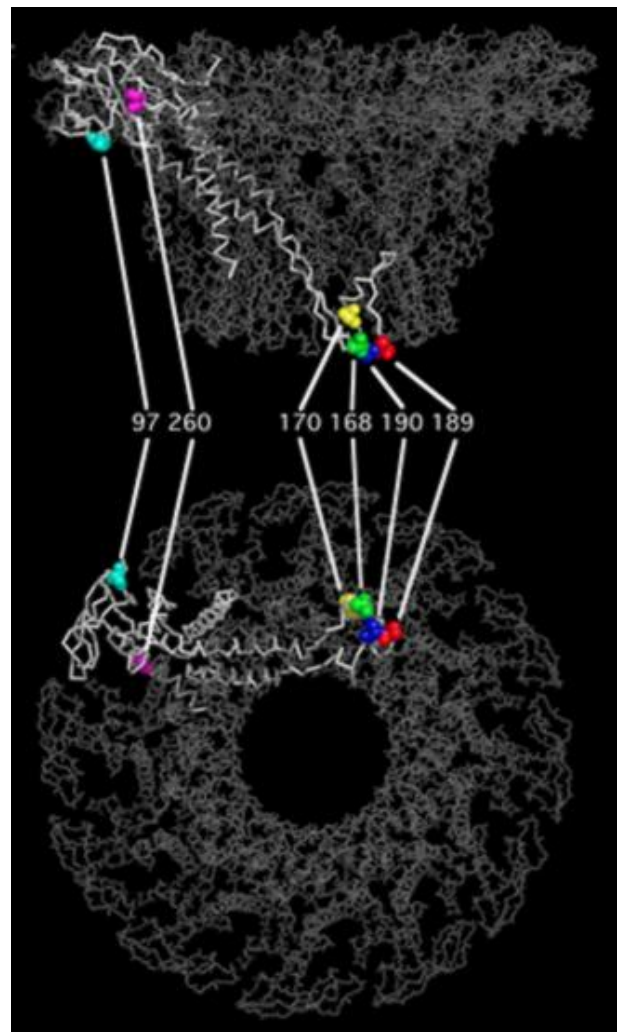


Ο βακτηριοφάγος φ29 συσκευάζει το DNA του με μια συστροφή

Περίληψη: Ο βακτηριοφάγος φ29 συσκευάζει το DNA του προκειμένου να γεμίσει τα καψίδια για να ολοκληρωθεί η διαδικασία παραγωγής νέων φάγων. Ο προσδιορισμός του μηχανισμού συσκευασίας πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια τεχνικών φασματοσκοπίας. Η συσκευασία ακολουθεί ένα πρόσφατα προτεινόμενο πρότυπο στο οποίο ο δακτύλιος των ATPαων διαδοχικά συμπιέζεται και εκτείνεται ρουφώντας το DNA, όπως ακριβώς θα έκανε το στόμα μας ρουφώντας μακαρόνια.

Πιθανώς δεν προσπαθήσατε ποτέ να βάλετε την οδοντόπαστα πίσω στο σωληνάριο, αλλά αν το έχετε ήδη κάνει θα έχετε γευτεί την εμπειρία του βακτηριοφάγου φ29 ο οποίος προσβάλλει τον *Bacillus subtilis* δεδομένου ότι με αυτόν τον τρόπο γεμίζει με το DNA του το πρωτεϊνικό του καψίδιο μετά την αντιγραφή του γενετικού του υλικού. Οι ερευνητές έχουν σκεφτεί ότι οι βακτηριοφάγοι ολοκληρώνουν τη διαδικασία αυτή, η οποία απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας, με την προσαρμογή και περιστροφή ενός σύνθετου συνδετήρα, στο άνοιγμα του καψιδίου. Ο συνδετήρας, με την περιστροφή του, μεταφέρει το DNA μέσα στο καψίδιο. Η ενέργεια για τη διαδικασία αυτή προέρχεται από τη διάσπαση του ATP με τη βοήθεια ATP-άσης. Μέχρι τώρα δεν έχει βρεθεί κανένας τρόπος για να αποδειχθεί πραγματικά τι συμβαίνει.

Οι Thorsten Hugel, Jens Michaelis, Craig Hetherington, Carlos Bustamante και οι συνεργάτες τους στην προσπάθειά τους να προσδιορίσουν αν η περιστροφή του ειδικού συνδετήρα είναι μέρος μιας συνηθισμένης διαδικασίας συσκευασίας, χρησιμοποίησαν ως εργαλεία απεικόνισης τη φασματοσκοπία πόλωσης φθορίζοντων μορίων και τη δυναμική



Μηχανισμός συσκευασίας του DNA του φάγου φ29. Η διπλή αλυσίδα του DNA οδηγείται στο σχηματισμένο καψίδιο με τη βοήθεια ενός σύνθετου και δυναμικού μοριακού μηχανισμού.

φασματοσκοπία που περιγράφονται αναλυτικότερα παρακάτω.

Οι ερευνητές ξεκίνησαν με την ανάπτυξη ενός συστήματος για τη διάταξη των καψιδίων ώστε να είναι δυνατή η ομαδική παρατήρησή τους κατά τη συσκευασία του DNA τους. Το καινοτόμο σύστημά τους συνδύασε την πόλωση φθορίζοντων μορίων με τα «μαγνητικά τσιμπιδάκια» που χρησιμοποιούνται για να συνδέσουν το άκρο του καψιδίου που βρίσκεται πολύ μακριά από το άνοιγμα σε μία πλάκα ολίσθησης με τη βοήθεια αντισωμάτων και στη συνέχεια να τραβήξουν το συσκευασμένο DNA προς την αντίθετη κατεύθυνση με την πρόσδεση μιας μαγνητικής χάντρας στο άκρο του και την εφαρμογή του απαιτούμενου μαγνητικού πεδίου.

Ένας δεύτερος σημαντικός προπαρασκευαστικός στόχος ήταν να επινοήσουν ένα τρόπο ιχνηθέτησης του σύνθετου συνδετήρα ώστε να είναι δυνατή η παρατήρηση των κινήσεών του. Οι ερευνητές πέτυχαν το στόχο αυτό με την πρόσδεση φθορίζοντων μορίων χρωστικών ουσιών στο συνδετήρα. Οι παρατηρήσεις επιβεβαίωσαν ότι τα «μαγνητικά τσιμπιδάκια» και τα φθορίζοντα μόρια χρωστικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν δεν εμποδισαν ουσιαστικά τη διαδικασία συσκευασίας του DNA.

Με τη χρήση της φασματοσκοπίας πόλωσης φθορίζοντων μορίων, οι ερευνητές θα μπορούσαν να μετρήσουν την πόλωση από τους ιχνηθετημένους με μόρια χρωστικών ουσιών συνδετήρες. Με την περιστροφή της πόλωσης διέγερσης έδειξαν ότι η οργάνωση είχε τη δυνατότητα να τους δώσει χρήσιμες πληροφορίες και ότι θα ήταν σε θέση να ανιχνεύσει ρυθμούς περιστροφής 0,2 έως 5 περιστροφές ανά δευτερόλεπτο, εύρος απαραίτητο για τον έλεγχο των μηχανισμών φόρτωσης του DNA που είχαν προταθεί προηγουμένως.

Με τις καινοτόμες πειραματικές συσκευές τους σε λειτουργία, οι ερευνητές προχώρησαν στη λήψη ενός κοντινού πλάνου για τις κινήσεις

του συνδετήρα κατά τη διάρκεια της συσκευασίας του DNA σε έξι στελέχη του φάγου φ29. Μετά την επισύναψη των φθορίζοντων μορίων στο σύμπλοκο του συνδετήρα, στελέχη οδηγήθηκαν στη διαδικασία συσκευασίας του DNA τους σε ένα θάλαμο ροής. Δεδομένου ότι οι συνδετήρες λειτούργησαν, οι ερευνητές έριξαν σ' αυτούς ομογενές πολωμένο φως και κατέγραψαν το αποτύπωμα του φθορισμού σε δύο κανάλια με αντίθετο προσανατολισμό.

Αν οι συνδετήρες είχαν περιστραφεί, οι ερευνητές θα έβλεπαν ένα ημιτονοειδές κύμα, όπως αυτό της διακύμανσης της έντασης, και στα δύο κανάλια με διαφορά φάσης 90 μοιρών. Όχι μόνο δεν είδαν ημιτονοειδή κύματα, αλλά μαθηματική ανάλυση του φθορίζοντος προτύπου επιβεβαίωσε ότι οι μεταβολές στο φθορισμό που εκπέμφθηκε κατά τη συσκευασία των μορίων δεν αντιστοιχούσε σε κανένα είδος συνεχούς περιστροφικής κίνησης. Οι ερευνητές συμπέραναν, με βεβαιότητα περισσότερο από 99%, ότι οι μηχανισμοί συσκευασίας δεν περιελάμβαναν περιστροφή.

Έτσι, τι μπορεί να συμβαίνει; Οι ερευνητές σημείωσαν ότι τα ευρήματά τους ήταν συμβατά με ένα πρόσφατα προτεινόμενο μη περιστροφικό πρότυπο στο οποίο ο δακτύλιος των ΑΤΡαών διαδοχικά συμπίεζεται και εκτείνεται ρουφώντας το DNA, όπως θα έκανε το στόμα μας αν έπρεπε να φάμε ένα πιάτο γεμάτο μακαρόνια με τα χέρια δεμένα πίσω στην πλάτη. Θα απαιτηθεί περαιτέρω έλεγχος για να επιβεβαιωθεί η ισχύς του παραπάνω μοντέλου και η βεβαιότητα της ερευνητικής ομάδας να απορρίψει την υπόθεση του περιστροφέα.

