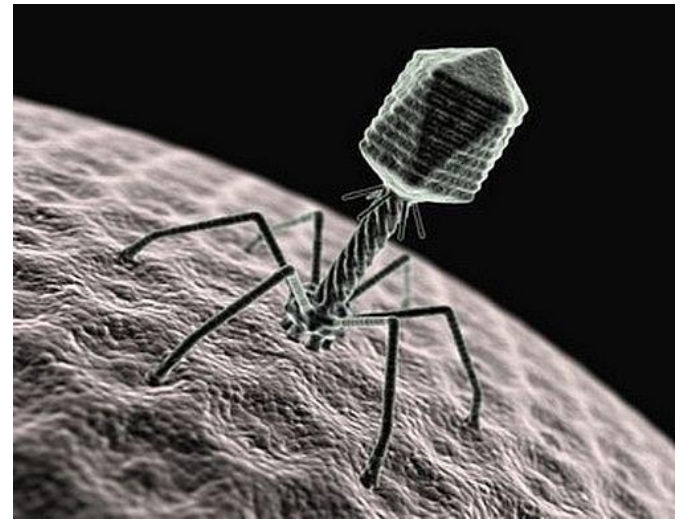




БАКТЕРИОФАГИ

ПРЕЗЕНТАЦИЮ ВЫПОЛНИЛА
СТУДЕНТА 2 КУРСА
ИПР
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ БИОЛОГИЯ
КОНОНЕНКО ЕКАТЕРИНА

- **Бактериофаги или фаги** (от др.-греч. φᾱγω — «пожираю») — вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки.



Определение



- Типичная фаговая частица (*вирион*) состоит из головки и хвоста. Длина хвоста обычно в 2—4 раза больше диаметра головки.
- В головке содержится *генетический материал* — одноцепочечная или двуцепочечная РНК или ДНК с ферментом *транскриптазой* в неактивном состоянии, окружённая белковой или липопротеиновой оболочкой — *капсидом*, сохраняющим геном вне клетки.
- Нуклеиновая кислота и капсид вместе составляют *нуклеокапсид*.

Строение бактериофага



- *Хвост, или отросток, представляет собой белковую трубку* — продолжение белковой оболочки головки, в основании хвоста имеется АТФаза, которая регенерирует энергию для инъекции генетического материала.
- *Отросток имеет вид полой трубки, окружённой чехлом, содержащим сократительные белки, подобные мышечным. На конце отростка у многих бактериофагов имеется базальная пластинка, от которой отходят тонкие длинные нити, способствующие прикреплению фага к бактерии.*

Строение бактериофага

БАКТЕРИОФАГИ

ДНК-СОДЕРЖАЩИЕ

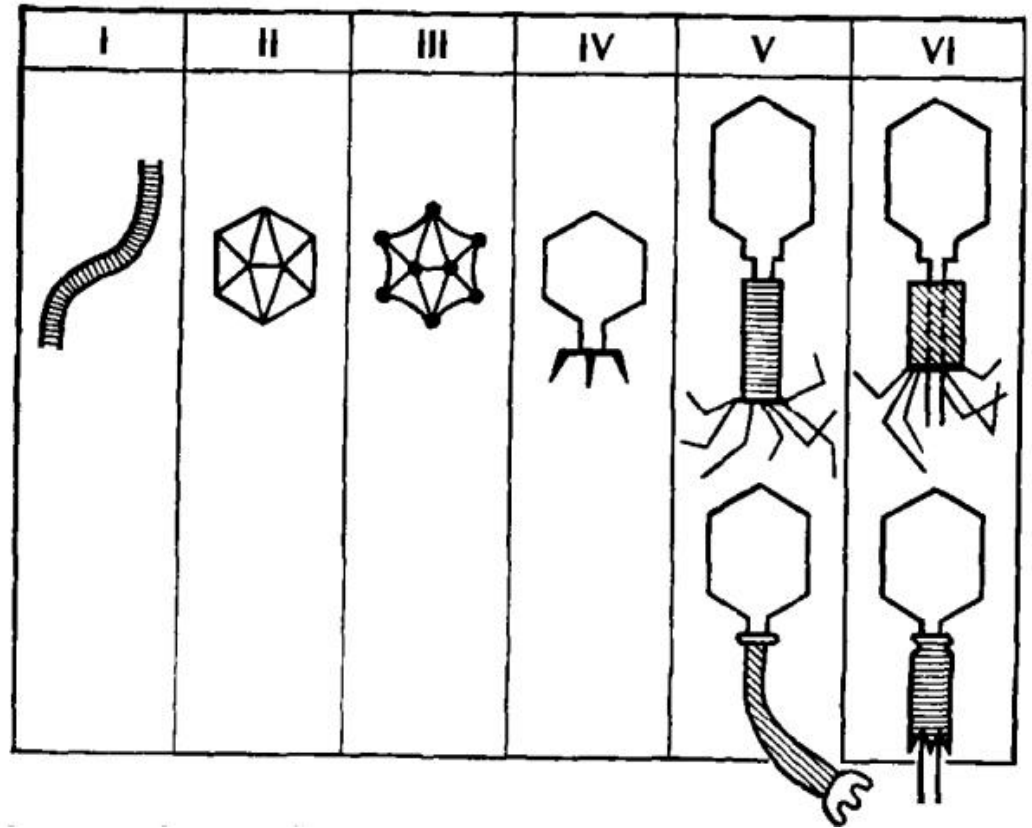
Myoviridae
Siphoviridae
Podoviridae
Lipothrixviridae и др. семейства

РНК-СОДЕРЖАЩИЕ

Cystoviridae,
Leviviridae

СИСТЕМАТИКА

- I – нитевидные фаги
- II – фаги без отростка
- III- фаги с аналогом отростка
- IV – фаги с коротким отростком
- V – фаги с длинным несокращающимся отростком
- VI– фаги с длинным сокращающимся отростком

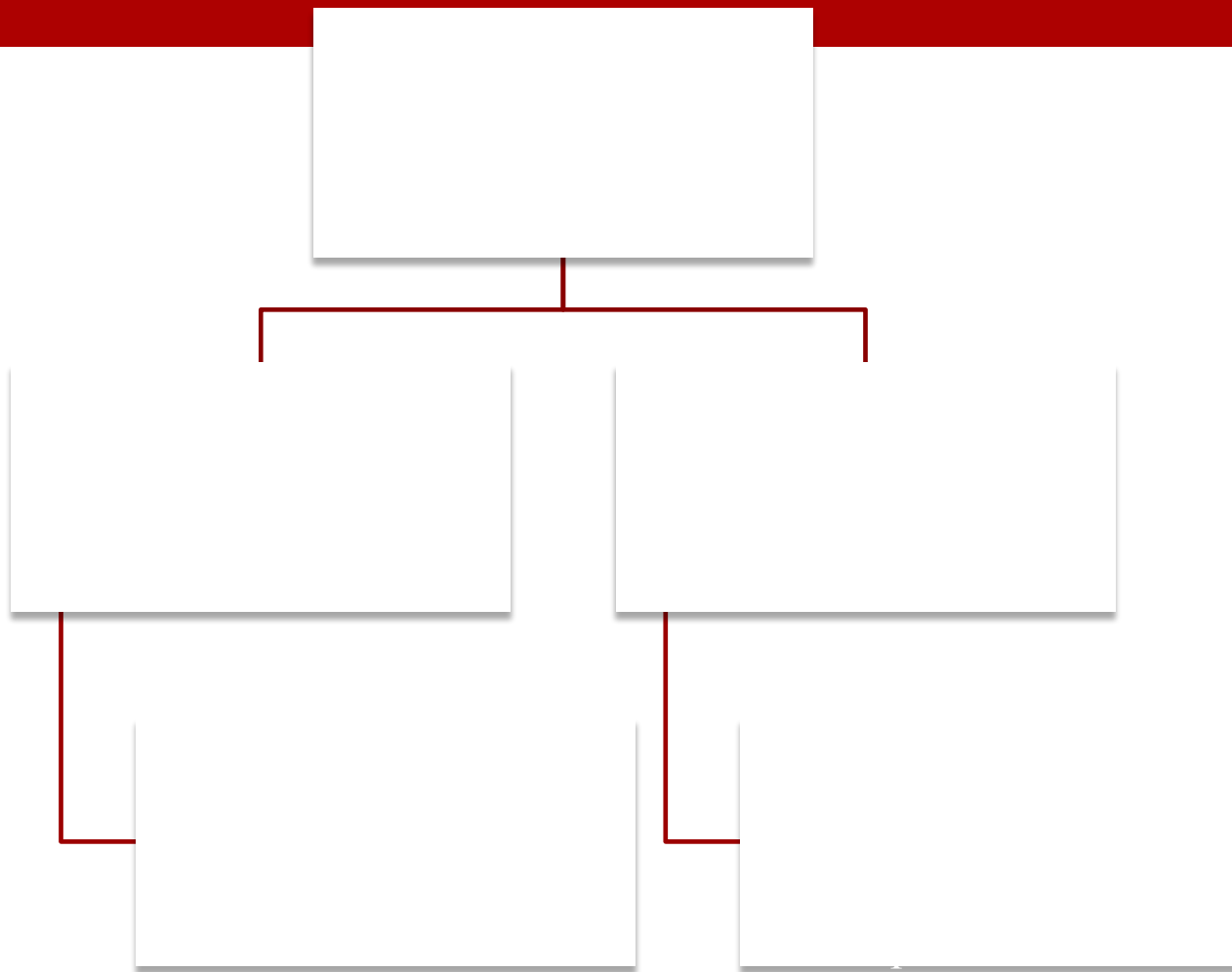


Морфологические типы

Характерные свойства фагов, как представителей царства *Vira*:

- Фаги – неклеточные формы жизни
- Содержат одну нуклеиновую кислоту – ДНК или РНК
- Геном фага кодирует только белки капсида
- У них отсутствуют белоксинтезирующие системы и самостоятельный метаболизм
- Облигатные внутриклеточные паразиты на генетическом уровне





Типы фагов

(по характеру влияния на инфицированную клетку)

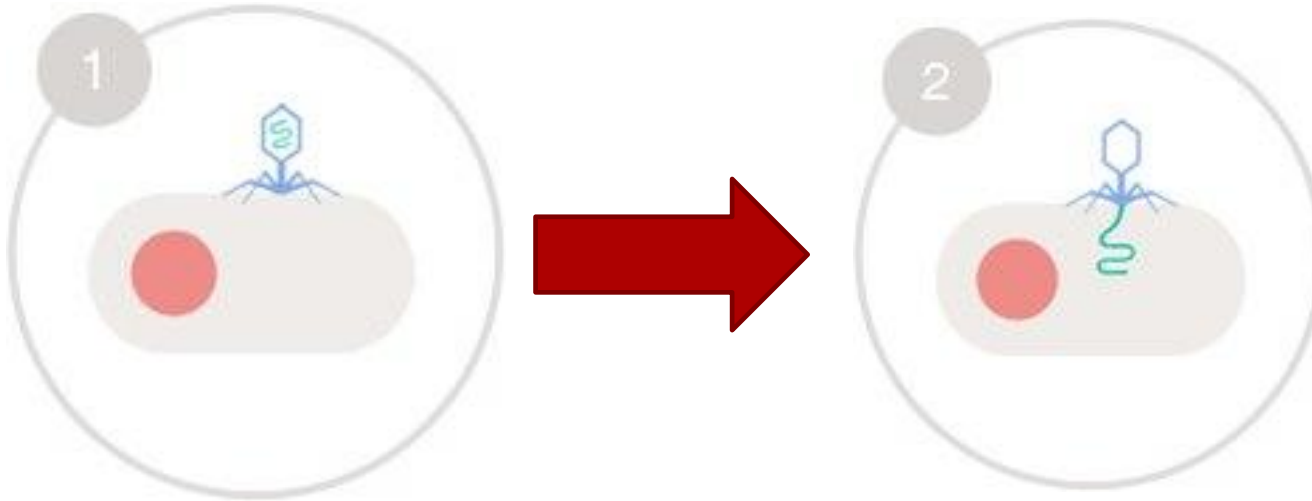


Истинно вирулентные бактериофаги



Адсорбция бактериофагов на бактериальных клетках

Инъекция нуклеиновой кислоты бактериофага внутрь клетки



1

- **Адсорбция.** Специальные элементы фага, расположенные на поверхности в виде фибрилл или шипов связываются со специфичными поверхностными молекулами — рецепторами на своей жертве — бактерии. Пока бактериофаг достаточно плотно не закрепится на поверхности бактерии следующей стадии не происходит т.к. *существует специальная система блокировки.*

2

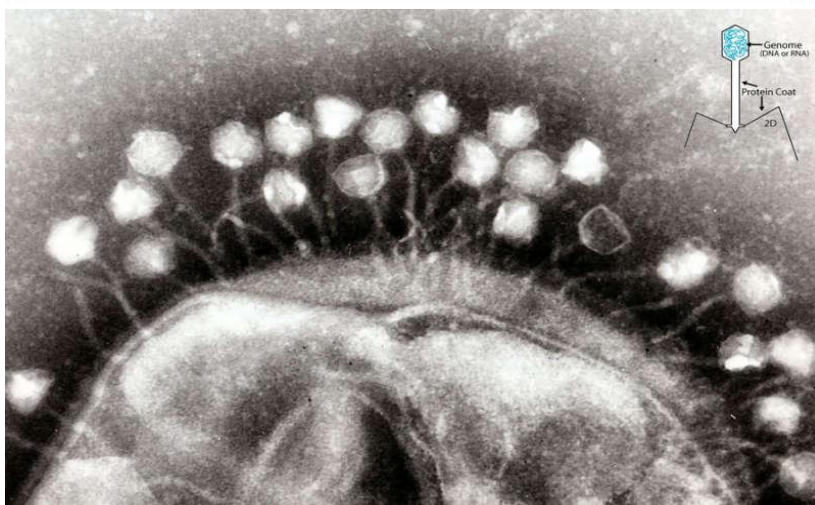
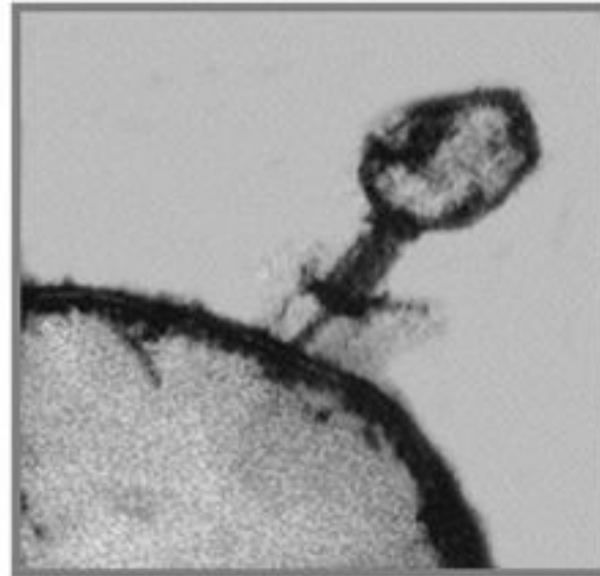
- После плотного прикрепления фага (*адсорбции*) происходит внедрение генетического материала бактериофага в тело бактерии. Для этого в структуре фага природа предусмотрела наличие специальных структур, которые действуют по типу шприца. Именно за счет этого фаг как бы делает инъекцию, растворяет оболочку и вводит свой генетический материал в бактерию. Для этого у фага есть агрессивный фермент для прокалывания бактерии

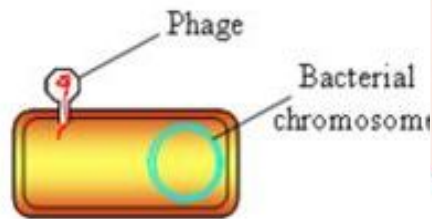
Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

- Адсорбция бактериофага



- Внедрение





3

- Когда ДНК фага попадает в бактерию она может раствориться ферментами бактерии. Однако фаг защищает свою ДНК специальными липкими белками, которые замыкают молекулу в кольцо, делая ее неязвимой. Далее происходит тиражирование генетического материала (ДНК) фага прямо в клетке бактерии.

4

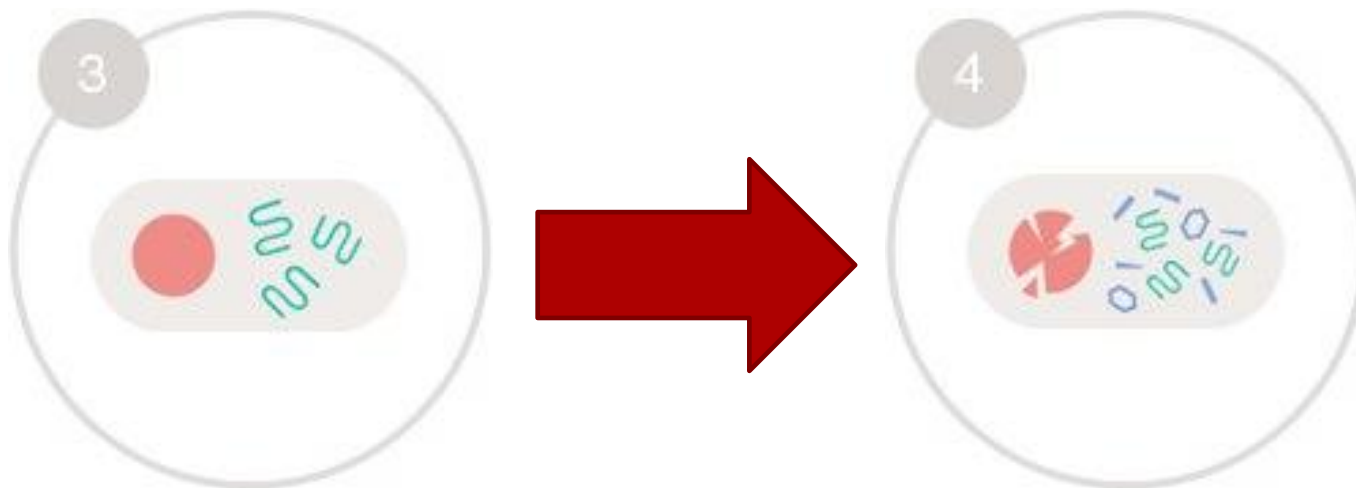
- После заражения бактерии начинается *перестройка клеточного метаболизма* под нужды фага: разрушаются некоторые клеточные белки. Далее происходит включение генетического материала фага в метаболизм бактерии и начинается сборка новых, молодых фагов.





Сборка фаговых частиц

Репликация копий нуклеиновой кислоты бактериофага



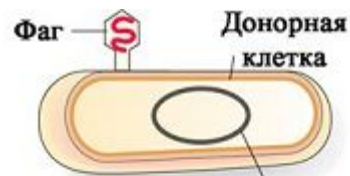
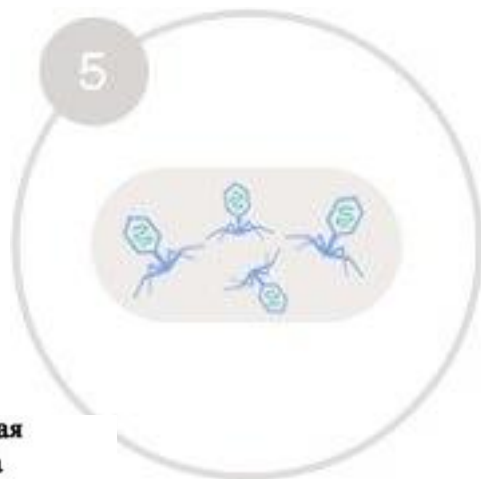
5

- Сборка молодых фагов происходит с упаковывания генетического материала в икосаэдрические белковые оболочки — далее к фагам присоединяется хвост, на головке фага появляются различные, необходимые для его жизнедеятельности белки. Количество молодых фагов внутри бактерии возрастает. Новое поколение готовится к выходу из бактериальной клетки.



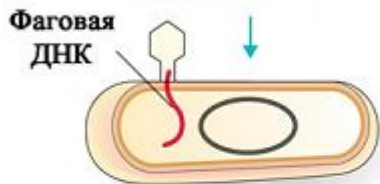
Синтез белковых и нуклеиновых частиц

Выход зрелых фагов и смерть бактерии

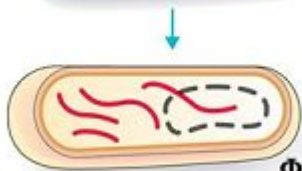


Донорная клетка

Фаг



Фаговая ДНК

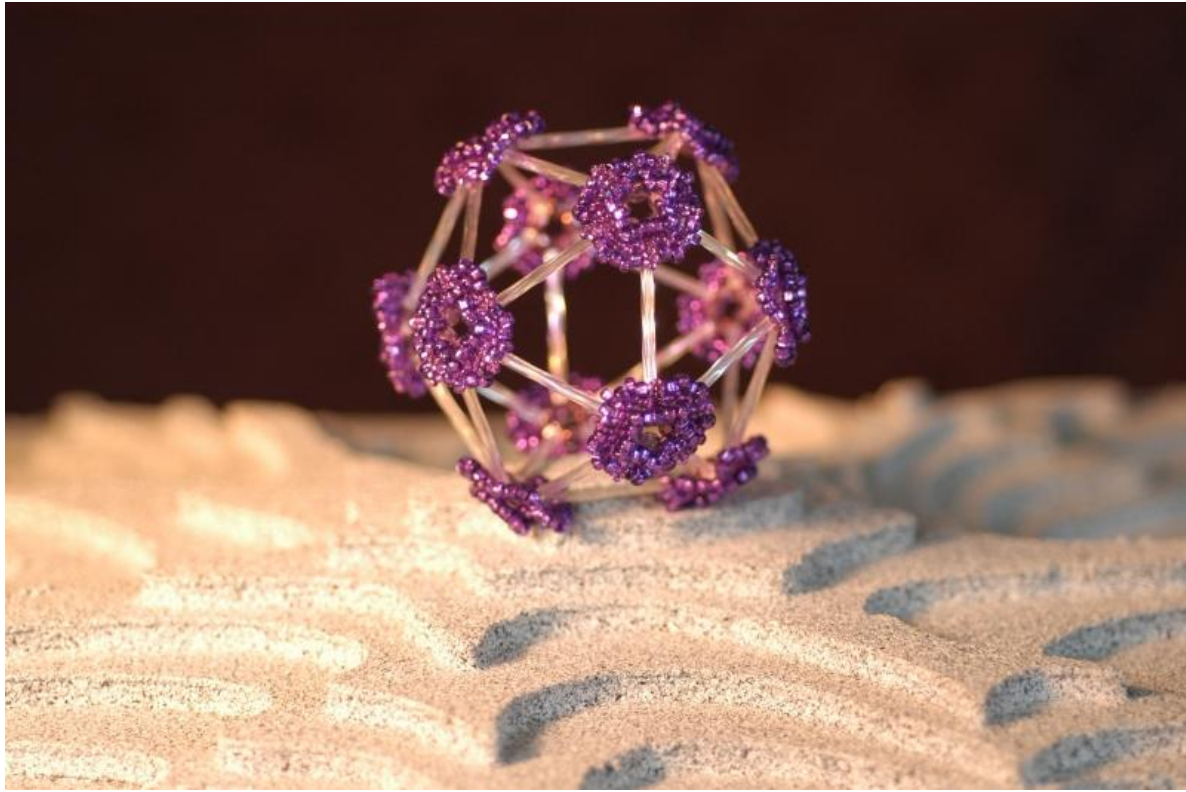


Фаг с хромосомной ДНК

Нормальный фаг

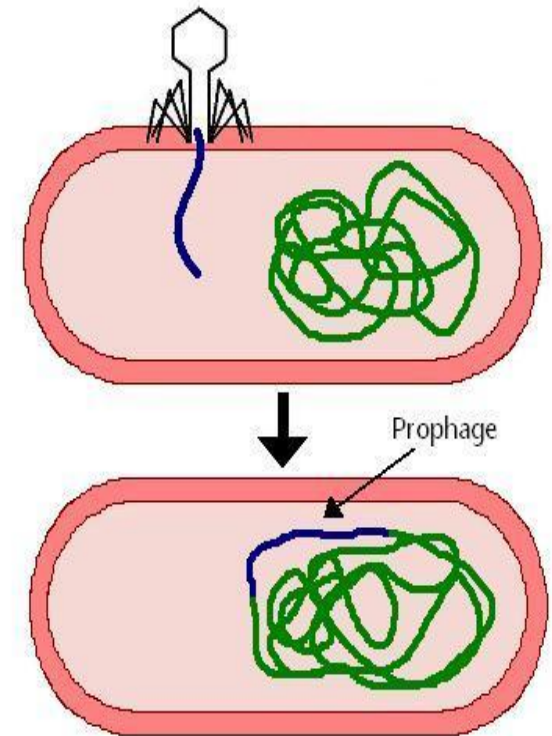


- Финал жизненного цикла фага — *клеточный лизис*. Молодые фаги используют для разрушения бактериальной клетки набор ферментов расщепляющих оболочки бактерий (лизины) и белков, создающих поры во внутренней мембране бактерии и обеспечивающей ускорение действия фермента лизина.



Умеренные бактериофаги

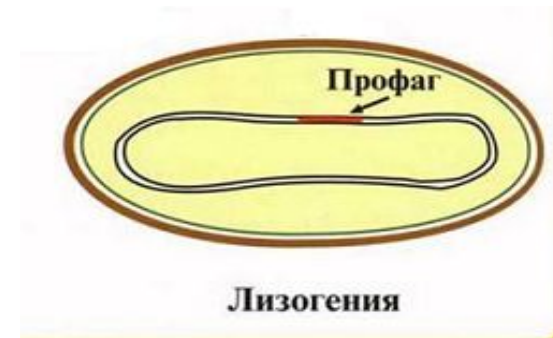
- **Умеренные фаги**, в отличие от вирулентных, не всегда вызывают гибель бактериальных клеток и при взаимодействии с ней переходят в неинфекционную форму фага, называемую профагом.
- *Профаг* — геном фага, ассоциированный с бактериальной хромосомой.
- Профаг, ставший частью хромосомы клетки, при ее размножении реплицируется синхронно с геномом бактерии, не вызывая ее лизиса, и передается по наследству от клетки к клетке в неограниченном числе поколений.



• Умеренные фаги. Лизогения

- Бактериальные клетки, содержащие в своей хромосоме профаг, называются **ЛИЗОГЕННЫМИ**.
 - Профаг в лизогенных бактериях самопроизвольно или под влиянием различных индуцированных агентов может переходить в **вегетативный фаг**.
 - В результате такого превращения бактериальная клетка лизируется и продуцирует новые фаговые частицы.
-

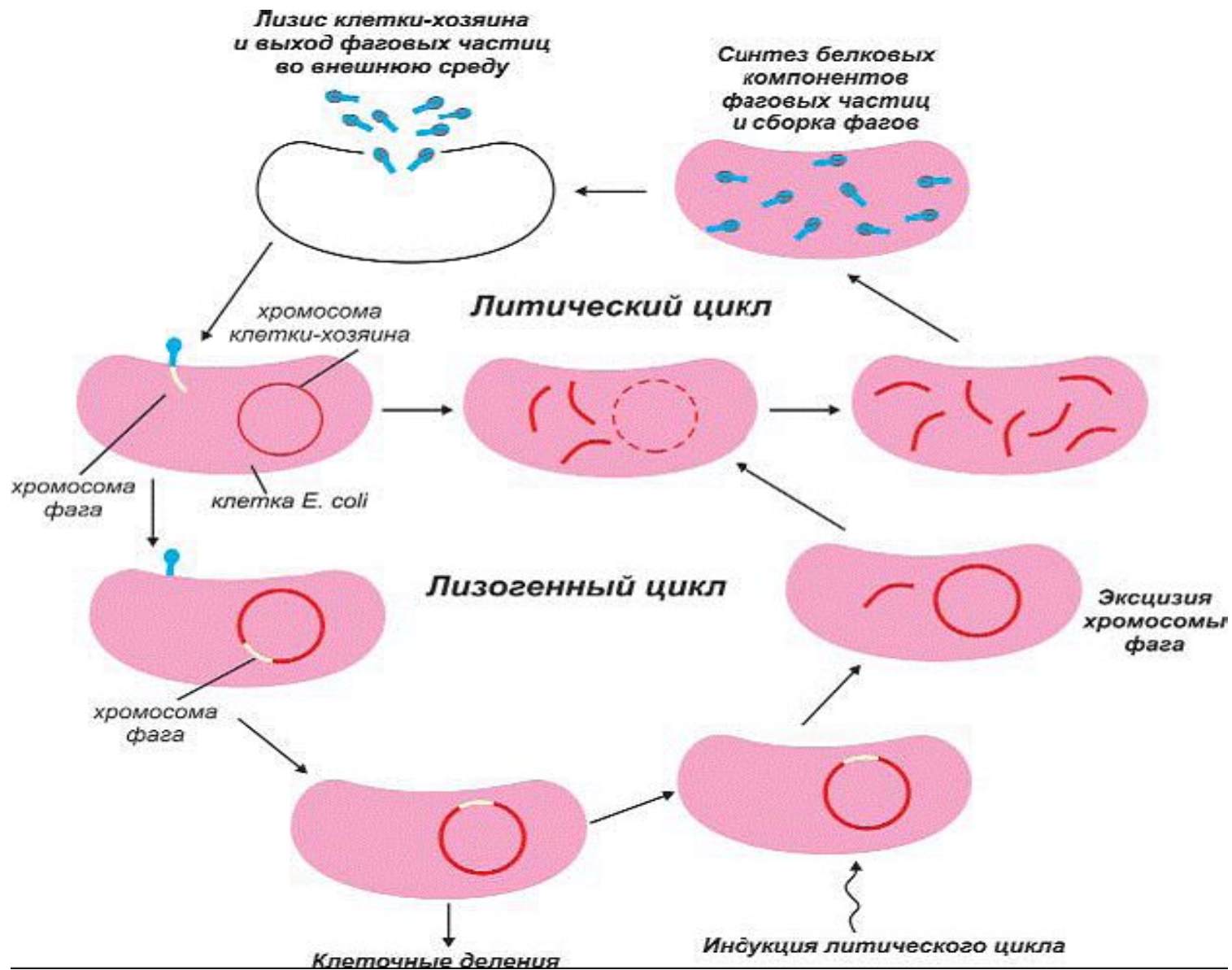
• Умеренные фаги



Фаговая конверсия: процесс изменения свойств бактерии, под действием дополнительного набора генов, внесенных профагом в клетку, с приобретением ею *токсигенных свойств* (например, появление способности к образованию экзотоксина у возбудителей ботулизма, дифтерии, скарлатины, холеры).

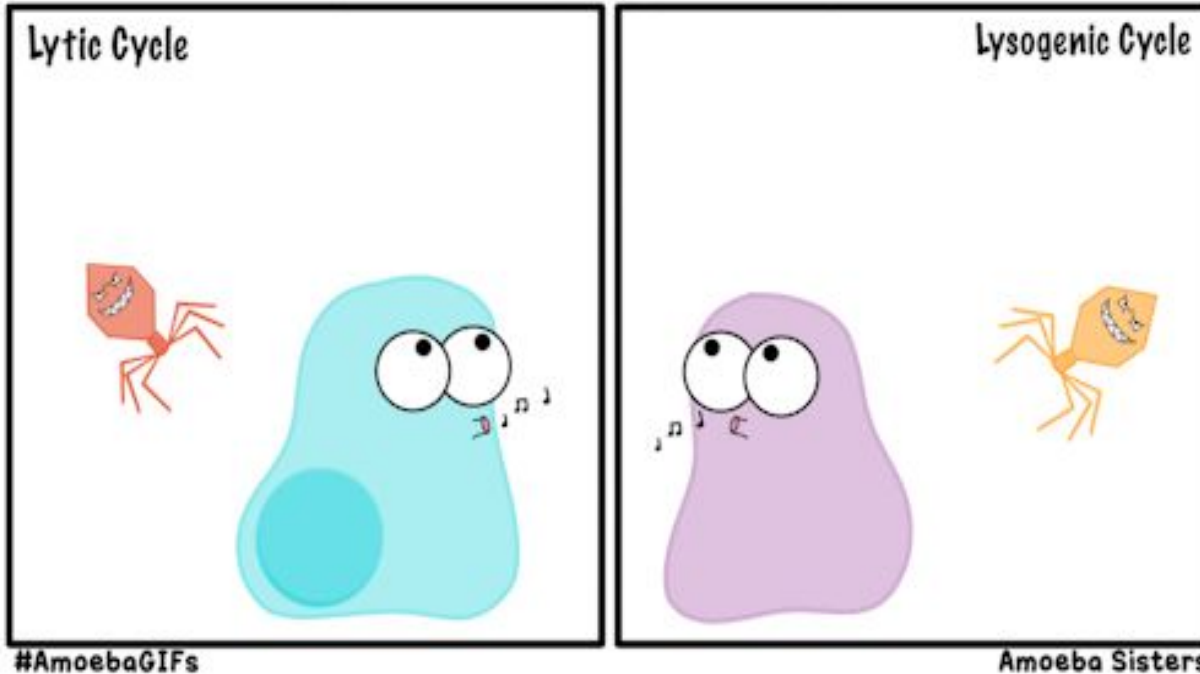
Лизогенные бактерии, содержащие tox-ген, полученный в результате фаговой конверсии патогенны

- Некоторые умеренные фаги называются **трансдуцирующими**, поскольку с их помощью осуществляется один из механизмов генетической рекомбинации у бактерий — трансдукции.
 - Такие фаги могут использоваться, в частности, в генной инженерии в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК и/или при изготовлении рекомбинантных (генно-инженерных) вакцин.
-



Абортивная инфекция - инфекция, при которой процесс репродукции остается незавершенным и потомство бактериофагов не образуется

Lytic vs Lysogenic Cycles

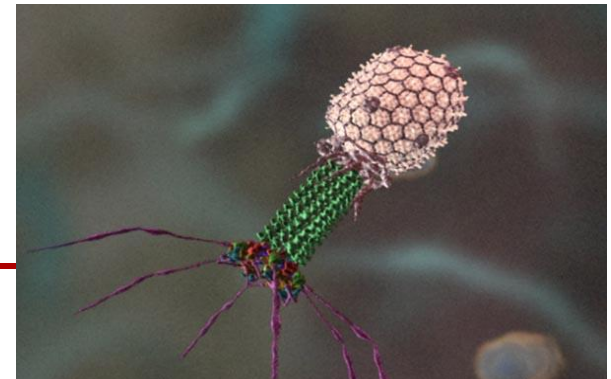


ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ



- **Фагопрофилактика и фаготерапия.**

- Одной из главных областей использования бактериофагов является *антибактериальная терапия*, альтернативная приёму антибиотиков.
- Препараты бактериофага составлены из вирулентных бактериофагов широкого спектра действия, активных против антибиотикорезистентных бактерий.
- Их выпускают жидкими и лиофильно высушенными, в виде таблеток, кремов, мазей ,свечей.
- Перед применением необходимо определить фагочувствительность возбудителя инфекции.



- Коли- протейный (смесь фаголизатов *P.vulgaris* и *P.mirabilis*)
- Стафилококковый бактериофаг
- Бактериофаг псевдомонас аеругиноза
- Сальмонеллезный бактериофаг
- Бактериофаг поливалентный (смесь фаголизатов стафилококков, стрептококков, *E.coli*, *P.vulgaris* и *P.mirabilis*)



Препараты бактериофагов

- **Интести-бактериофаг** представляет собой смесь стерильных фильтратов фаголизатов *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella oranienburg*, *Salmonella enteritidis*, энтеропатогенной *Escherichia coli* серогрупп, наиболее значимых в этиологии энтеральных заболеваний, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*.



- для лечения и профилактики кишечных инфекций тракта (колит, энтероколит, брюшной тиф, дизентерия, сальмонеллез, кольпит, дизбактериоз, диспепсия);
- против основных возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний кожи (пиодермия, фурункулез, абсцесс, инфекции ран);
- при лечении ЛОР-органов (пневмония, плеврит, ангина);
- при лечении опорно-двигательного аппарата;
- при лечении инфекций почек и мочеполовой системы (цистит, пиелонефрит, уретрит);
- систем органов кровообращения и дыхания, в том числе у новорожденных и детей первого года жизни.
- рекомендуются с лечебной и профилактической целью (при операциях на желудочно-кишечный тракт, при перитонитах, акушерских операциях, ампутациях и открытых переломах костей, ожогах, артритах и т.п.)

Применение в медицине

бактериофаги способны уничтожать бактерии, устойчивые к антибиотикам, т.к. они действуют лишь на определенные бактерии

- свободно проникают в ткани организма человека и животного не нарушая баланса высшего организма

не вызывают побочных эффектов

- не подавляют рост нормофлоры, не ослабляют иммунитет

постоянно эволюционируют

- не подавляют и не нарушают действия человеческого организма

не развивают устойчивость (привыкание) бактерий

- сочетаются с любыми лекарственными препаратами, оказывают положительное действие на становление иммунитета

Преимущества перед антибиотиками

- Важным свойством бактериофагов является их специфичность: бактериофаги лизируют культуры определённого вида, но встречаются поливалентные бактериофаги, которые паразитируют в бактериях разных видов.
 - Узкая специфичность – главный недостаток лечебно-профилактических препаратов бактериофагов
-

- Для диагностики инфекционных заболеваний

Один из основных методов:

Фаготипирование (лизотипирование, фаготипаж) — метод дифференциации бактерий при помощи бактериофагов.

Применение в медицине

Основа метода: с помощью типовых фагов дифференцируют культуры одного вида на основании их различной чувствительности к набору таких фагов, то есть выявляют фаготип, что позволяет выявить источник заболевания и пути его распространения.

Фаготипирование *S. typhi*.

Используют набор типовых Vi-фагов (А,В,С,Д,Е), каждый из которых лизирует культуры определенных фаговаров. Для типирования нужен фаг Vi-1, который лизирует все брюшнотифозные культуры, содержащие Vi- антиген, т.к. только такие культуры пригодны для постановки опыта.

Фаготипирование

1) Бульонную культуру засевают в виде капель на поверхность МПА.

2) На высохшие капли культуры наносят типовые V_i-фаги (А, В, С, Д), а также фаг V_i-1. Инкубируют.

3) Проводят учет результата опыта: культура должна полностью лизироваться фагом V_i-1 и определенными типовыми фагами, что и позволяет определить ее фаговар (с помощью таблицы).



Постановка опыта

Phage type
52-52a-80

	90		92	
29	52	52a	79	80
3a	3c	55	71	187
6	42e	47	53	54
75	77	83a	84	85
95	96	88	81	42d



Государственное учреждение НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН
(Филиал «Медгамма» - ГУ ВНИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН)
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, Россия
тел.: 193-30-50, 190-44-50, факс: 190-4-71

**БАКТЕРИОФАГИ СТАФИЛОКОККОВ С ТИПОВЫМИ
ДИАГНОСТИЧЕСКИМИ, СУХИЕ —
АНГЛИЯ (МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАБОР)**

№№ 29, 52, 52A, 79, 80, 3A, 3C, 55, 71, 77, 83A, 84, 85, 94, 96, 81, 95
Лиофилизат для диагностических целей
23 ампулы
Для лечебно-профилактических и санитарно-эпидемиологических учреждений.

Фаготипирование стафилококков

- **Титрование бактериофага** - определение активности бактериофага по способности различных разведений его взвеси лизировать бактериальные культуры в жидких питательных средах или образовывать негативные колонии в бактериальном газоне на плотных питательных средах.



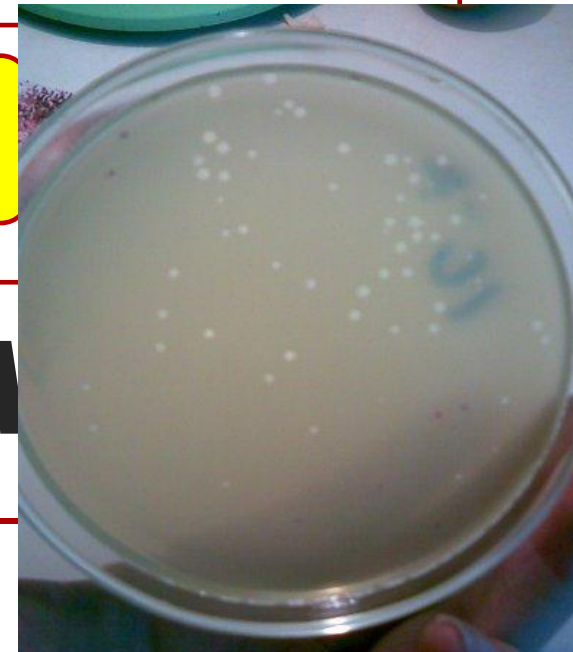
1,0 мл фага смешивают в пробирке с 0,5 мл бактериальной культуры и добавляют в эту же пробирку расплавленный МПА.

Все содержимое выливают в чашку с МПА. Дают застыть верхнему тонкому слою и ставят в термостат.

Происходит лизис бактерии и образуется негативная колония фага.

Негативные колонии затем подсчитывают для определения титра (количество фаговых частиц в 1мл препарата фага)

ТИТРОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГА ПО МЕТОДУ ГРАЦИЯ



- ★ Контроль численности микробных популяций
- ★ Перенос бактериальных генов
- ★ Привносят в бактериальный геном новые гены (трансдукция)

Роль бактериофагов в биосфере
