

# Лекция № 5



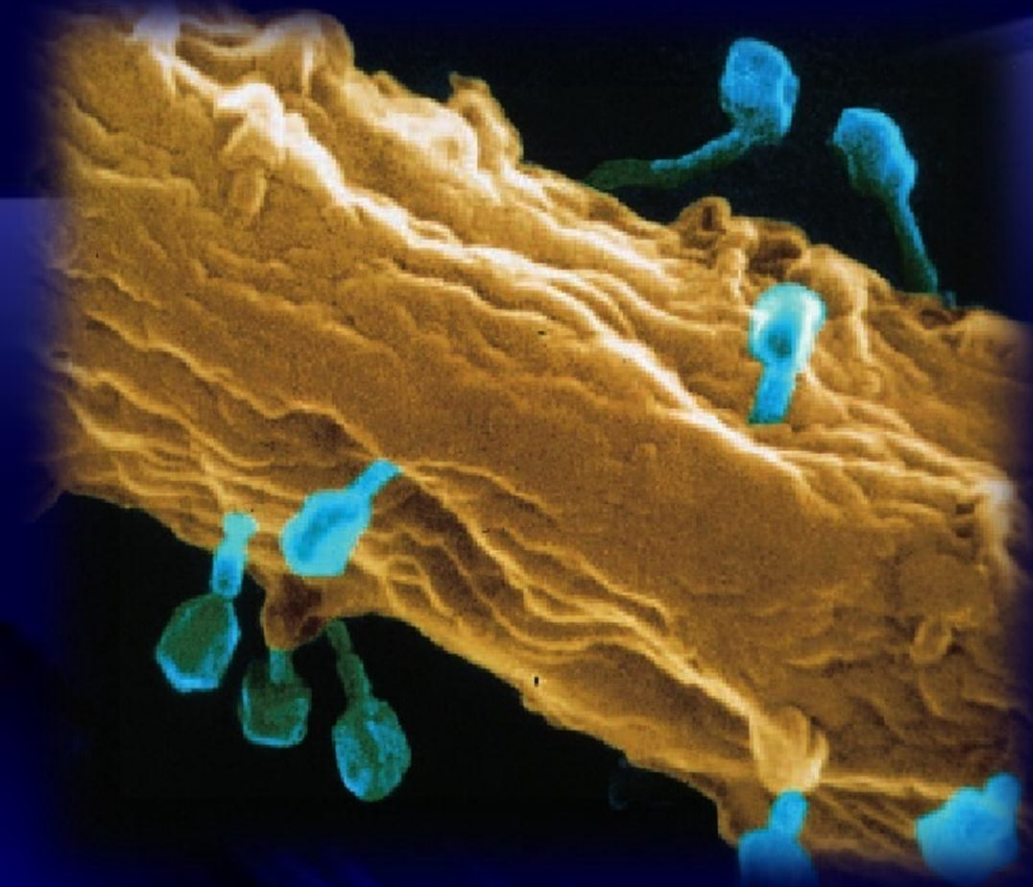
# Бактериофаги



Вирусы-2

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна

# Бактериофаги (фаги) – вирусы бактерий



- Бактериофаги (фаги) – это вирусы, поражающие клетки бактерий;
- Фагам присущи все биологические особенности, свойственные вирусам



Фаги атакуют клетку *E. coli*

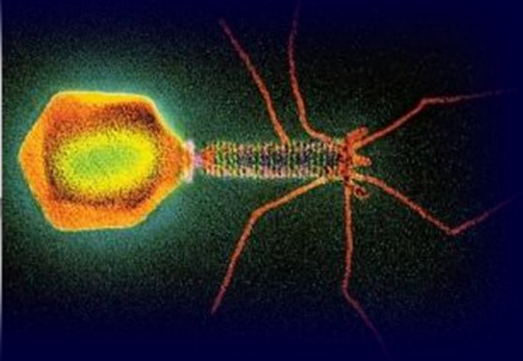
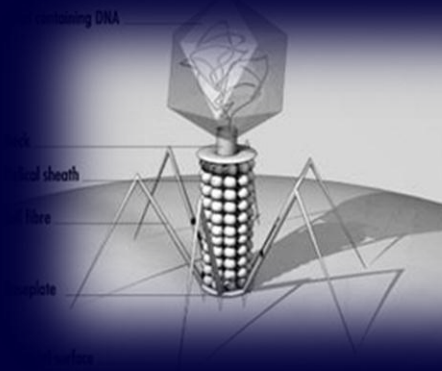
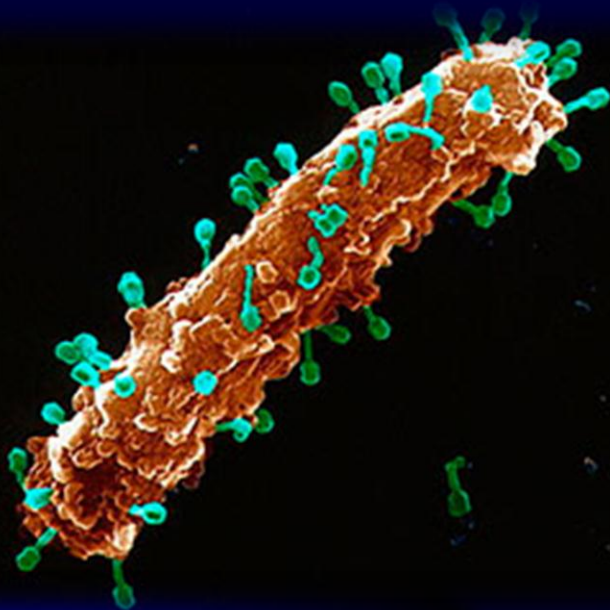
# Бактериофаги

- ✘ Бактериофагия – процесс взаимодействия фагов с бактериями, часто заканчивающийся разрушением бактерий;
- ✘ Бактериофаги широко распространены в природе и находятся в воде, почве, пищевых продуктах, различных выделениях из организма людей и животных.
- ✘ Выявляются у большинства патогенных и непатогенных микроорганизмов.

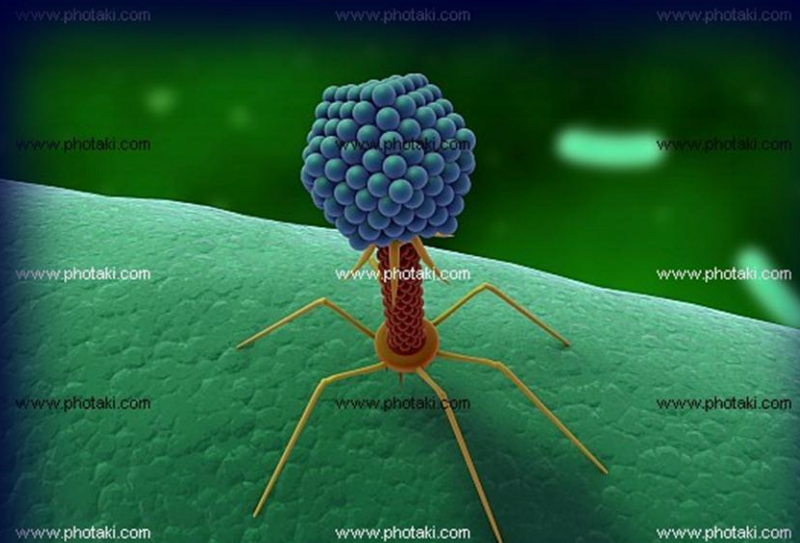


# Бактериофаги

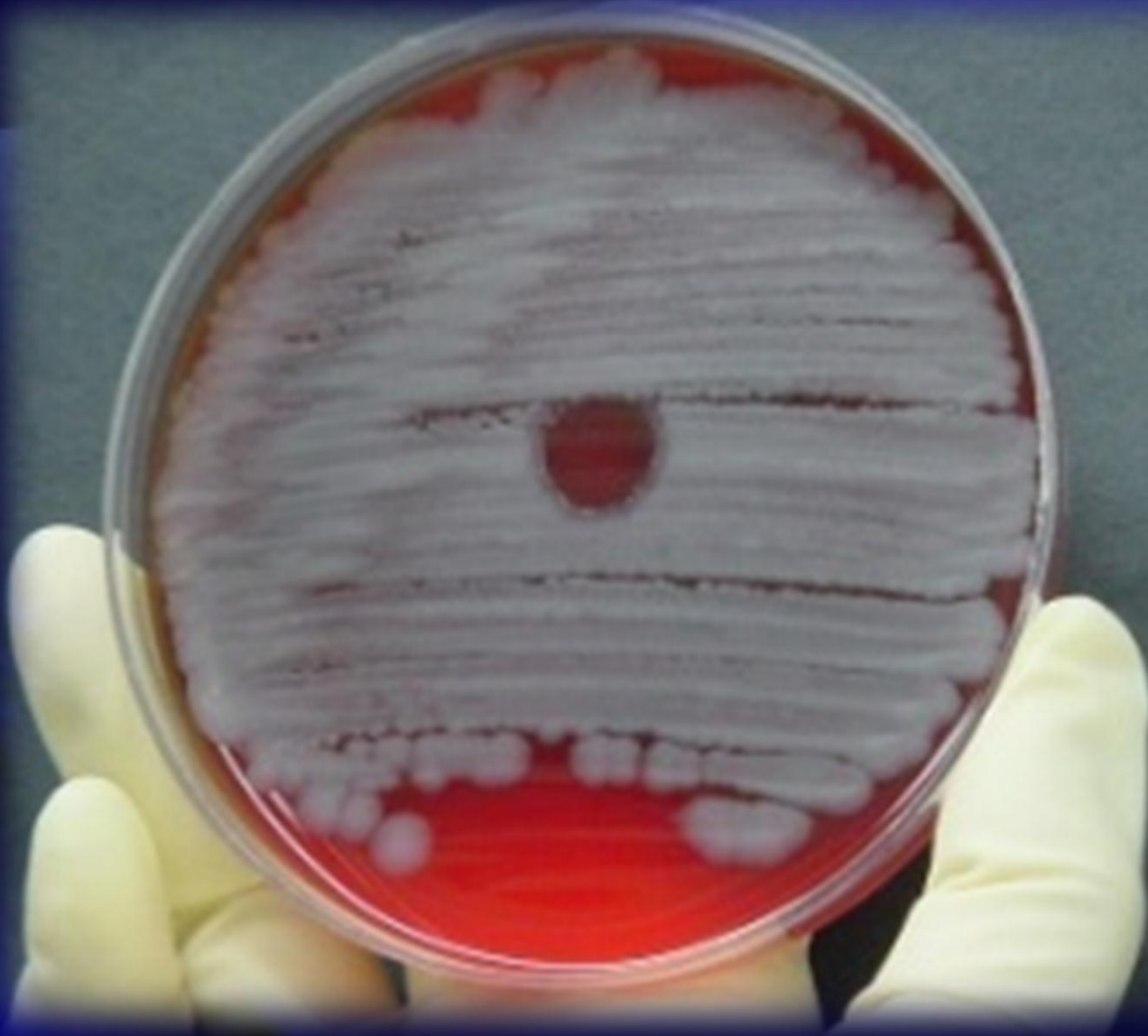
- ✗ Хотя любой фаг строго специфичен в отношении своего хозяина, каждый тип бактерий может быть хозяином для одного и более фагов.



✘ Фаги – удобная модель для изучения тонкой структуры гена, молекулярных механизмов мутагенеза, расшифровки генетического кода, влияния ионизирующей радиации на наследственные структуры организма.



# Phage lysis



# Резистентность фагов

- ✘ По степени устойчивости к факторам внешней среды фаги занимают место между вирусами и неспоровыми бактериями
- ✘ Большинство фагов не инактивируется холодными водными растворами глицерина и этилового спирта
- ✘ На них не действуют такие ферментные яды, как цианид, фторид, а также хлороформ и фенол
- ✘ Легко разрушаются при кипячении, действии кислот, химических дезинфектантов, УФ облучении



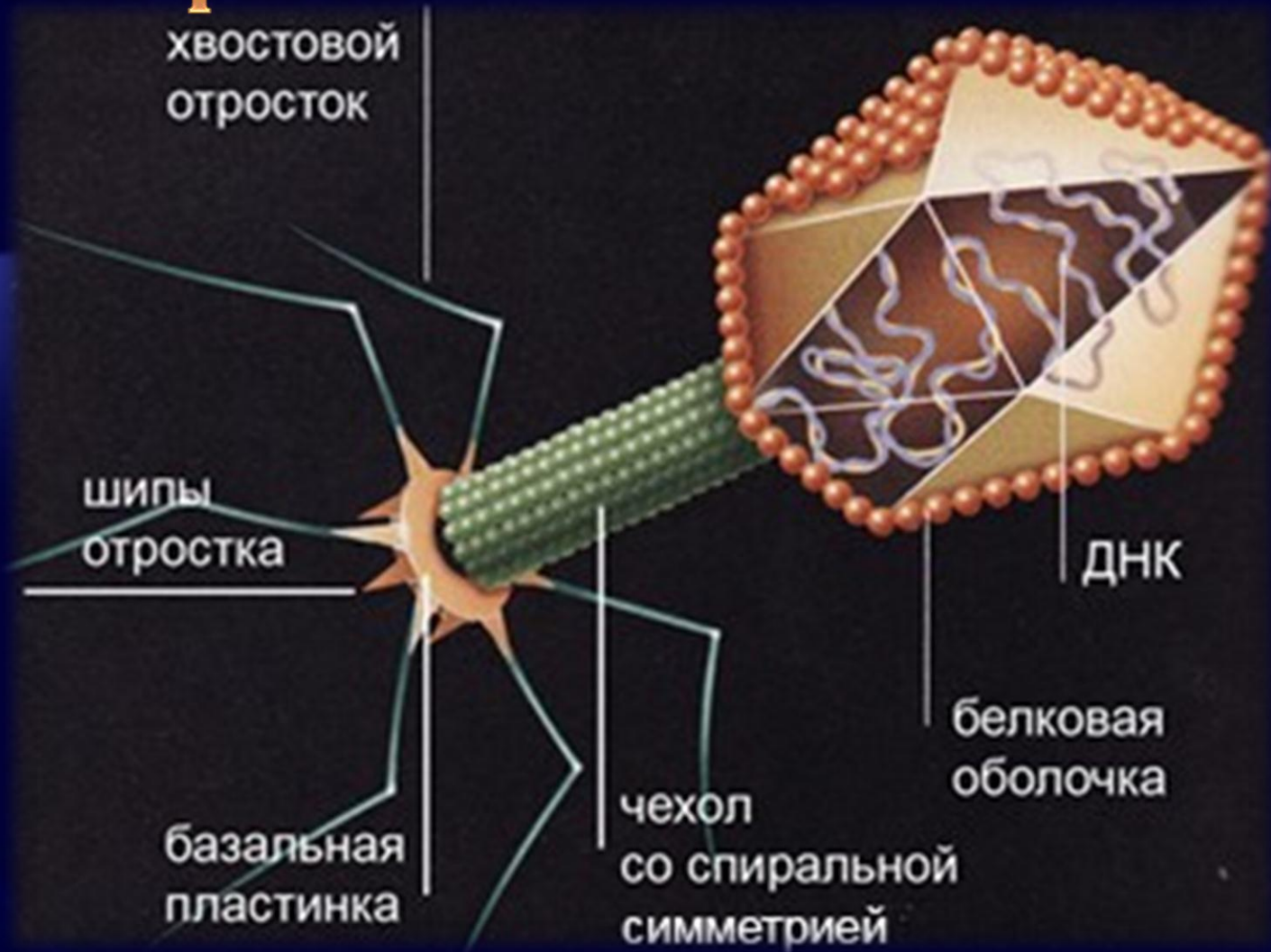
# Морфология фагов

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна

2019



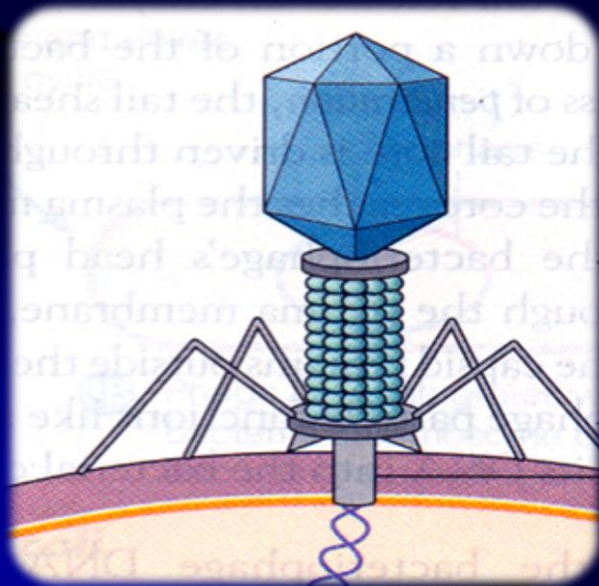
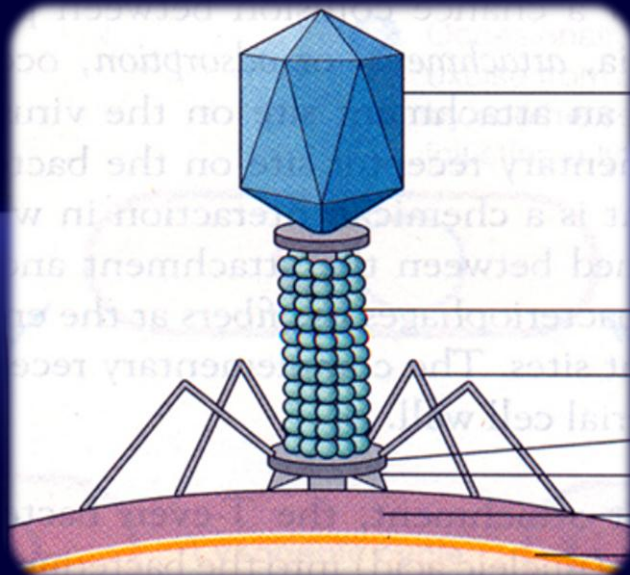
Фаг Т4. Головка фага примерно 100nm в длину и 75nm в ширину (ЭМ)



- ✗ Типичная фаговая частица состоит из «головки» и «хвоста».
- ✗ Головка соответствует плотно упакованному ядру, состоящему из нуклеиновой кислоты, окруженной белковой оболочкой – капсидом.
- ✗ Белковый капсид головки состоит из идентичных субъединиц (капсомеров)



# Структура бактериофага

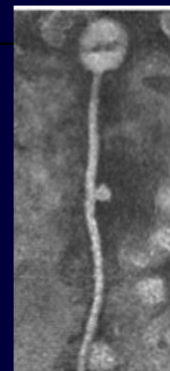
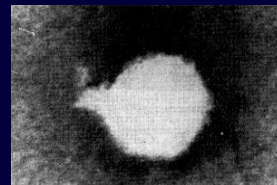
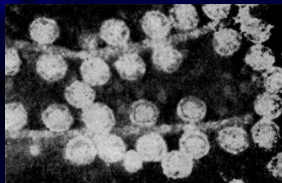
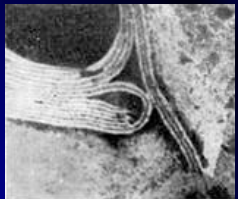


- ✘ В хвостовом отростке фага содержится лизоцим, растворяющий стенку клетки-хозяина; на конце отростка расположены фибриллы, определяющие **специфичность адсорбции**.



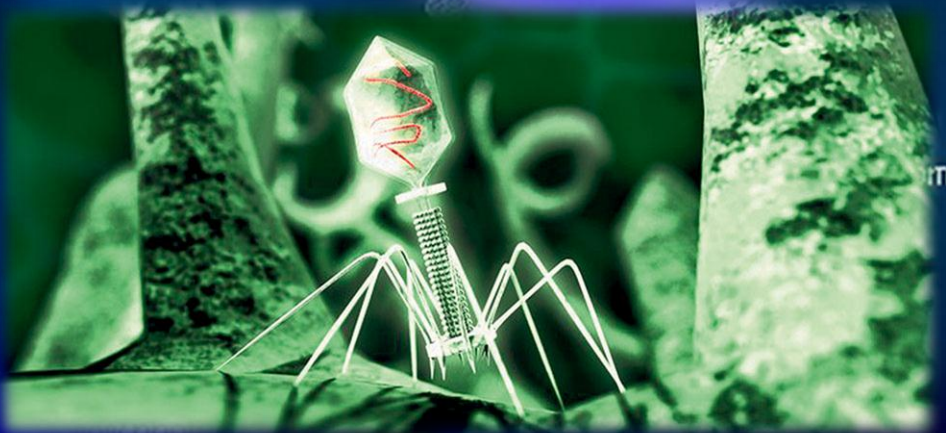
# Морфологические формы фагов

1	2	3	4	5	6
					
Нитевидные (палочковидные)	Без отростка	С аналогом отростка	С коротким отростком	С длинным несокращаю- щимся отростком	С длинным отростком и сокращающимся чехлом



- Подобно другим вирусам, фаги неподвижны.
- Фаги могут существовать в двух формах:
  - внутриклеточной (это профаг, чистая ДНК);
  - внеклеточной (это вирион).

Бактериофаг атакует  
бактерию



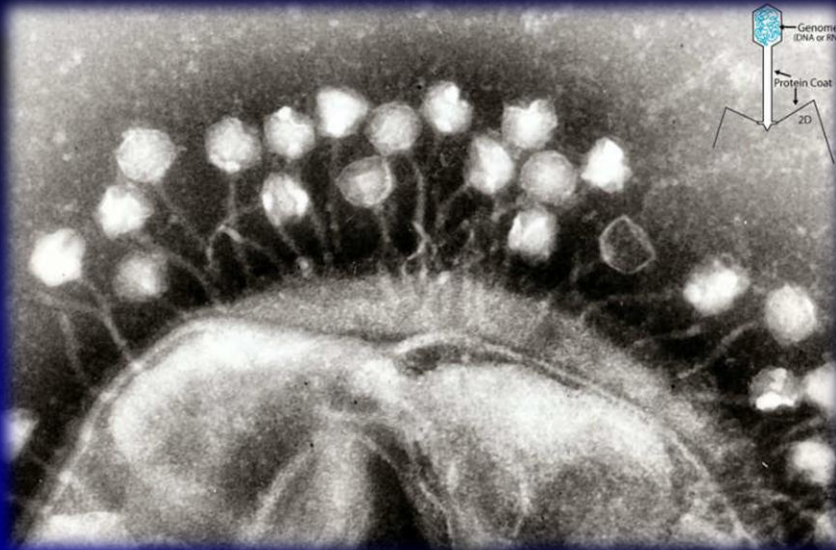
# Типы взаимодействия фага с клеткой

- **Продуктивная инфекция** – образование фагового потомства;
- **Абортивная инфекция** – фаговое потомство не образуется, а бактериальные клетки сохраняют свою жизнедеятельность.
- **Лизогения** – лизогенизация бактериальных клеток инфицирующим фагом, т.е. интеграция генома фага в геном бактериальной клетки.



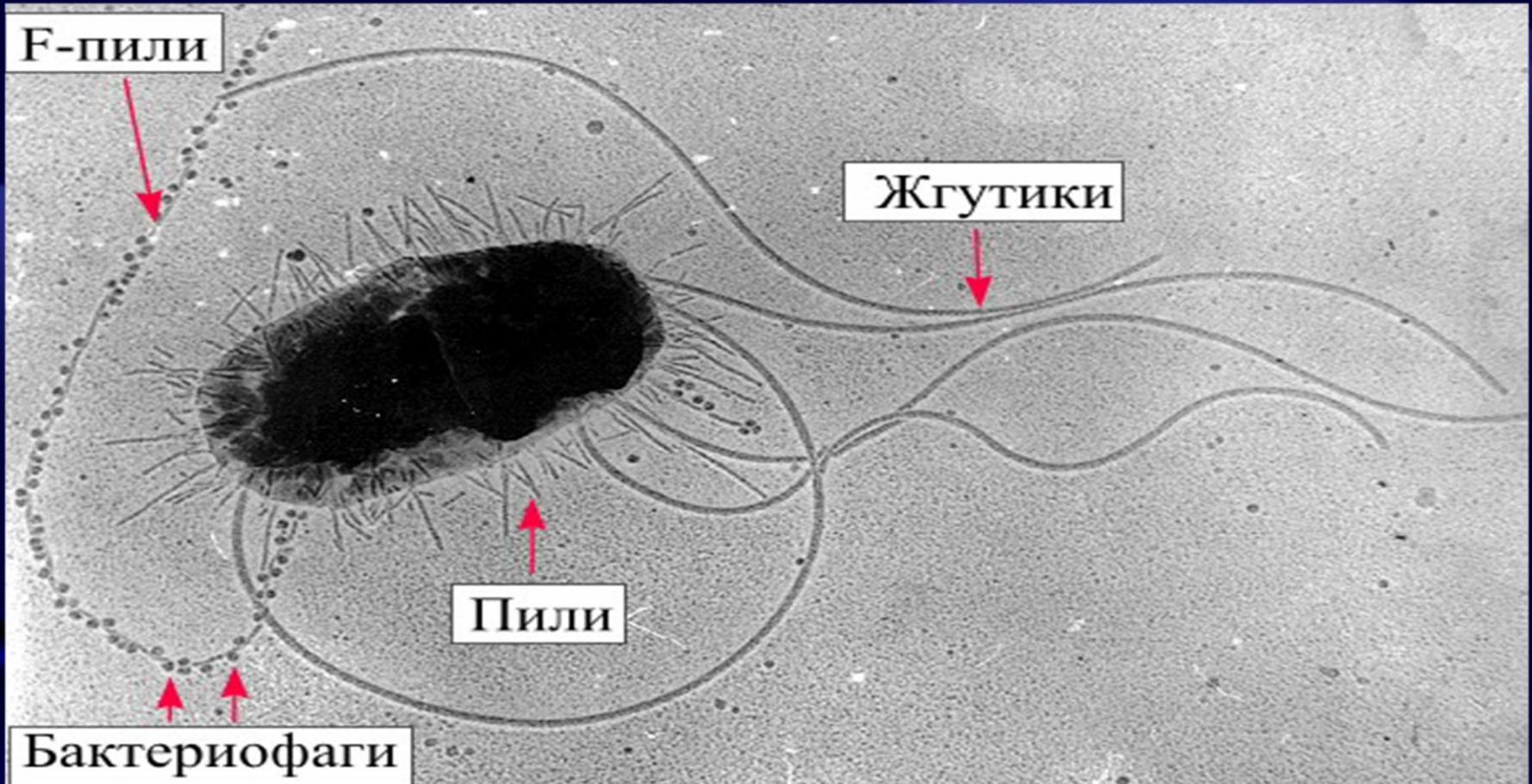
# Стадии продуктивной инфекции

1. **Адсорбция** фага на клеточной стенке бактерии (взаимодействие специфических рецепторов);
2. **Пенетрация** (проникновение) и «раздевание» фага – инъекция фага;
3. **Репликация** фаговой геномной НК и синтез фаговых белков;
4. **Сборка** (морфогенез) вирионов;
5. **Выход** дочерних популяций из клетки:
  - путем отпочковывания (единственный фаг M13), клетка остается жизнеспособной
  - путем лизиса клетки изнутри с помощью лизоцима и последующей гибели клетки (большинство)



Адсорбция бактериофагов на поверхности бактериальной клетки

# Электроннограмма клетки кишечной палочки



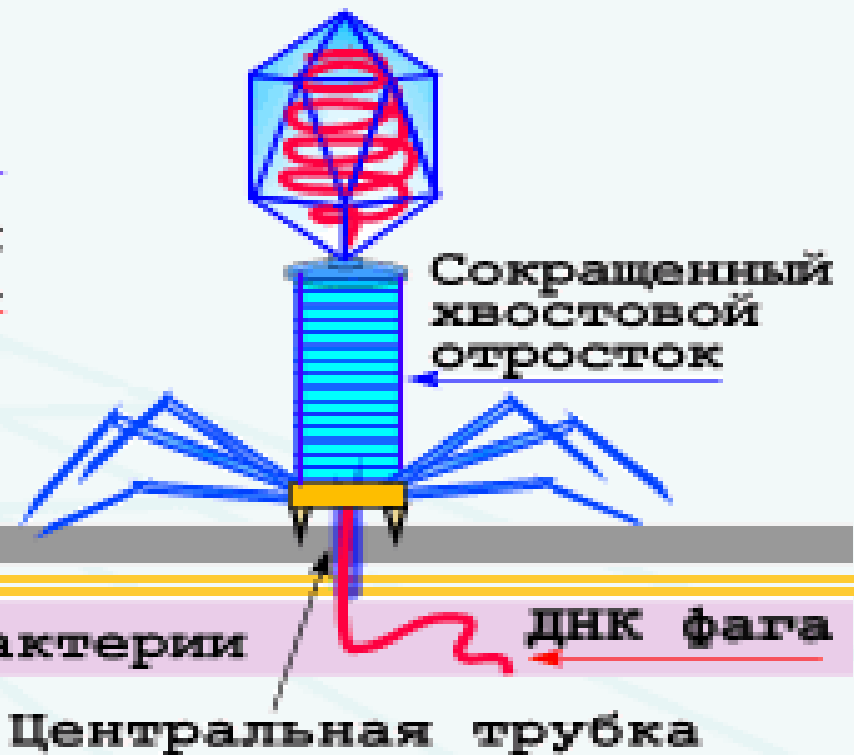
Половая ворсинка (F-пили), на которой адсорбированы сферические бактериофаги.

# Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии.

## Прикрепление фага

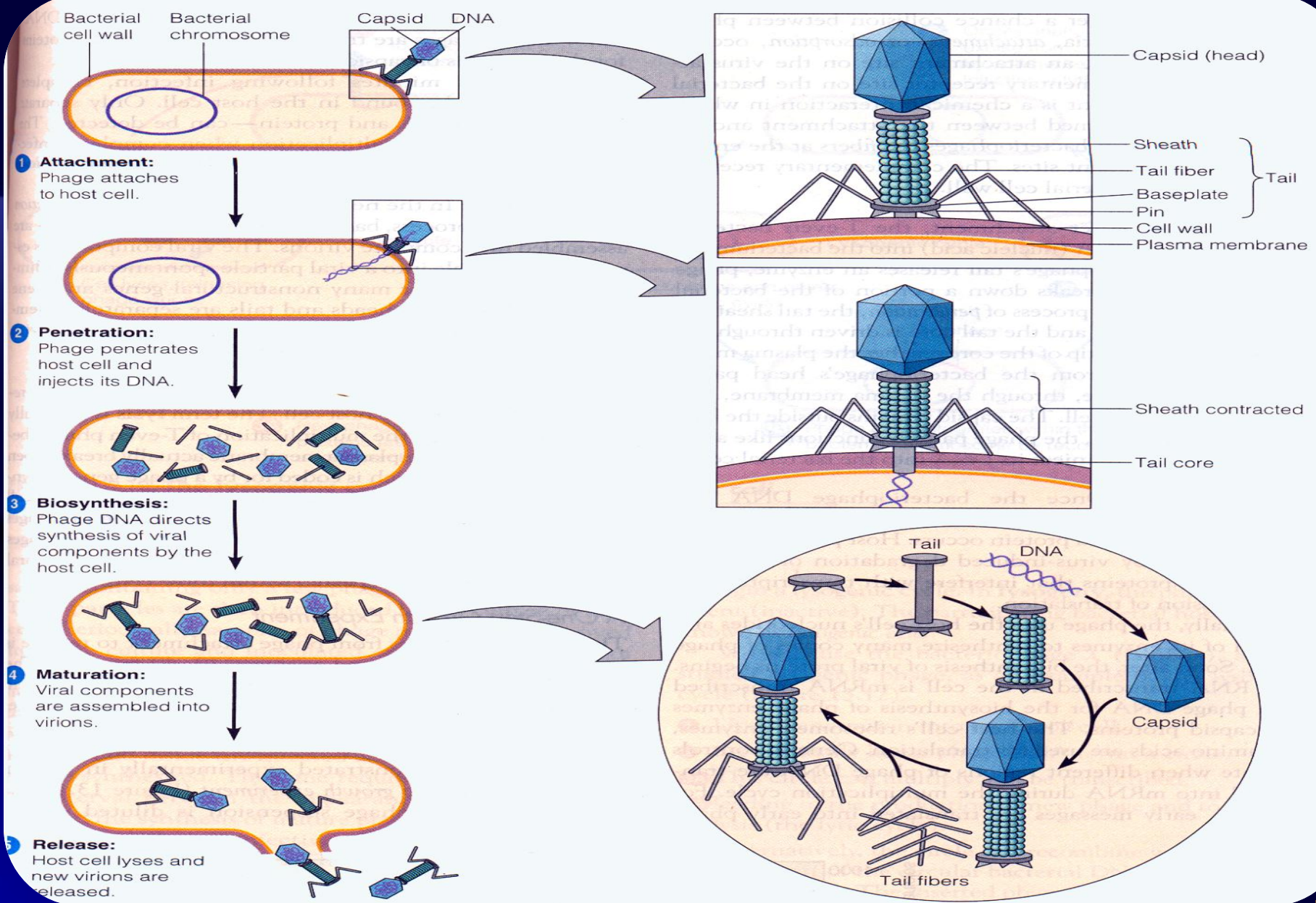


## Инъекция ДНК





# Литический цикл



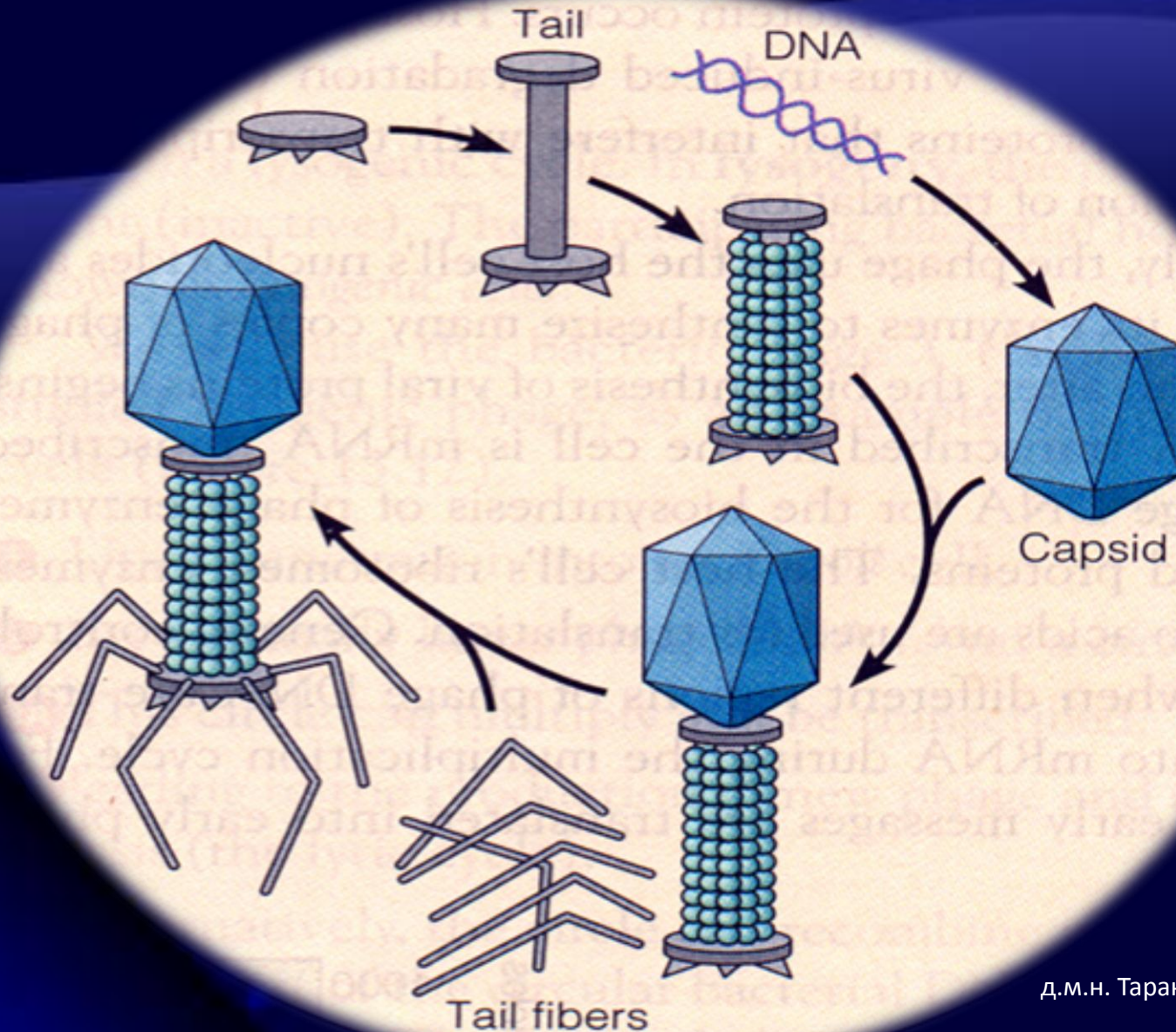
# Репликация фаговой НК

■ Репликация фаговой ДНК протекает в соответствии с общим механизмом репликации. В течение очень короткого периода (минуты) в клетке синтезируется несколько сотен новых фаговых ДНК, которые по мере образования беспорядочно обмениваются генетическим материалом.

## ■ Репликация фаговой РНК.

- После проникновения молекулы вирусной **РНК** в цитоплазму клетки-хозяина, она опознается рибосомами как информационная.
- Рибосомы связываются с ней и синтезируют на этой РНК вирусные белки, в том числе фермент РНК-репликазу (РНК-зависимую РНК-полимеразу). Этот фермент осуществляет репликацию вирусной РНК

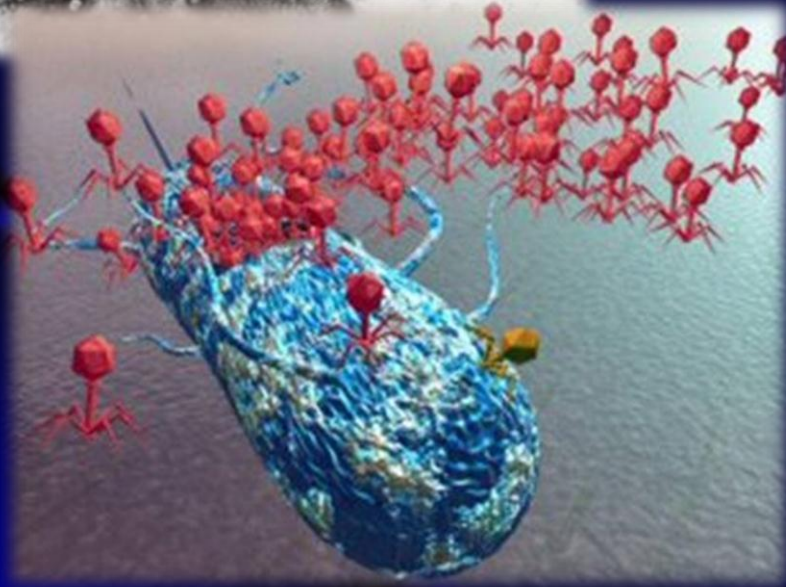
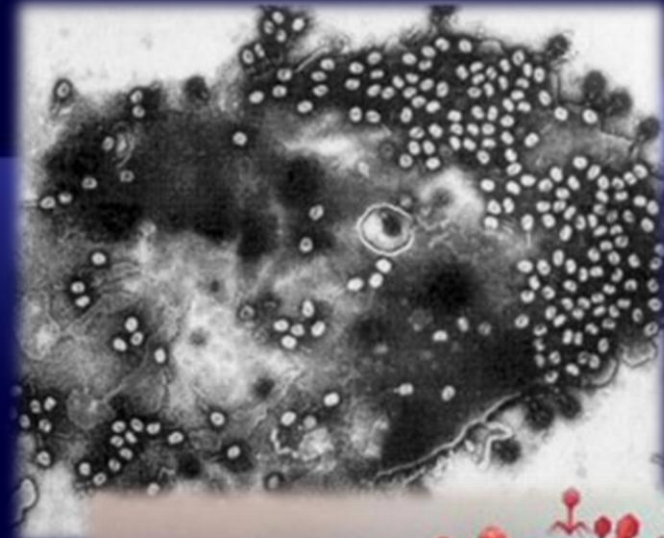
# Морфогенез фага



д.м.н. Таран Татьяна Викторовна

# Высвобождение зрелых вирионов

- Фермент (фаговый лизоцим) воздействует на пептидогликановый слой стенки бактериальной клетки, гидролизуя связи между остатками сахара в цепях остова слоя
- В результате стенка становится все менее прочной, размягчается и, в конце концов, разрывается, а фаговое потомство выходит вместе с остальным содержимым клетки в окружающую среду.



# Выход нитевидных фагов fd путем почкования



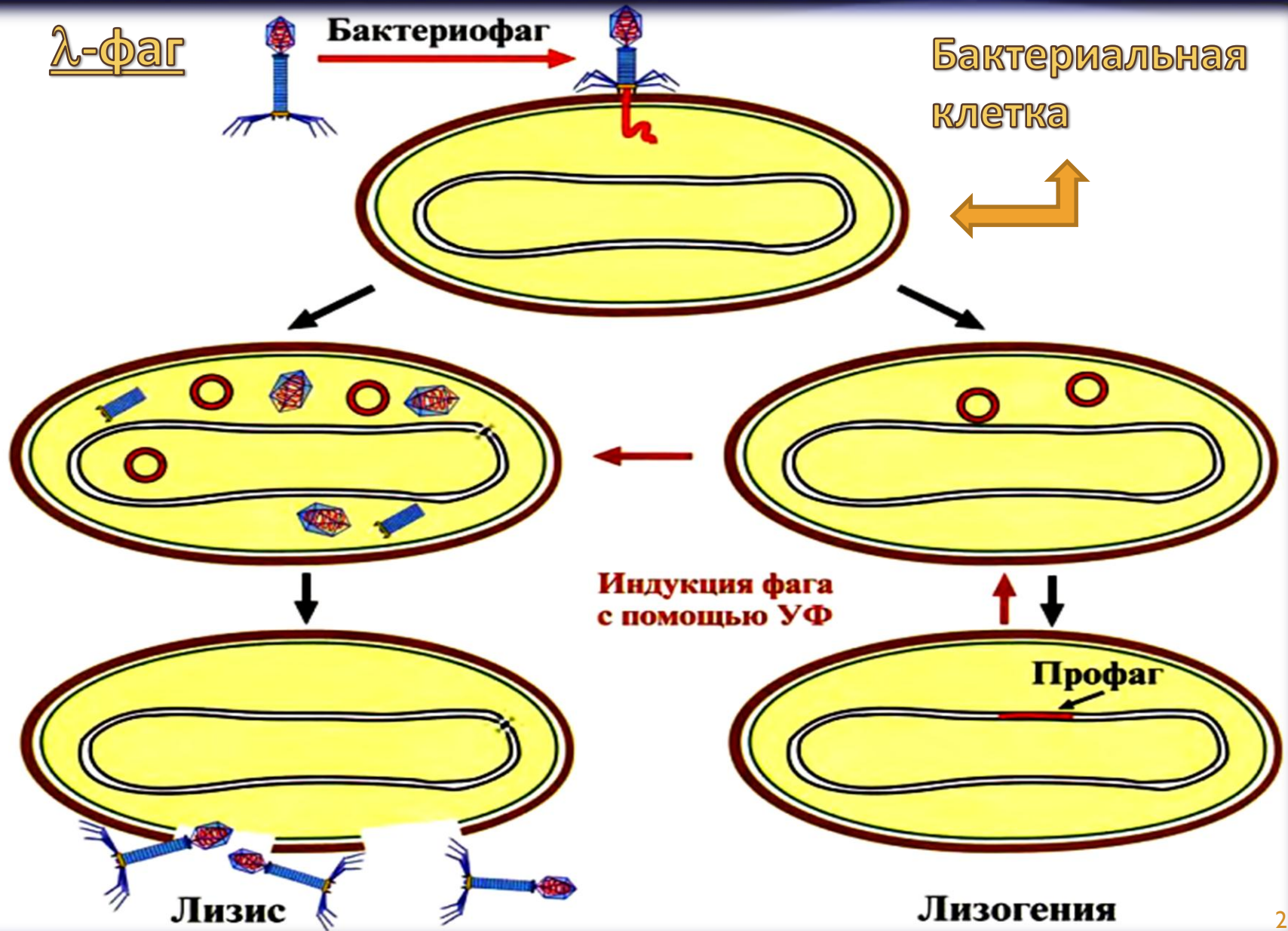
- Новосинтезированные фаговые белки располагаются не в цитоплазме, а на ЦПМ.
- Созревание фага и его высвобождение происходит в результате того, что фаговая ДНК выталкивается из клетки и во время прохождения через мембрану соединяется с белком оболочки.
- Во время этого процесса высвобождения фаговых частиц клетка-хозяин остается жизнеспособной и продолжает расти и развиваться.



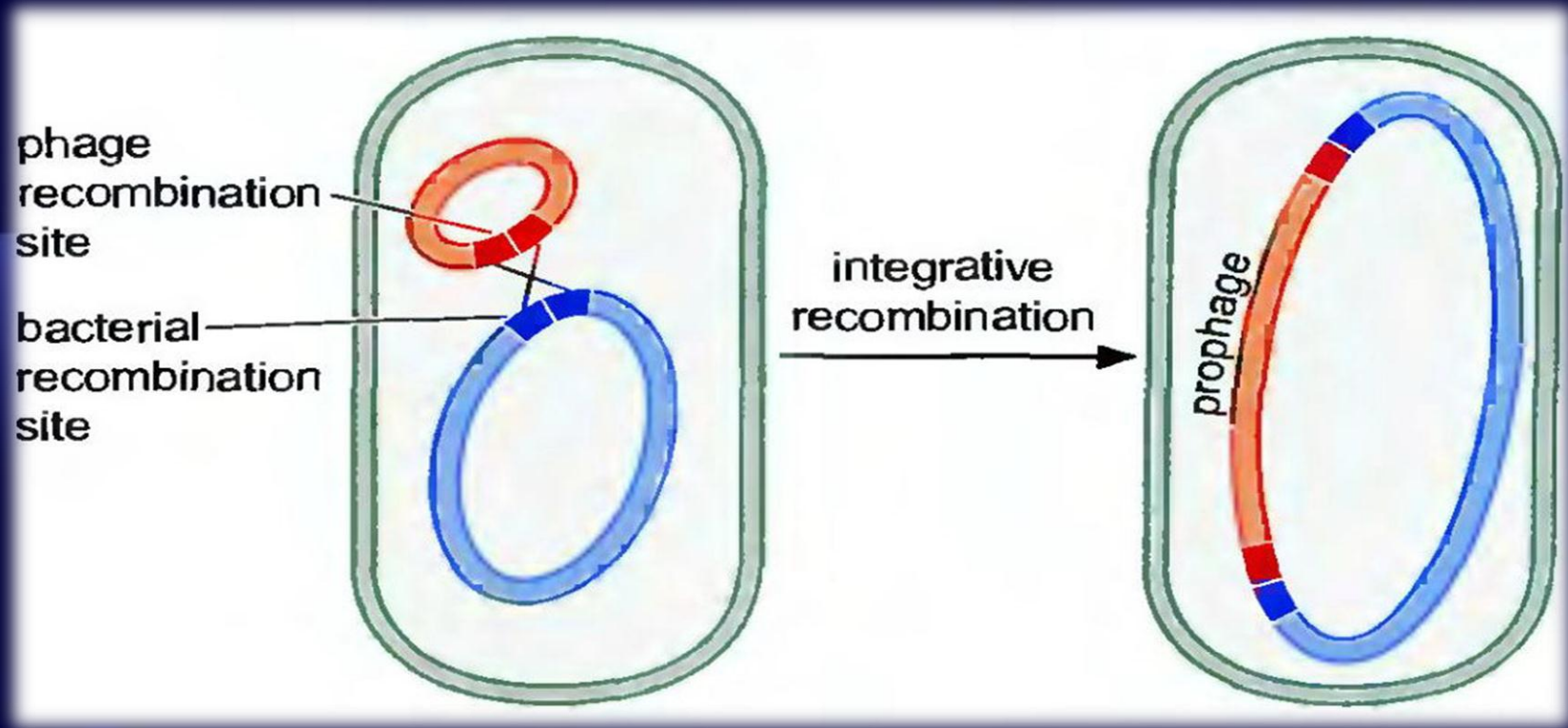
Высвобождение из клетки потомства нитевидных фагов.



# Пути развития умеренного фага лямбда



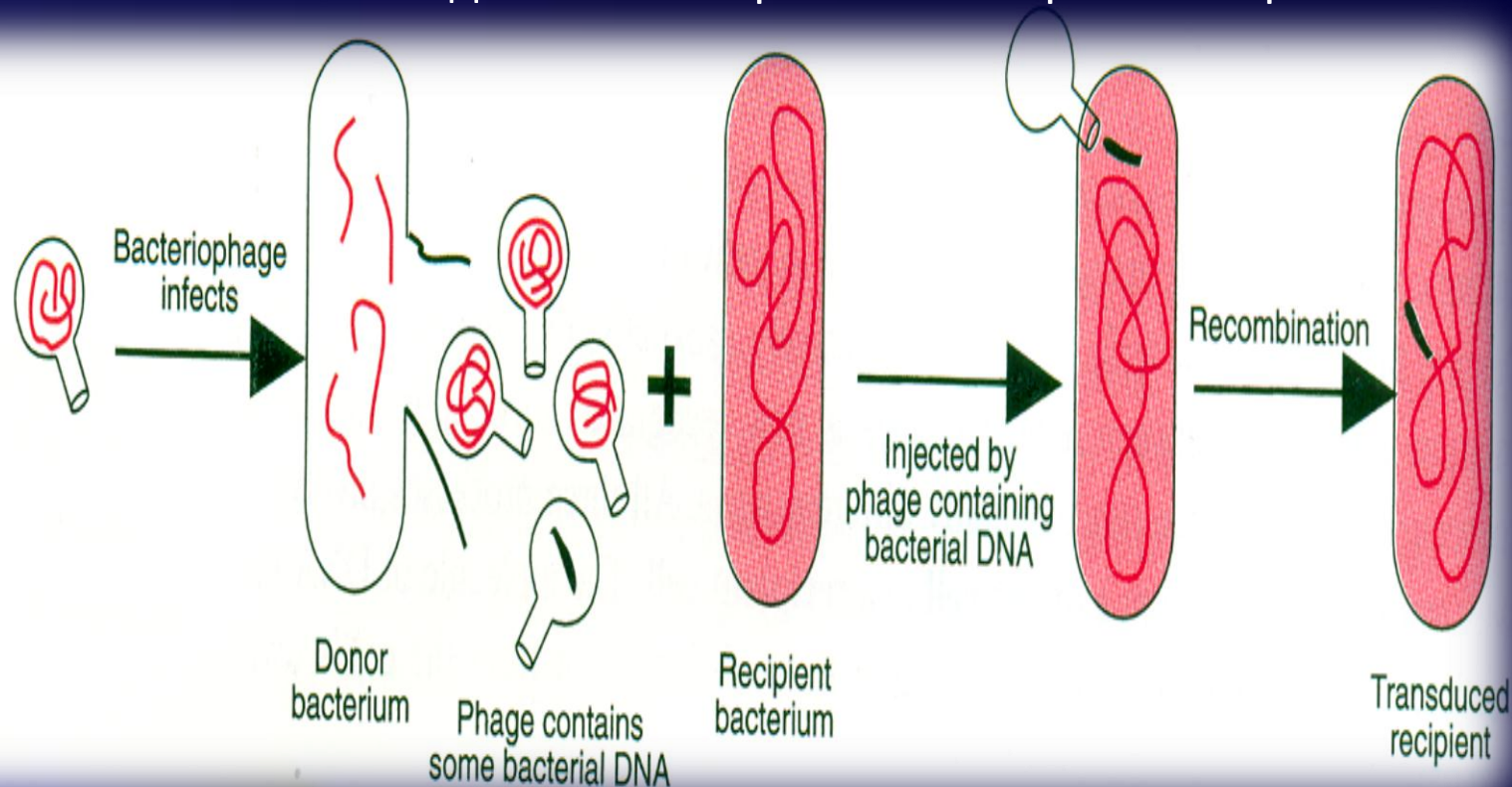
# Лизогения $\lambda$ -типа



- ✘ Профаг  $\lambda$  прикреплен к бактериальной хромосоме и реплицируется синхронно с ней.
- ✘ При клеточном делении каждая дочерняя хромосома получает бактериальную хромосому вместе с прикрепленным к ней профагом  $\lambda$ .

# Трансдукция (перенос)

- ✘ При размножении определенных умеренных фагов на чувствительных к ним культурах фаговая частица захватывает какой-нибудь фрагмент генетического материала данной клетки. При воздействии этим же фагом на другую чувствительную к нему культуру он передает новой культуре захваченный фрагмент.
- ✘ При трансдукции фаг играет роль механического переносчика; лизогенизация клетки не обязательна. Один и тот же фаг может переносить разные свойства.



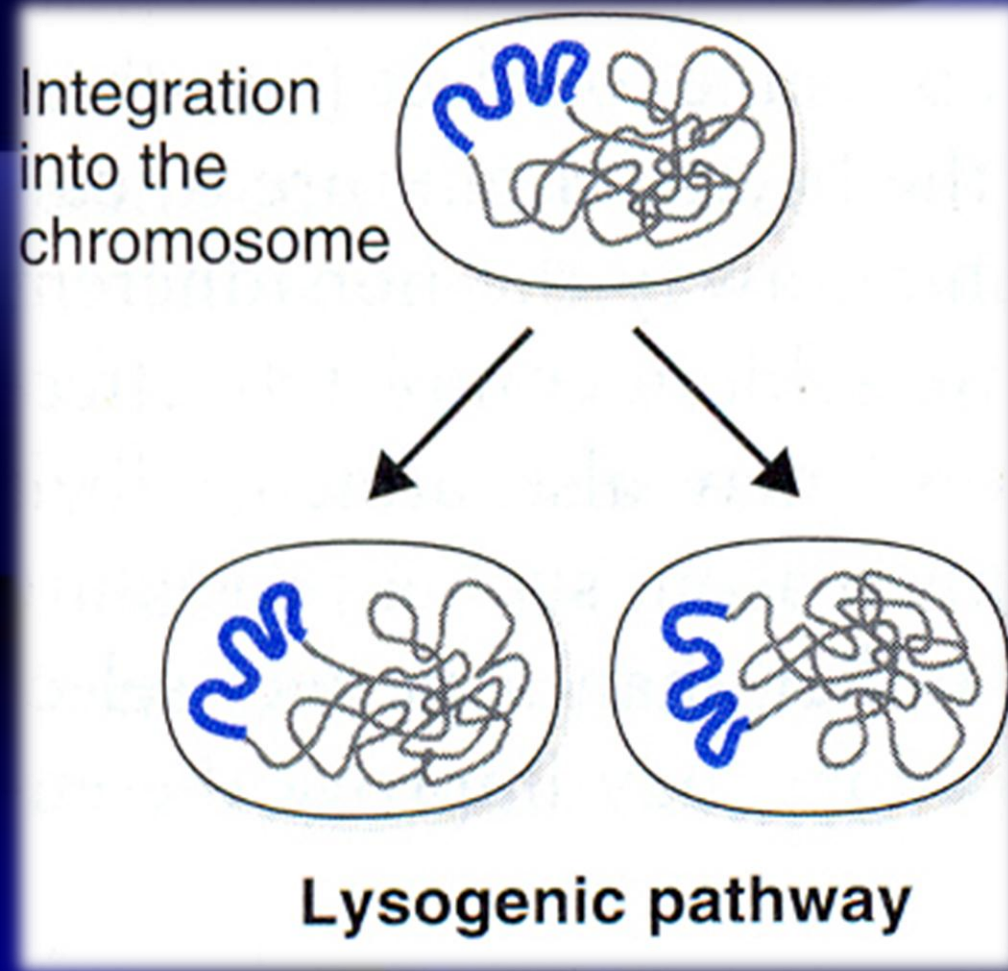


# Лизогенные конверсии (превращения)

- ✗ В отличие от трансдукции, при которой фаг выступает в роли механического переносчика генетического материала, при **лизогенизации** сам фаг (вернее, его нуклеиновая кислота) является тем генетическим материалом, который в виде профага придается генетическому материалу клетки. Поэтому при лизогенизации не имеет значения культура, на которой ранее размножался данный умеренный фаг.



# Профаг $\lambda$



- ✘ Профаг придает бактерии новые свойства, что получило название фаговой конверсии (лат. *conversio* – превращение).
- ✘ Конвертироваться могут морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие свойства бактерий. Например, наличие профага в дифтерийной палочке обуславливает ее способность продуцировать дифтерийный экзотоксин.

# Лизогения $\lambda$ -типа

- Наличие профага в составе бактериальной хромосомы не мешает репликации ДНК бактериальной клетки и самого профага. Однако гены профага, встроенные в клеточную ДНК, не транскрибируются.
- Это связано с образованием в бактериальной клетке репрессора – низкомолекулярного белка, блокирующего считывание генетической информации, записанной в фаговой ДНК. Синтез репрессора контролируется генами профага.
- При инактивации репрессора УФ-лучами профаг выходит из состава бактериальной хромосомы и превращается в вегетативный фаг, который вызывает продуктивную инфекцию, заканчивающуюся лизисом клеток хозяина.

# Лизогения Р1-типа

- Многие бактериофаги, из которых лучше всего изучен фаг Р1, отличаются от фагов группы  $\lambda$  **локализацией в клетке своего генома**.
- Профаг Р1 имеет внехромосомную локализацию, он прикрепляется к клеточной мембране (ЦПМ).
- Литическое действие предотвращается действием фагового репрессора, точно так же, как это происходит в случае лизогении фагами типа  $\lambda$ .

# Дефектные умеренные фаги

- ✘ Умеренные фаги могут быть дефектными, т.е. неспособными к образованию зрелых фаговых частиц ни в естественных условиях, ни под влиянием индуцирующих агентов.
- ✘ Такого рода фаги осуществляют трансдукцию и используются в генной инженерии.



Дефектные фаговые частицы *Actinomyces streptomycini* - продуцента антибиотика стрептомицина

# Специфичность фагов

По степени специфичности фаги могут быть разделены на три группы:

- **полифаги** – активные в отношении нескольких родственных видов бактерий;
- **монофаги** – фаги, лизирующие микробы одного вида;
- **типовые** фаги – способные лизировать только определенные типы данного вида бактерий.

# Практическое использование бактериофагов

- 1. Для идентификации бактерий (определение фаготипа) с целью выявления источника инфекции.
- 2. Для фагопрофилактики (купирование вспышек).
- 3. Для фаготерапии (лечение дисбактериозов, наружная обработка гнойно-воспалительных поражений стафилококковой этиологии и др.).
- 4. Для оценки санитарного состояния окружающей среды и эпидемиологического анализа.
- 5. В генной инженерии и биотехнологии в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК.



# Фаготипирование бактерий



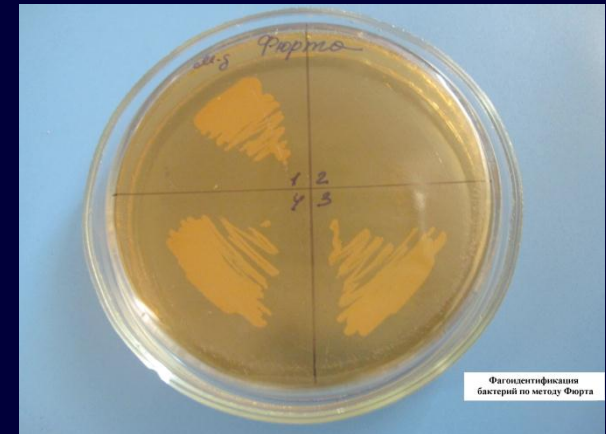
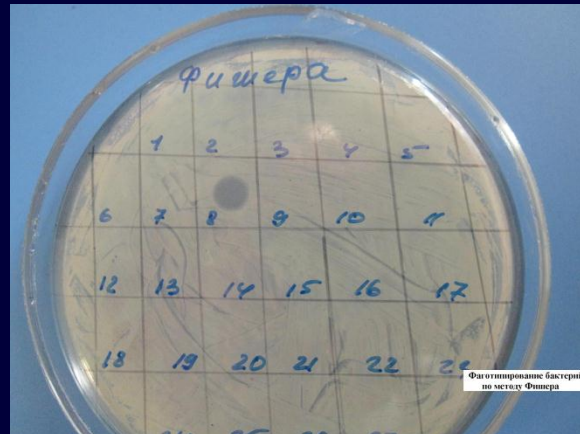
- ✘ На засеянные "газоном" стафилококки наносятся капли взвеси стафилококковых бактериофагов. Через сутки инкубации в термостате видны стерильные зоны отсутствия роста бактерий (стерильные "бляшки") в результате размножения бактериофагов, вызывающих лизис этих бактерий.



# Фаговые препараты

- ✗ Выпускаются отечественные препараты дизентерийного, сальмонеллезного, коли-протейного, стафилококкового и др. фагов, а также наборы фагов для фаготипирования бруцелл, брюшнотифозных бактерий, и многих других видов бактерий.

## Различные методы фаготипирования



# Перспективы фаготерапии

## Преимущества Бактериофагов

- действуют лишь на определенные бактерии,
- не нарушают баланса высшего организма,
- постоянно эволюционируют,
- не вызывают побочных эффектов,
- не ослабляют иммунитет,
- не развивают устойчивость бактерий



# Фаготерапия



## Альтернатива антибиотикам

- ✘ бактериофаги способны уничтожать бактерии, устойчивые к антибиотикам,
- ✘ усложняют выработку бактерией механизма устойчивости,
- ✘ хорошо проникают в ткани организма человека и животного,
- ✘ не подавляют рост нормофлоры,
- ✘ не вызывают побочных эффектов,
- ✘ сочетаются с любыми лекарственными препаратами, оказывают иммуностимулирующее действие.

# Антигенные свойства фагов

- ✘ Бактериофаги содержат группоспецифические и типоспецифические антигены, обладают иммуногенными свойствами, вызывая синтез специфических антител в организме.
- ✘ Антитела, взаимодействуя с бактериофагами, могут нейтрализовать их литическую активность против бактерий.
- ✘ По типоспецифическим антигенам фаги делят на серотипы.
- ✘ На агаре, к которому добавлена антифаговая сыворотка, зараженные фагом бактерии дают нормальный рост.





**Благодарю  
за внимание!**



**Благодарю за  
внимание!**