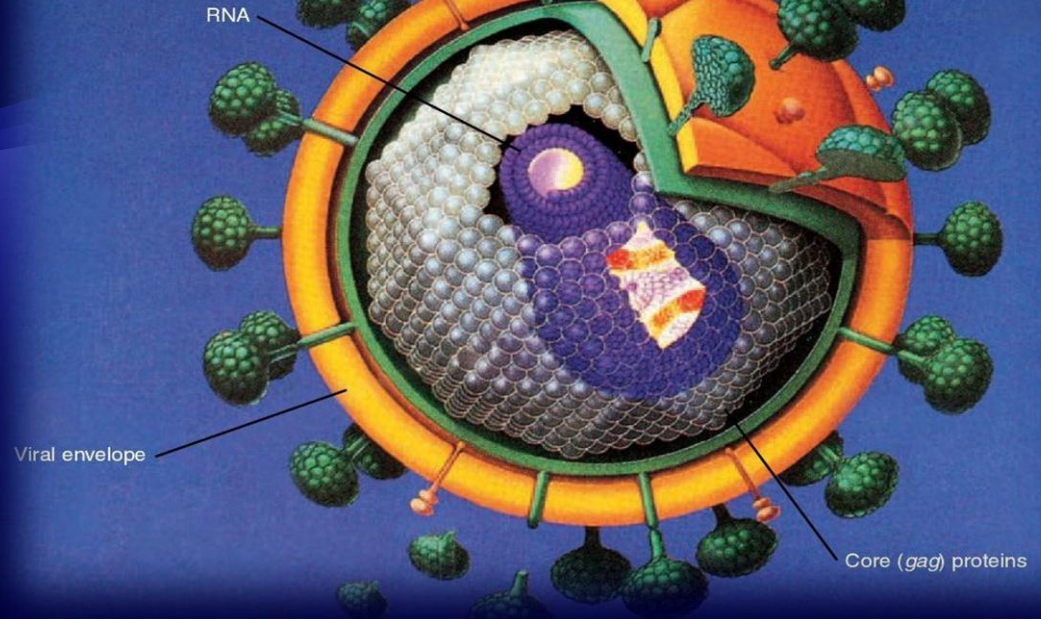


Бактериофаг Т4

HUMAN  
IMMUNODEFICIENCY  
VIRUS



# Общая вирусология

(принципы классификации и номенклатуры, морфология и структура вириона, формы взаимодействия вируса с клеткой; репродукция вирусов; культивирование вирусов и фагов)



- Вирусы – неклеточная форма существования живой материи, обладающая собственным геномом и способностью к саморепродукции в клетках живых организмов
- В отличие от паразитов клеточного строения (бактерии, грибы) вирусы паразитируют на **генетическом** уровне – не имея собственного метаболизма, они внедряют в клетку хозяина свой генетический материал, который **направляет метаболизм клетки на репродукцию вирусных частиц.**

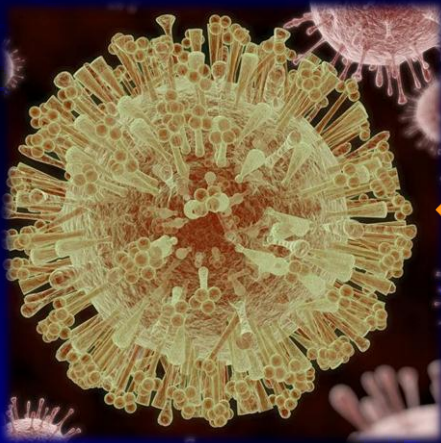


**«У инфекций – свои законы: они появляются и исчезают, и в точности предсказать развитие эпидемий мы пока не в состоянии. Мир микробов разгадан нами лишь на 1–2%. Остальное – загадка»**

**Виктор Малеев,**  
академик РАН, заместитель директора по научной работе Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора

# Отличия вирусов от клеточных микроорганизмов

- вирусы не имеют клеточного строения;
- содержат только один тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК);
- облигатные внутриклеточные (генетические) паразиты;
- воспроизводятся только за счет одной НК, а не за счет своих составных частей.
- не способны к росту и размножению путем бинарного деления; реплицируются **дизъюнктивным** способом;
- лишены собственных систем метаболизма; для синтеза собственных компонентов используют белоксинтезирующие и энергетические системы клетки-хозяина;



Вирус Зика



- Вирусам присущи две качественно разные формы существования – внеклеточная и внутриклеточная.
- **Внеклеточная** форма представлена в виде покоящейся инфекционной частицы – вириона;
- **Внутриклеточная** форма может быть в виде:
  - реплицирующейся молекулы нуклеиновой кислоты,
  - или нуклеиновой кислоты, включенной в геном клетки-хозяина и образующей комплекс «вирус-клетка».



# Основные критерии классификации вирусов

В основу современной классификации вирусов положены следующие основные критерии:

- Тип нуклеиновой кислоты
- Наличие липопротеидной оболочки
- Размер и морфология вириона, тип симметрии, число капсомеров
- Круг восприимчивых хозяев
- Патогенность
- Географическое распространение
- Способ передачи
- Антигенные свойства
- и др.



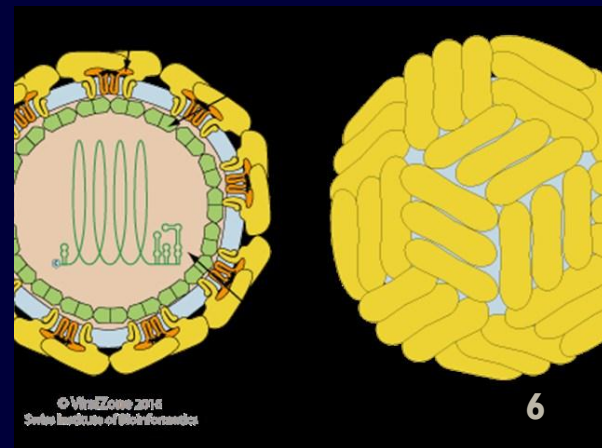
# Номенклатура вирусов животных и человека:

- Царство – *Vira*
- семейства – *viridae* (всего 19 семейств)
- подсемейства – *virinae*
- роды – *virus*
- ТИПЫ

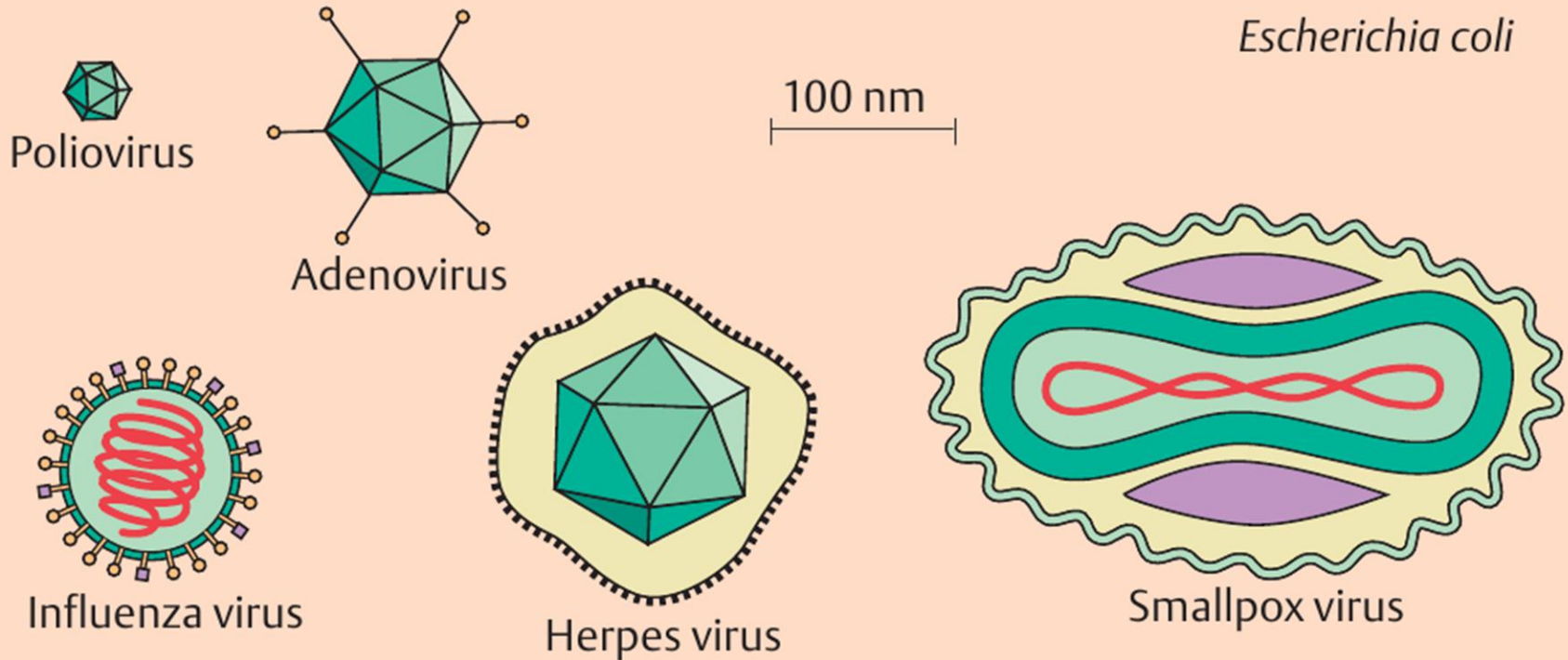
Современная классификация распределяет вирусы человека и животных на 19 семейств:

- 7 семейств – **ДНК**-содержащие вирусы
- 12 семейств – **РНК**-содержащие вирусы.

Строение вируса Зика



# Размеры некоторых вирусов в сравнении с клеткой *E. coli*



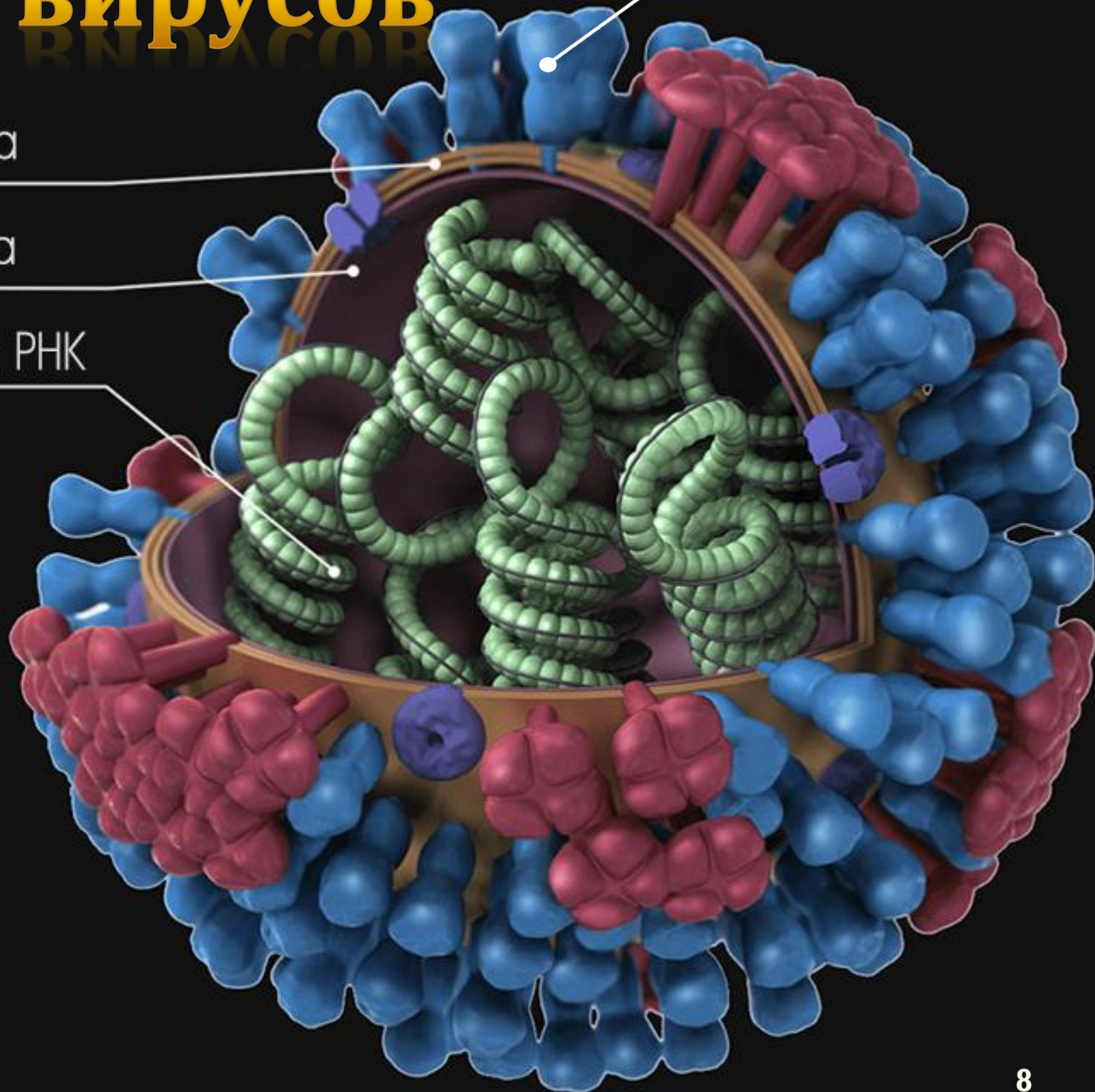
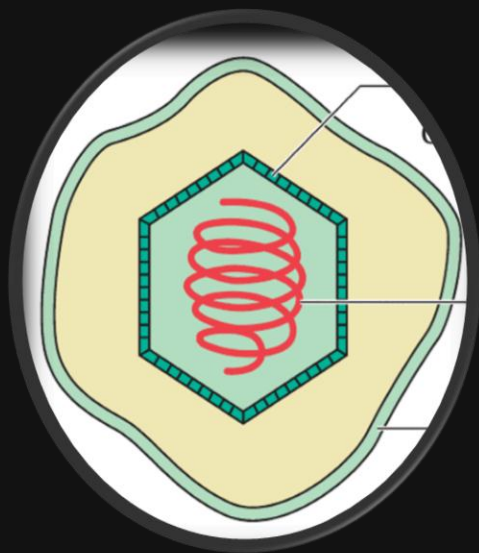
# Строение вирусов

4. гликопротеины

3. липидная оболочка

2. белковая оболочка

1. молекулы ДНК или РНК

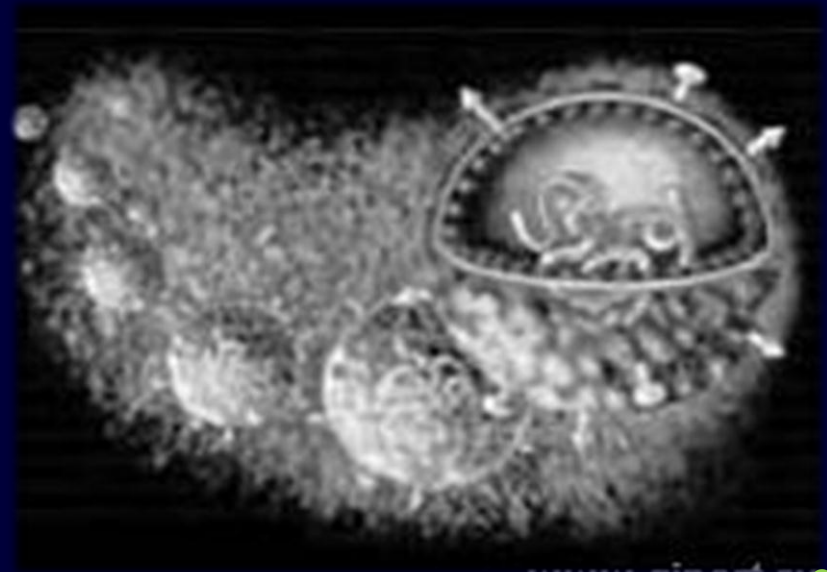
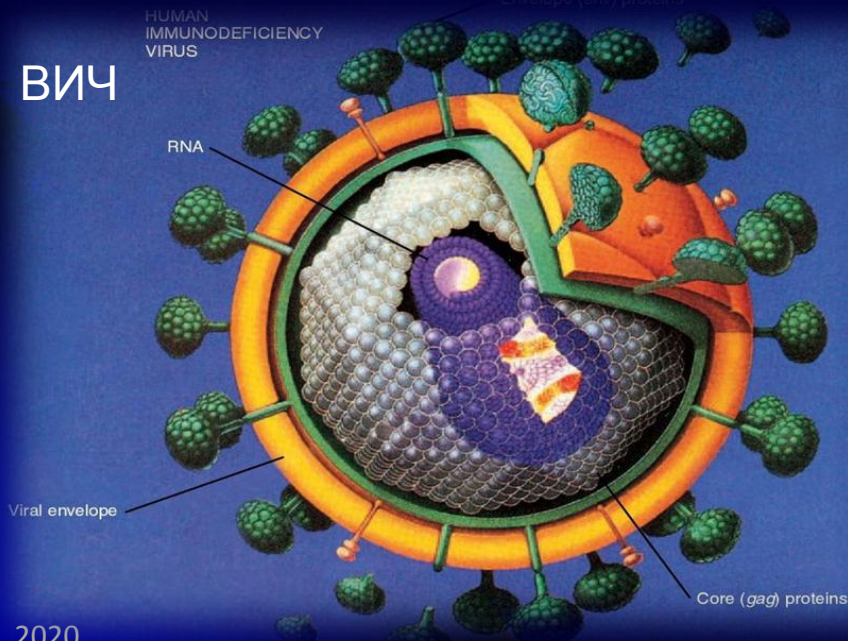






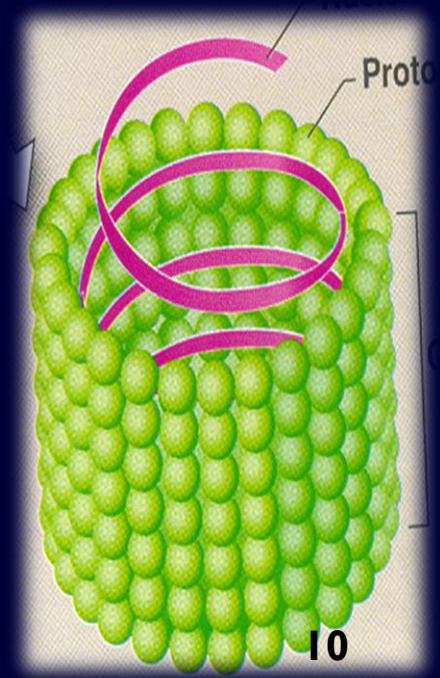
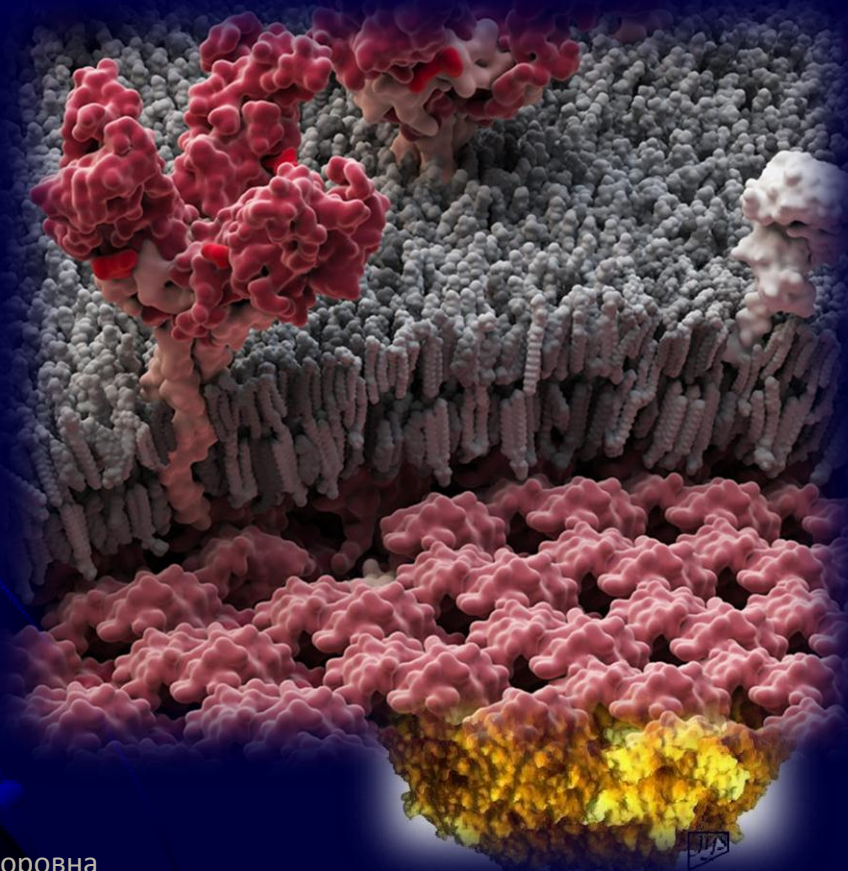
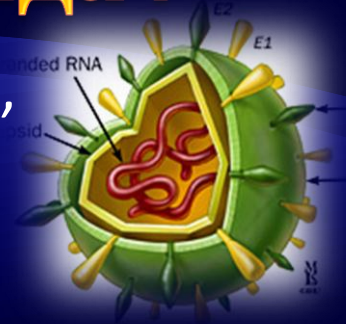
- ◆ Просто организованные вирусы – нуклеопротеиды или нуклеокапсиды. Состоят из нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК) и нескольких кодируемых ею белков, которые формируют вирусную оболочку – капсид.
- ◆ Сложно организованные вирусы – содержат дополнительные наружные оболочки – суперкапсид и имеют более сложный хим. состав (белки, липиды, гликопротеиды в суперкапсиде).

ВИЧ



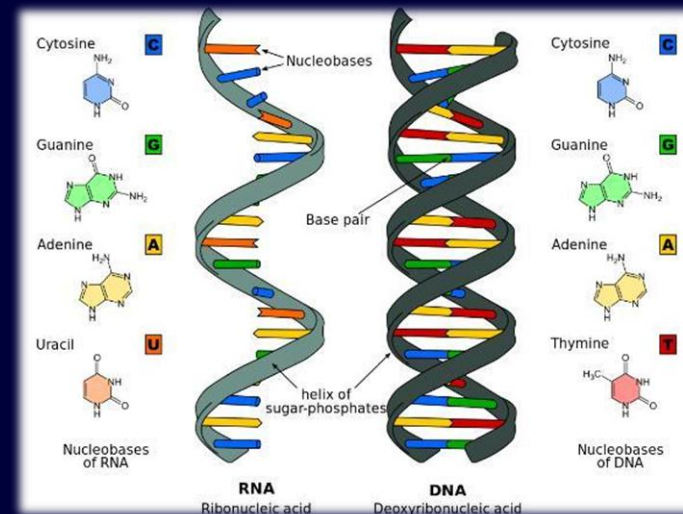
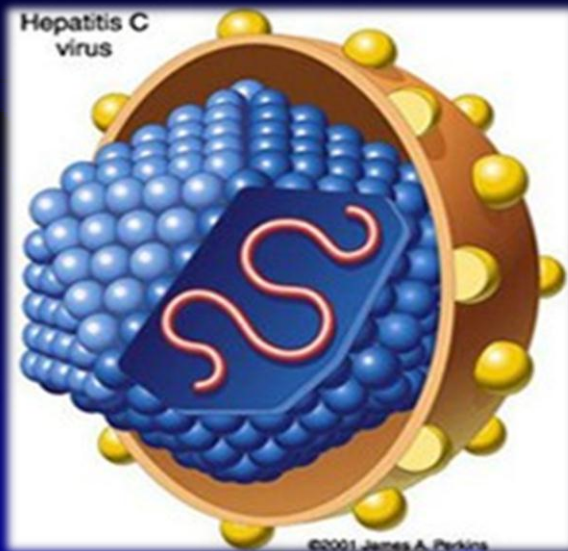
# Функции капсида и суперкапсида :

- ◆ защита вириона от воздействия окружающей среды,
- ◆ избирательное взаимодействие (адсорбцию) с определенными клетками хозяина,
- ◆ антигенность и иммуногенность вирионов.



# Генетический материал вирусов

- Около 80 % вирусов человека и животных содержит РНК-геном.
- Способность РНК хранить наследственную информацию - уникальная особенность вирусов.
- Вирусы обычно гаплоидны, т.е. имеют один набор генов (исключением являются ретровирусы, имеющие диплоидный РНК-геном).
- Геном вирусов содержит от шести до нескольких сотен генов и представлен различными видами НК: двунитевыми, однонитевыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными.



# Примеры полиморфизма вирусных НК

5' ————— 3'

Линейная одноцепочечная (парвовирусы)



Кольцевая одноцепочечная (фаг ØX174)



Линейная двухцепочечная (многие фаги и вирусы животных)



Линейная двухцепочечная с разрывами в одной цепи (фаг T5)



Замкнутая кольцевая двойная спираль (паповавирусы, фаги) и другие формы.

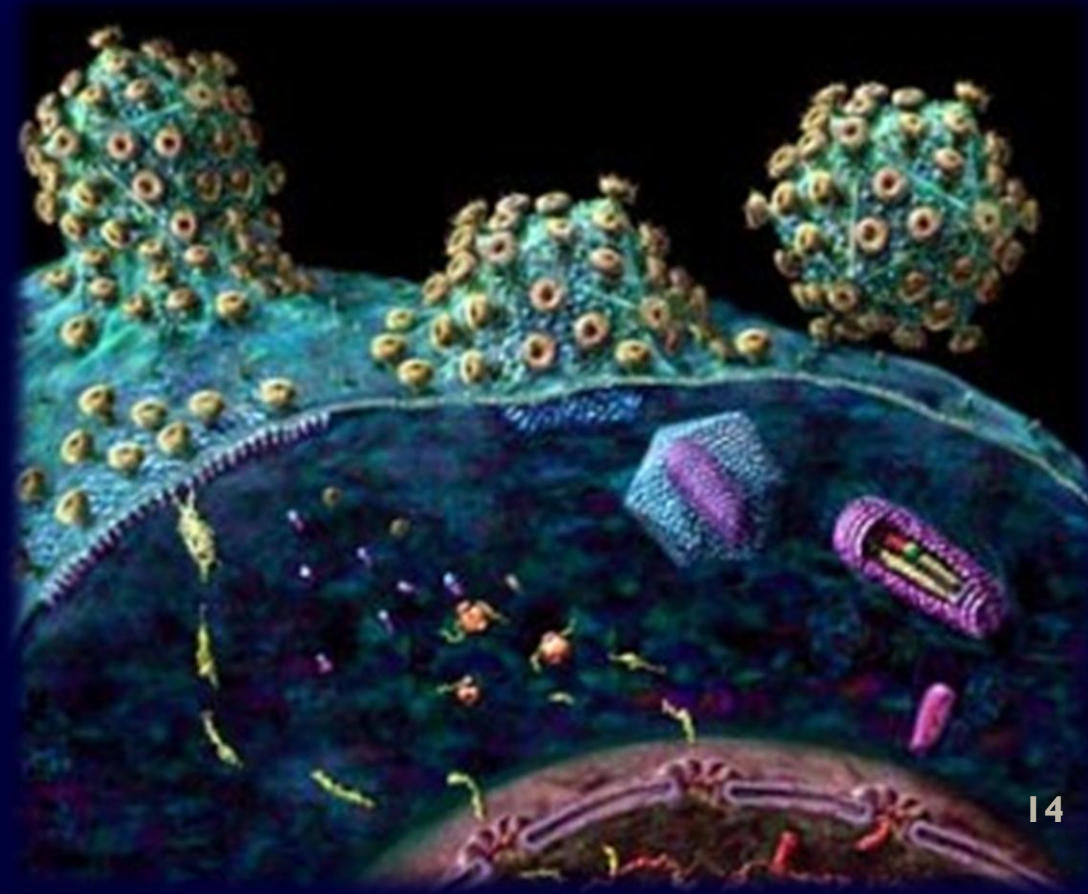
РНК-вирусы содержат неодинаковые по функциям геномные одноцепочечные РНК:

- ♦ **«Плюс»-цепи** РНК выполняют функцию **информационной РНК** и **служат матрицей для трансляции** – это вирусы с позитивным геномом. Для инфицирования достаточно только (+)РНК;
- ♦ **«Минус»-цепи** РНК содержит группа вирусов с негативным геномом. РНК этих вирионов не обладает инфекционностью, т.к. минус-цепь РНК в отсутствие фермента РНК-репликазы не способна к трансляции (и репликации). Этот фермент содержится в самом вирионе. Для проявления инфекционности необходимо инфицирование клетки-хозяина *целостным вирионом*.

# Типы взаимодействия вирусов с клеткой хозяина

- Продуктивная инфекция;
- Абортивная инфекция;
- Интегративная инфекция

Проникновение вируса гриппа в клетку



# Абортивный тип взаимодействия

Не завершается образованием вирусного потомства. Причиной может быть:

- заражение чувствительных клеток дефектными вирусами или дефектными вирионами;
- заражение стандартным вирусом генетически резистентных к нему клеток;
- заражение стандартным вирусом чувствительных клеток в непермиссивных (неразрешающих) условиях.

# Интегративный тип взаимодействия (виrogenия)

- Характерен для онкогенных вирусов, некоторых инфекционных вирусов (ДНК- и РНК-содержащих), умеренных ДНК-содержащих бактериофагов.
- Встроенная в хромосому клетки ДНК вируса называется **провирусом**, или провирусной ДНК.
- Провирус реплицируется в составе клеточной хромосомы и переходит в геном дочерних клеток, т. е. состояние виrogenии наследуется.



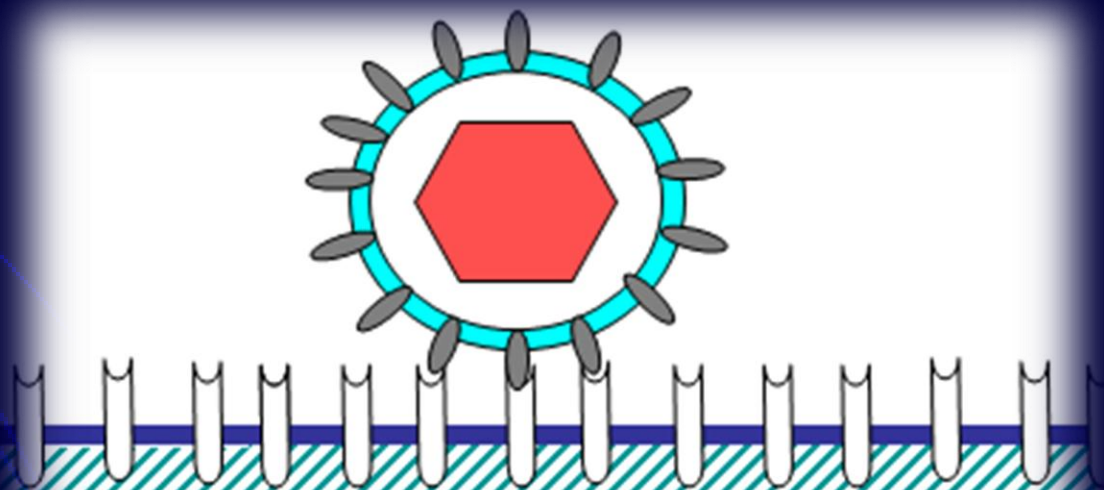
# Продуктивный тип взаимодействия – репликация вируса

Репродукция вируса в клетке проходит  
в 6 стадий:

- 1) адсорбция вирионов на клетке;
- 2) проникновение вируса в клетку;
- 3) «раздевание» и высвобождение вирусного генома (депротеинизация вируса);
- 4) синтез вирусных компонентов;
- 5) формирование вирусов;
- 6) выход вирионов из клетки.

**1. Адсорбция** – обеспечивается электростатическим взаимодействием специфических прикрепительных белков вируса и рецепторов мембран клетки.

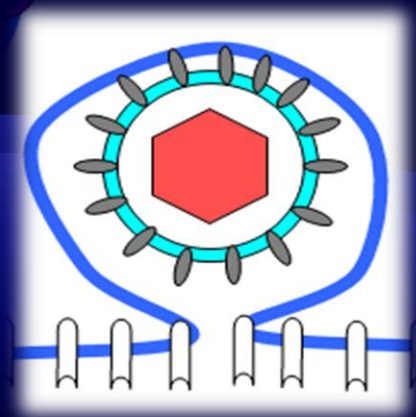
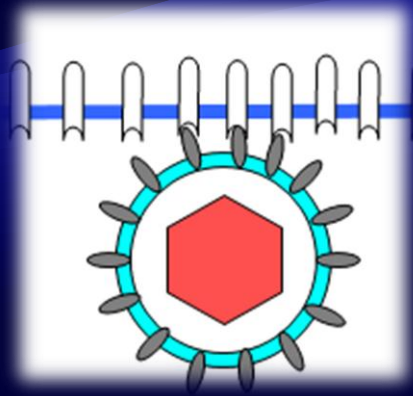
- **Необратимая** – произошло стабильное прикрепление к клетке хозяина.
- **Обратимая** – произошло образование лишь единичных связей вирусов с рецепторами клетки хозяина.



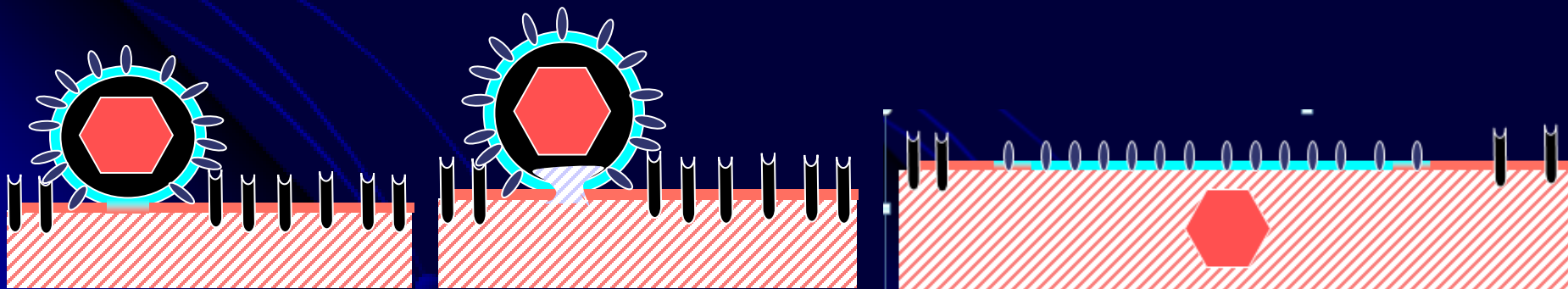
2020

## 2. Проникновение вируса в клетку (пенетрация)

**Виропексис** – рецепторный эндоцитоз, пиноцитоз

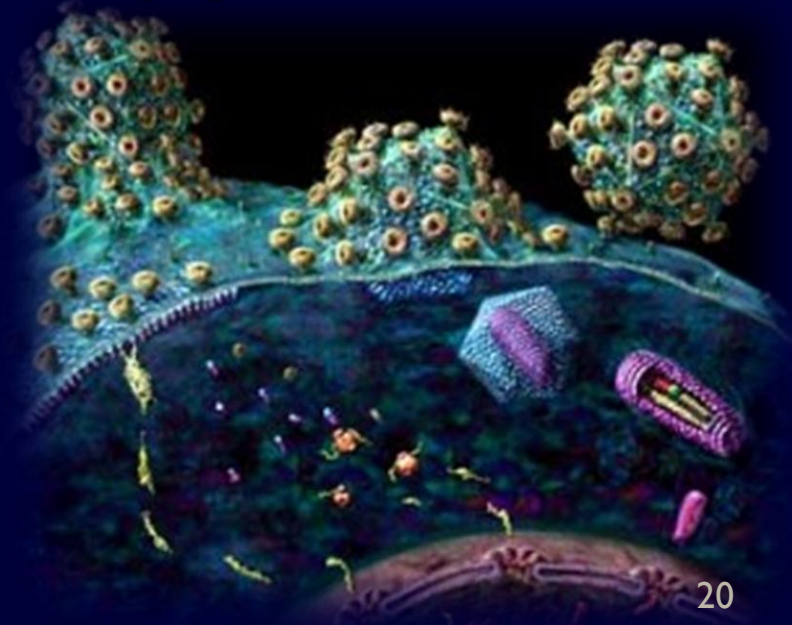


**Слияние вирусной и клеточной мембран** – В результате внутренние структуры вириона оказываются в цитоплазме зараженной клетки, а при слиянии с ядерной мембраной – в клеточном ядре



# 3. Раздевание (депротеинизация) вируса

- Это удаление вирусных защитных оболочек для экспрессии генома
- **Раздевание начинается сразу после адсорбции и продолжается в эндоцитарной вакуоли и ее слиянии с лизосомой**
- Конечный продукт раздевания – **НК** или **нуклеопротеид** (нуклеиновая кислота, связанная с внутренним геномным белком)



# 4. Синтез вирусных компонентов

- синтез вирусных белков.
- репликация нуклеиновых кислот (НК)

Вслед за репликацией НК начинается синтез вирионных белков.

В результате синтеза белков накапливается фонд предшественников, которые служат исходным материалом для образования капсидов путем самосборки.

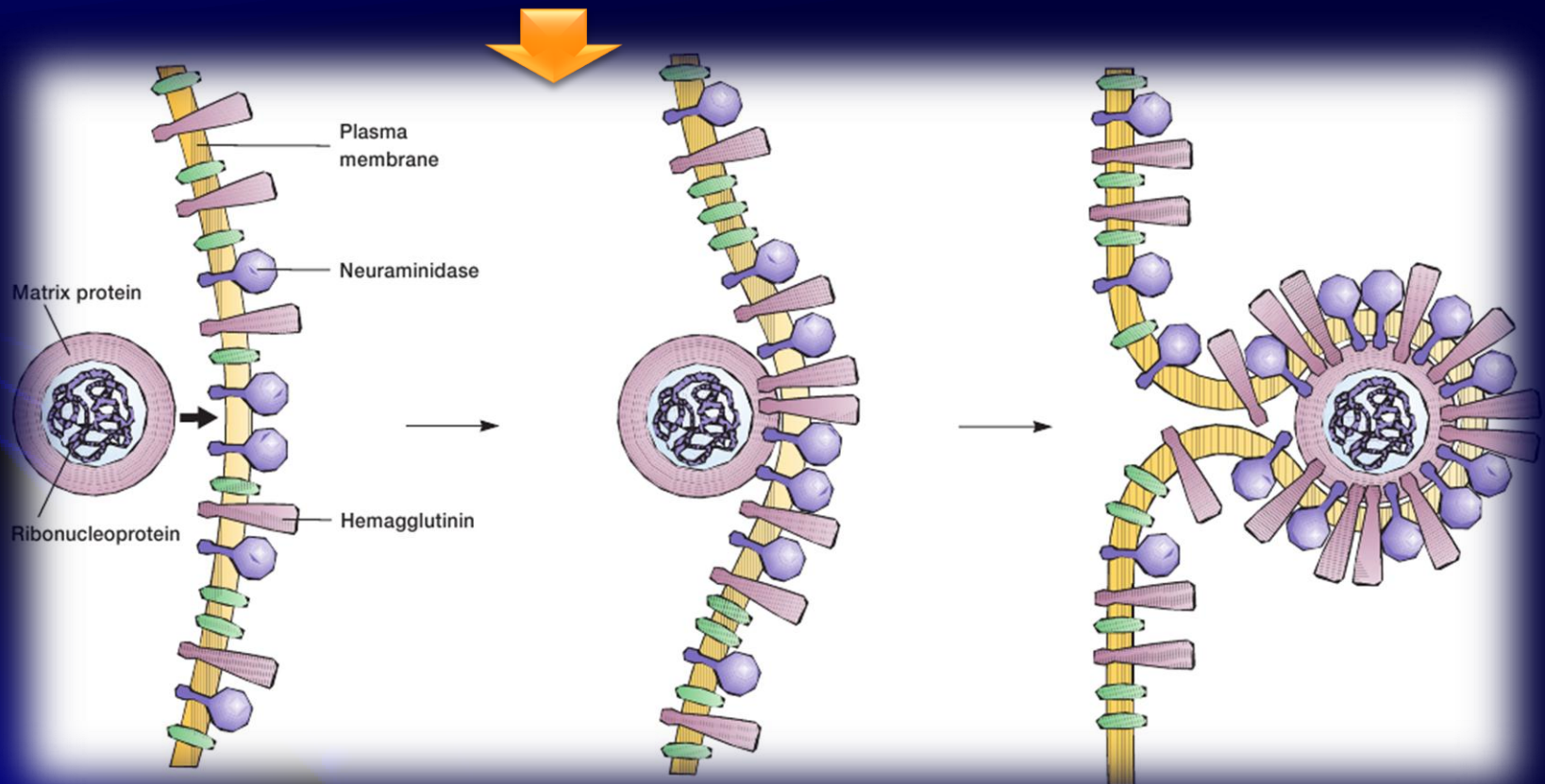


# 5. Сборка вирионов

- У **просто организованных** вирусов процесс самосборки состоит в расположении упорядоченных соединений субъединиц белка вокруг нуклеиновой кислоты – формируются вирионы.
- Сборка **сложно устроенных** вирусов осуществляется многоступенчато. Сначала формируются нуклеокапсиды или сердцевина, с которыми взаимодействуют белки наружных оболочек, обеспечивающими образование суперкапсида.

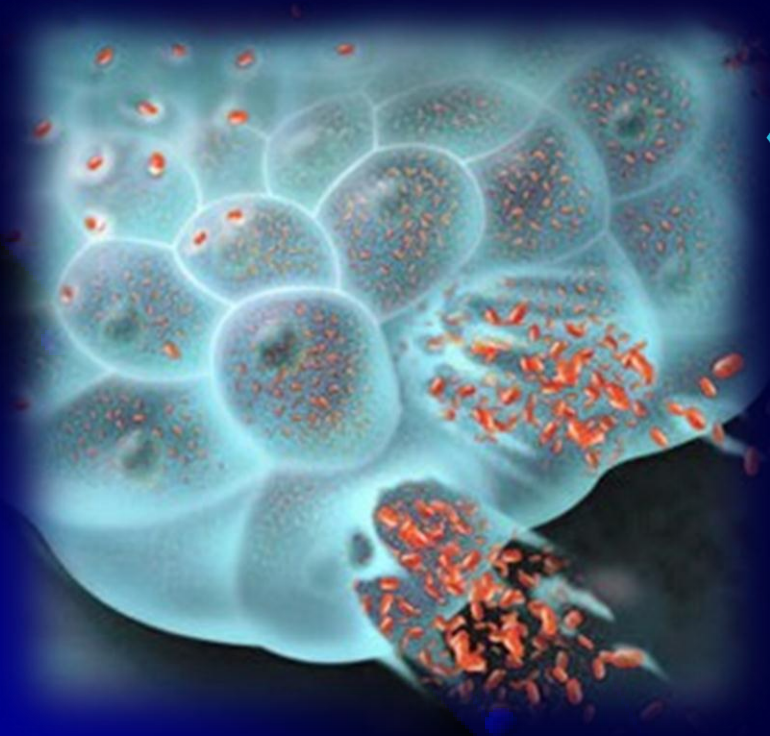
## 6. Выход вирионов из клетки хозяина

- Путем деструкции клетки – разрыв клеточной мембраны с последующей гибелью клетки – лизисом (пикорнавирусы)
- Путем «почкования» – выпячивания наружу ЦПМ клетки, содержащей вирионы. В это время нуклеокапсиды покрываются суперкапсидом (липиды, полисахариды из цитоплазматической мембраны клетки)



В вирусинфицированной клетке возможно пребывание вирусов в различных состояниях:

- ◆ воспроизводство многочисленных новых вирионов;
- ◆ пребывание нуклеиновой кислоты вируса в интегрированном состоянии (в виде провируса);
- ◆ существование в цитоплазме клетки в виде кольцевых нуклеиновых кислот, напоминающих плазмиды бактерий.



Выход вирусного потомства путем деструкции клетки

Почкование вирусов





# Классификация вирусных инфекций на клеточном уровне

- Инфекция **автономная**, когда вирусный геном реплицируется независимо от клеточного генома. Автономная форма характерна для большинства вирусов животных.
- Если вирусный геном включается в состав клеточного генома, т.е. интегрируется с клеточным геномом и реплицируется вместе с ним, такая инфекция называется **интеграционной (виrogenией)**.
- Интегрировать могут как полный геном, так и часть генома. Например, при гепатите В возможна интеграция полного генома, при аденовирусных и герпесвирусных инфекциях может интегрироваться как полный геном, так и его часть.

# Диагностика вирусных инфекций

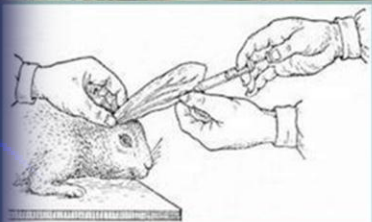
- **Вирусологическая** диагностика – основана на выделении вируса из исследуемого материала и его последующей индикации и идентификации.
- **Серологическая** диагностика – определение специфических иммунологических изменений в организме под действием вирусов (антитела в сыворотке крови).
- **Молекулярно-биологическая** диагностика – обнаружение в клиническом материале фрагментов нуклеиновых кислот вирусов-возбудителей с помощью зондов (гибридизация НК) или ПЦР.

## Выявляемые проявления вирусной инфекции лаб. животных и клеточных культур (**индикация**):

- **Цитопатический эффект** (ЦПЭ) или цитопатическое действие (ЦПД).
- Выявление **телец включений**.
- **Реакция нейтрализации** – реакция подавления ЦПД.
- **Цветная проба**. Обычный цвет используемых культуральных сред, содержащих в качестве индикатора рН феноловый красный, при оптимальных для клеток условиях культивирования (рН около 7,2) – красный. Размножение клеток меняет рН и соответственно – цвет среды с красного на желтый за счет смещения рН в кислую сторону. При размножении в клеточных культурах вирусов происходит лизис клеток, изменения рН и цвета среды не происходит.
- Выявление **гемагглютинаина вирусов** – гемадсорбция, гемагглютинация.
- **Метод бляшек** (бляшкообразования). В результате цитолитического действия многих вирусов на клеточные культуры образуются зоны массовой гибели клеток. Выявляют бляшки – вирусные “клеточно-негативные” колонии.
- 7. Выявление вирусов методом флюоресцирующих антител (**МФА**), **электронной микроскопией, авторадиографией**.

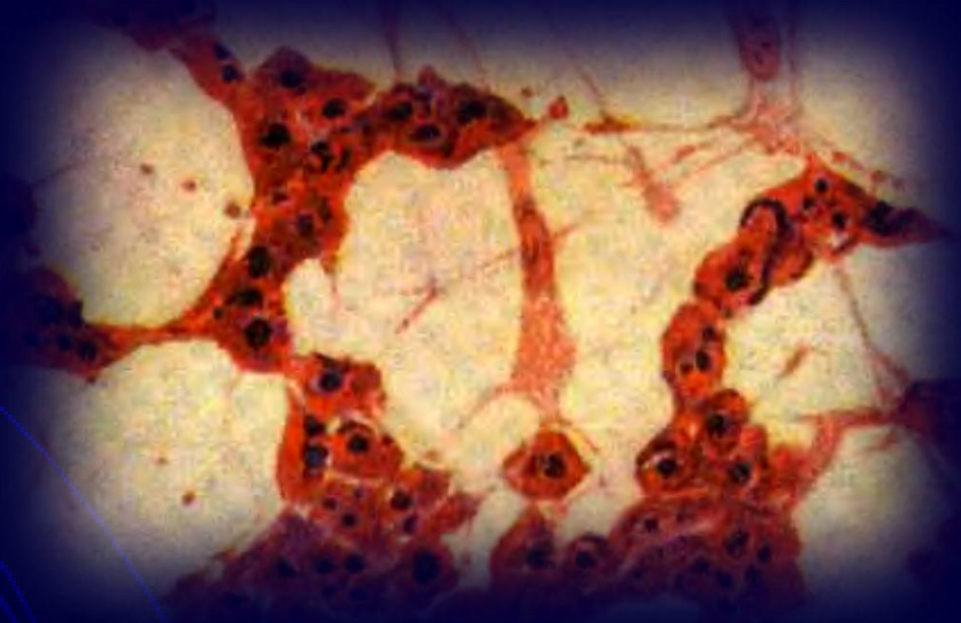
# Выявляемые проявления вирусной инфекции лаб. животных и клеточных культур (индикация):

## Лабораторные животные



**Выявляемые проявления вирусной инфекции (индикация): цитопатический эффект (ЦПЭ) или цитопатическое действие (ЦПД).**

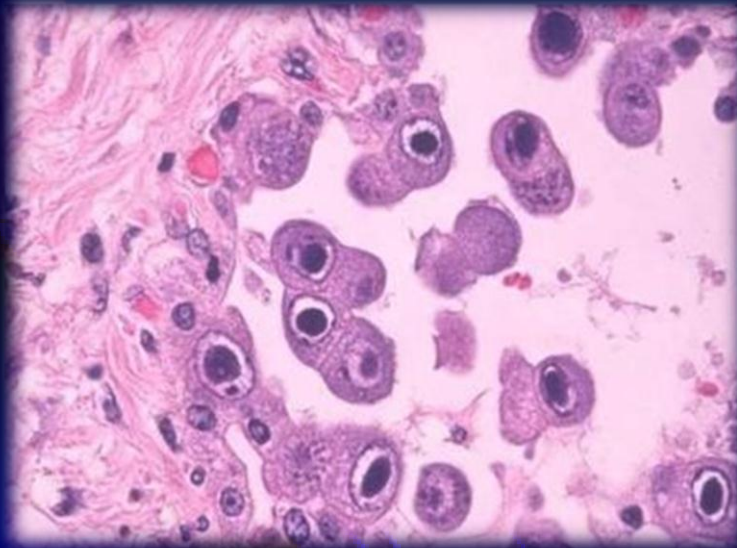
**ЦПД - видимые под микроскопом морфологические изменения клеток, возникающие в результате внутриклеточной репродукции вирусов**



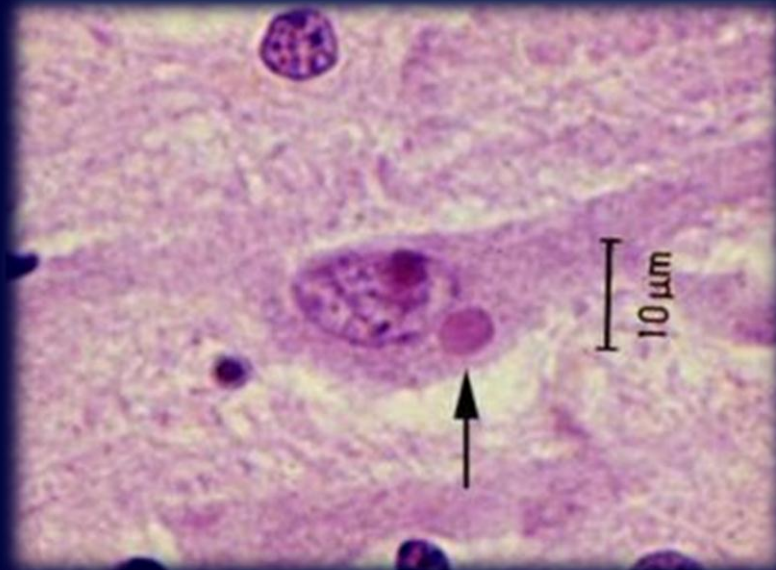
# Выявление телец включений

**Включения** – скопление вирионов или отдельных их компонентов в цитоплазме или ядре клеток, выявляемые под микроскопом при специальном окрашивании.

Вирус оспы образует цитоплазматические включения – тельца Гварниери; вирусы герпеса и аденовирусы – внутриядерные включения

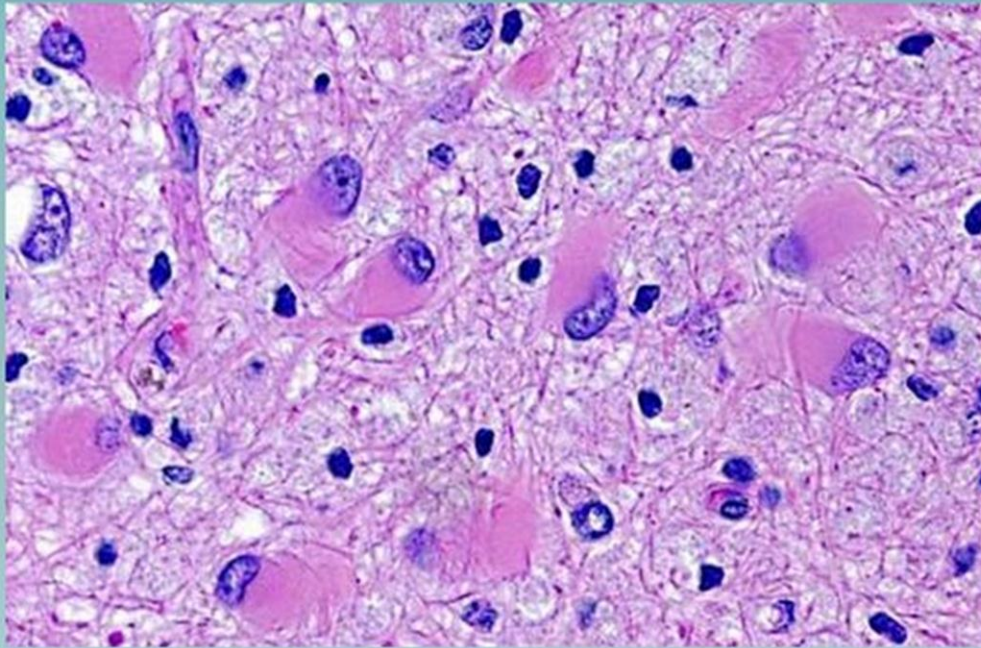


ЦПД. Тельца Каудри (Cowdry bodies), *Herpes simplex*



ЦПД. Тельца Гварниери, *вирус оспы*

# Индикация – ЦПД



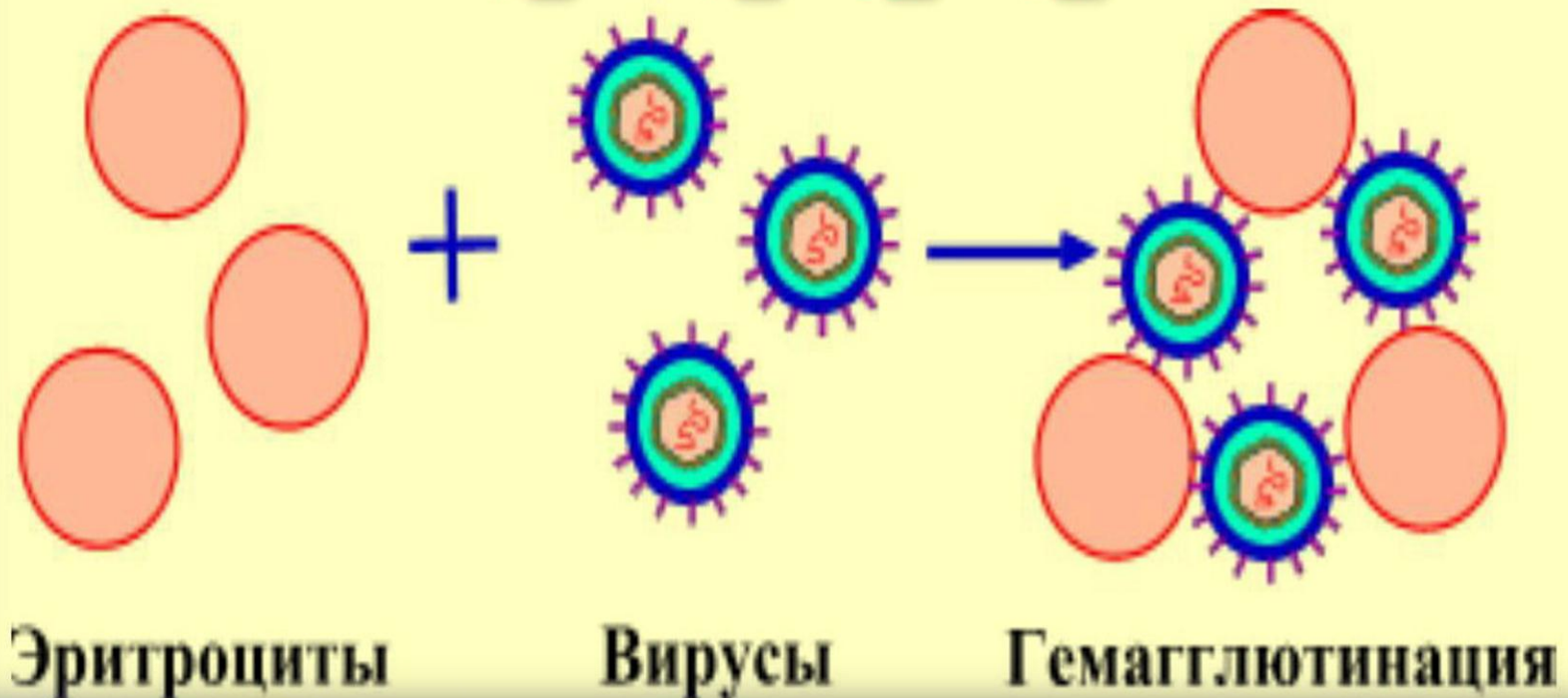
Менингоэнцефалит (вирус SV40). Мозг, белое вещество. Окраска гематоксилином и эозином, х 600.

Астроциты с обильным эозинофильной цитоплазмой и эксцентричными ядрами.

**ЦПД. Клетки, зараженные  
Pаровavirus SV 40**

**Индикация - РГА** основана на способности некоторых вирусов вызывать агглютинацию (склеивание) эритроцитов за счет вирусных гликопротеиновых шипов - гемагглютининов

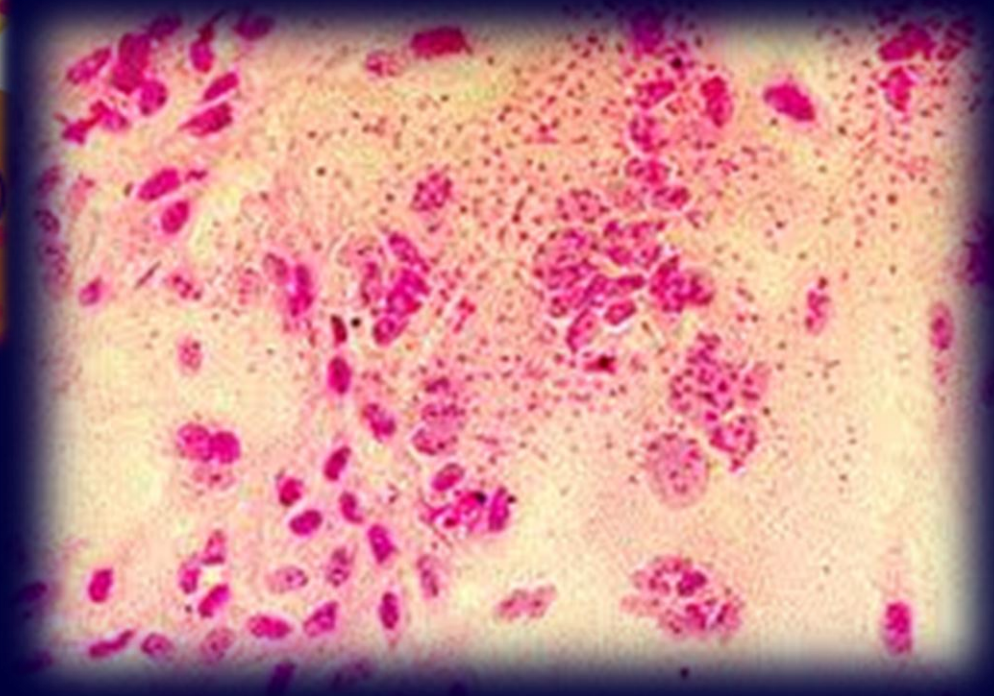
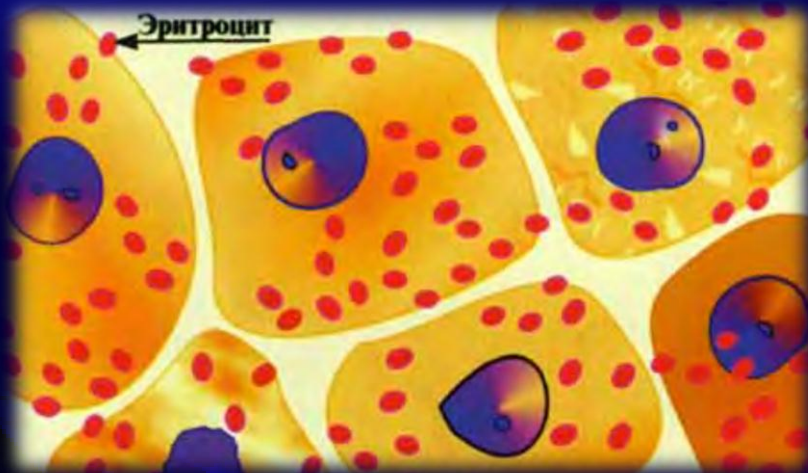
# РГА





# Индикация вирусов

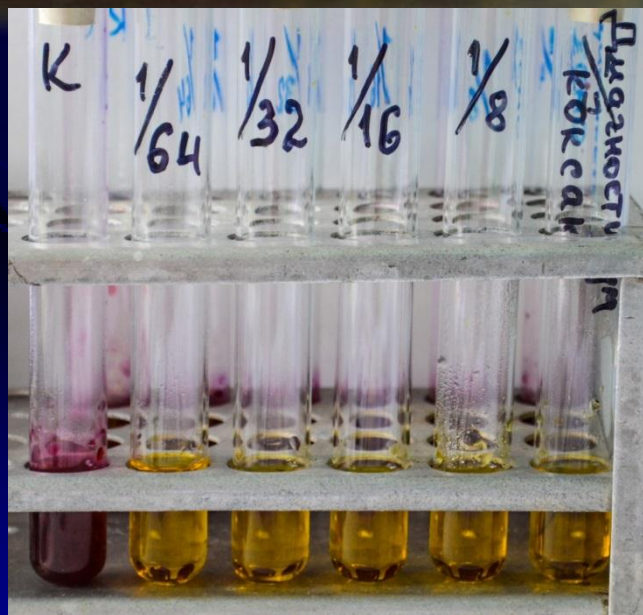
**Реакция гемадсорбции** ( $РГ_{адс}$ ) – способность культур клеток, инфицированных вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты



- **Бляшки**, или **“негативные” колонии** — ограниченные участки разрушенных вирусами клеток, культивируемых на питательной среде культур клеток под агаровым покрытием, видимые как светлые пятна на фоне окрашенных живых клеток.
- Один вирион образует потомство в виде одной бляшки.
- “Негативные” колонии разных вирусов отличаются по размеру, форме, поэтому метод бляшек используют для дифференциации вирусов, а также для определения их концентрации.



**Индикация - “Цветная”** реакция (проба) оценивается по изменению цвета индикатора, находящегося в питательной среде культивирования.



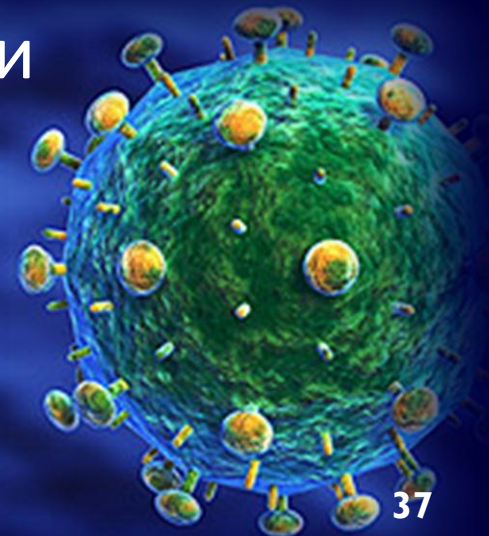
- Если вирусы не размножаются в культуре клеток, то живые клетки в процессе метаболизма выделяют кислые продукты, что ведет к изменению рН среды и соответственно цвета индикатора.
- При продукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается (клетки гибнут), и среда сохраняет свой первоначальный цвет

# Индикация вирусов

## Реакция нейтрализации (РН)

- ✿ Основана на подавлении цитопатогенного действия вируса (ЦПД) после смешивания со специфичными АТ.
- ✿ Для этого неизвестный вирус смешивают с известными коммерческими антисыворотками и после соответствующей инкубации вносят в монослой клеток.
- ✿ Отсутствие гибели клеток монослоя указывает на соответствие инфекционного агента и известных АТ.
- ✿ Это **иммунологическая** реакция.

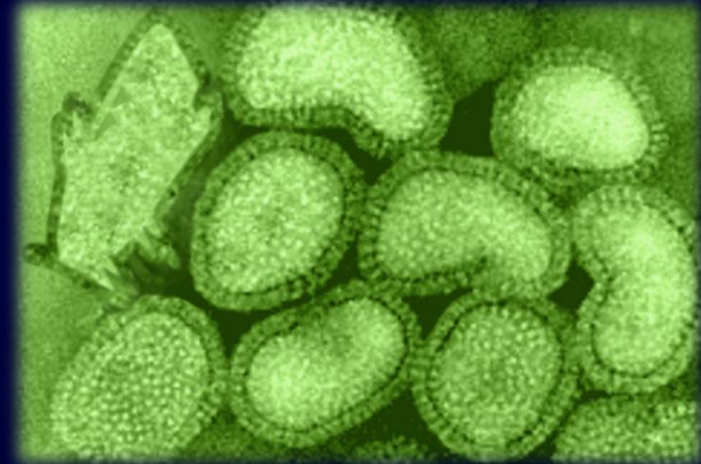
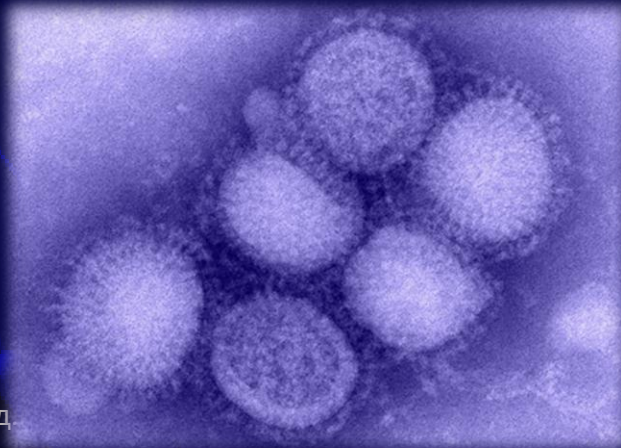
- **Индикация** (выявление) вирусов основана на выявлении различных биологических свойств вирусов и особенностей их взаимодействия с чувствительными клетками.
- **Идентификация** (определение типа) вирусов осуществляется, в основном, с помощью иммунологических реакций, основанных на взаимодействии антигенов вирусов и соответствующих им АТ.



# Идентификация выделенных вирусов:

- ☀ по вирусиндуцированным специфическим патологическим изменениям в чувствительных живых системах;
- ☀ по антигенным свойствам вирусов в иммунодиагностических реакциях с противовирусными видовыми и типовыми сыворотками (является основной и достаточно точной идентификацией);
- ☀ по выявлению вирусной НК, например, методом ПЦР;
- ☀ результатам электронно-микроскопического изучения морфологии вирусов.

Вирус гриппа под ЭМ



# Иммунно-серологические методы

Обнаружение вирусных антигенов – **иммунодиагностика** (с помощью известных противовирусных АТ, напр., РН).

Серологические методы (**серодиагностика**) – это комплекс иммунологических реакций по обнаружению и идентификации **антител к вирусам** в различных субстратах или средах.

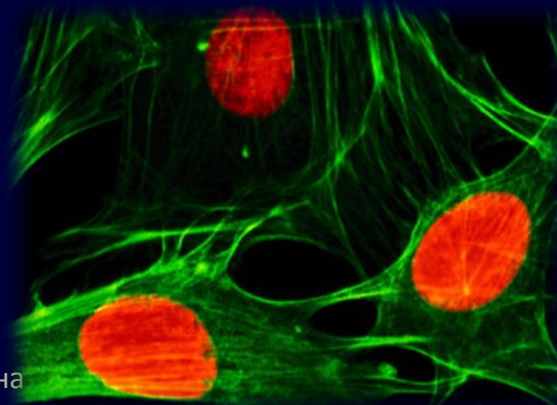
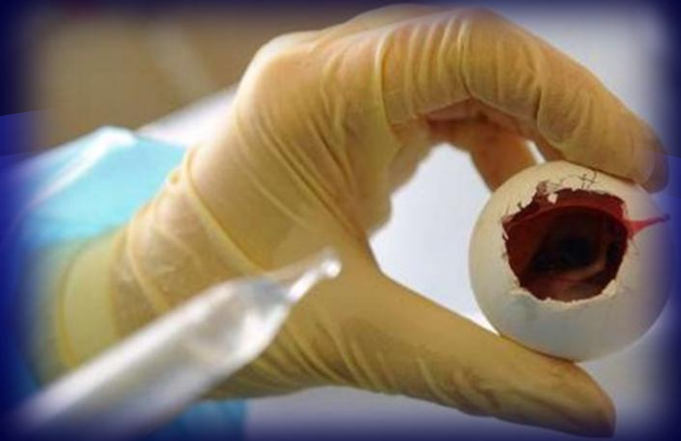
- **РТГА** – реакция торможения гемагглютинации,
- **РПГА** или **РНГА** – реакция пассивной или непрямой гемагглютинации ;
- **РСК** – реакция связывания комплемента;
- **ИФА** – иммуноферментный анализ;
- **МФА** – метод флуоресцирующих антител;
- **РИА** – радиоиммунный анализ (или радиоиммунный метод – РИМ) и др.

## Цели культивирования вирусов:

- с целью лабораторной диагностики вирусных инфекций,
- для изучения патогенеза и иммунитета при вирусных инфекциях,
- для получения диагностических и вакцинных препаратов.

## Модели для культивирования вирусов:

- лабораторные животные,
- развивающиеся эмбрионы птиц (чаще куриные),
- культуры клеток (тканей)

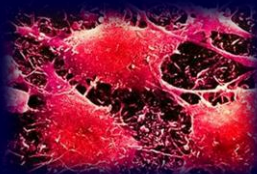
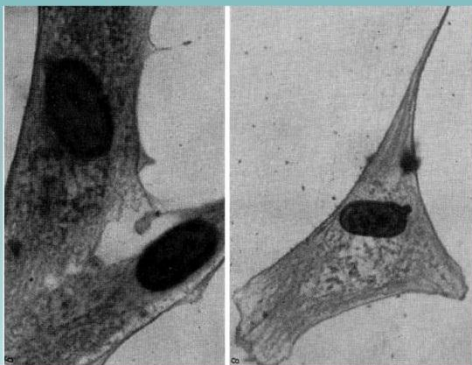




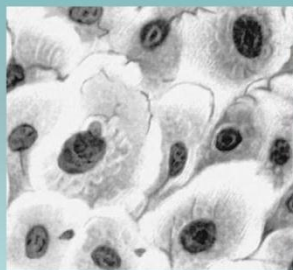
# Типы культур клеток (по числу генераций)

- Первичные – культуры клеток, способные выдерживать до 5-10 пассажей
- Полуперевиваемые культуры – культуры диплоидных клеток из фибробластов человеческого эмбриона, выдерживают до 100 генераций.
- Перевиваемые культуры – получают из опухолевых клеток одного типа, которые могут размножаться *in vivo* в течение неограниченного срока (HeLa, He<sub>p</sub>-2, KB)

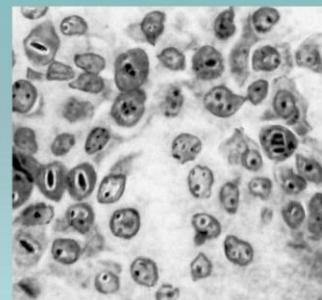
Клетки первичной культуры фибробластов эмбрионов мыши, видны фибриллярные элементы цитоскелета



Эпителиоподобные клетки в культуре ткани



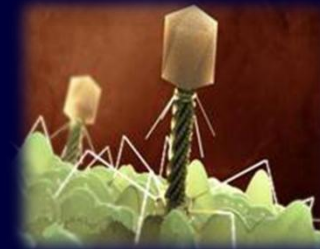
Культура перевиваемой линии



# Бактериофаги (фаги) – вирусы бактерий

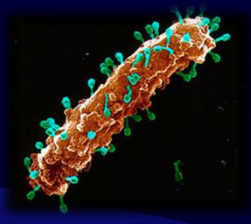


- Бактериофаги (фаги) – это вирусы, поражающие клетки бактерий;
- Фагам присущи все биологические особенности, свойственные вирусам

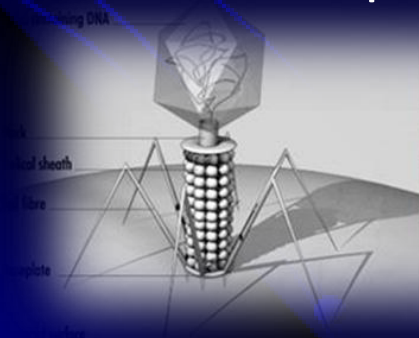


Фаги атакуют клетку *E. coli*

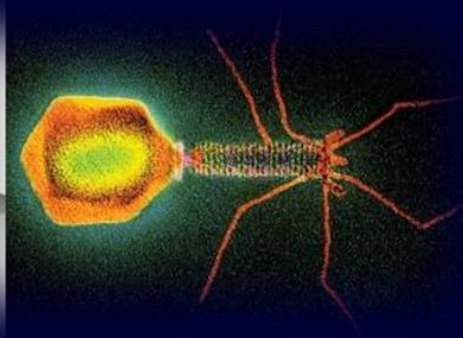
# Бактериофаги



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



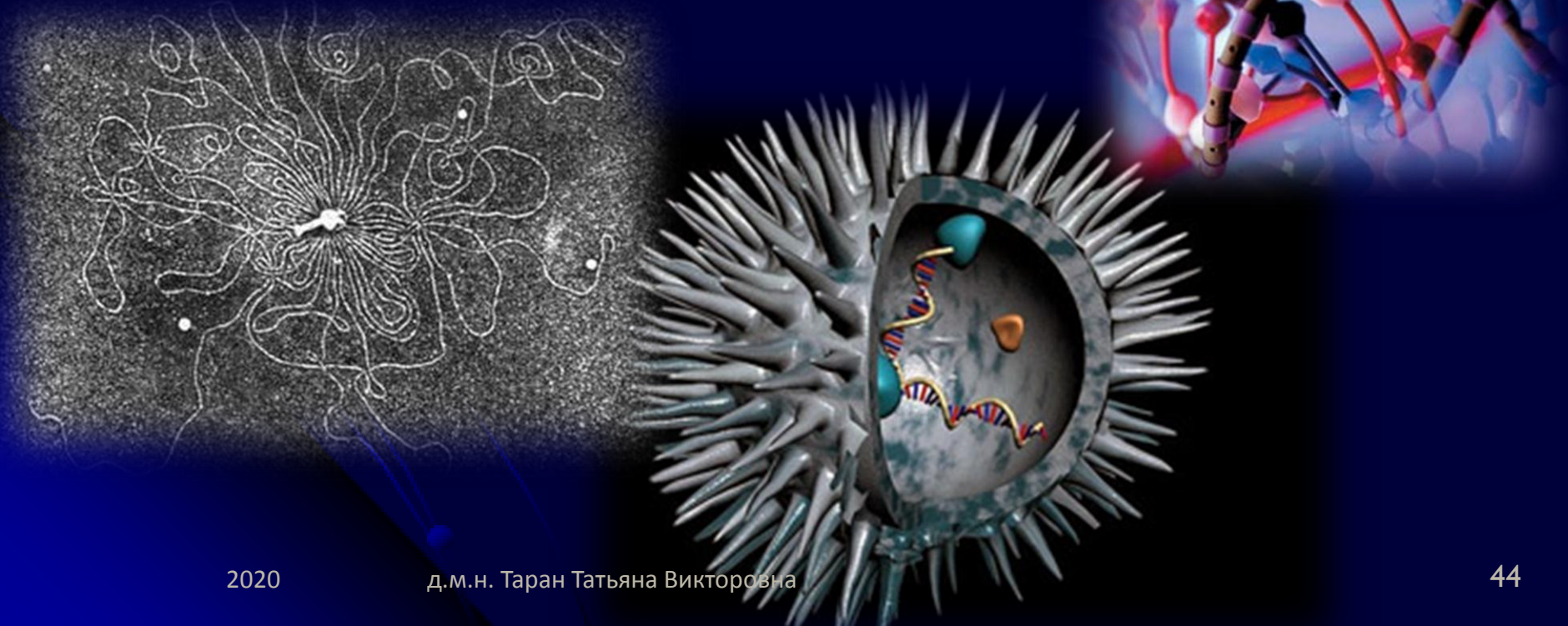
2020



д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



- ✗ Фаги – удобная модель для изучения тонкой структуры гена, молекулярных механизмов мутагенеза, расшифровки генетического кода, влияния ионизирующей радиации на наследственные структуры организма.
- ✗ Бактериофаг состоит из белковой оболочки и генетического материала одноцепочечной или двуцепочечной НК (ДНК или, реже, РНК).

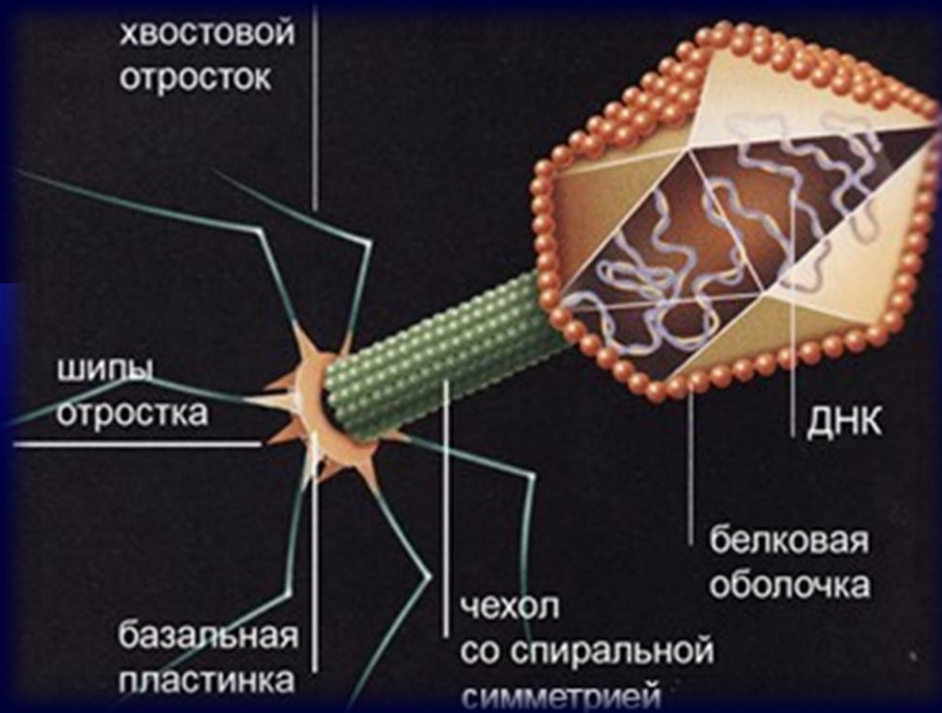


# Резистентность фагов

- ✗ 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

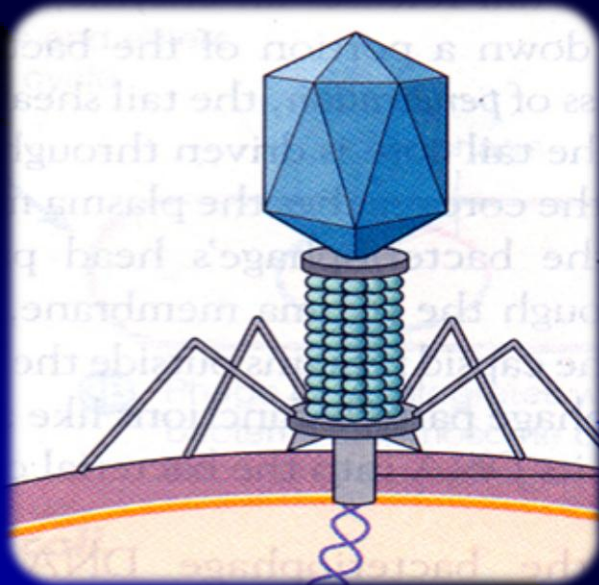
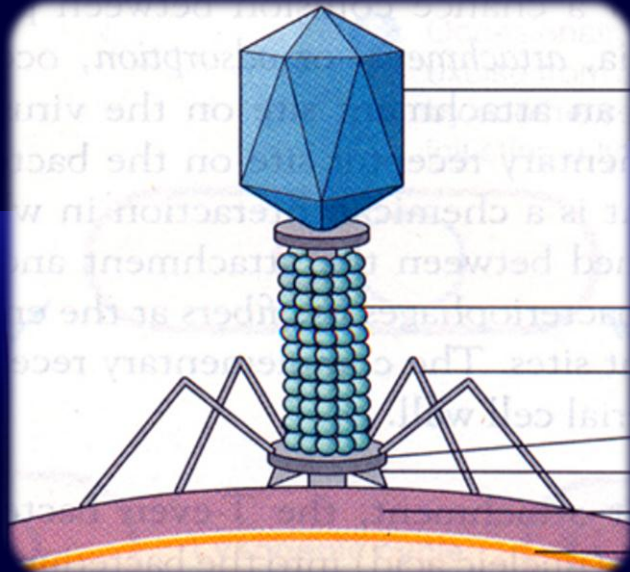


Фаг Т4. Головка фага примерно 100nm в длину и 75nm в ширину (ЭМ)

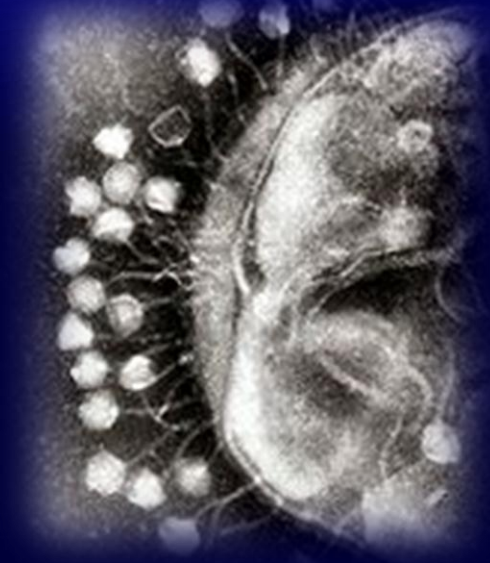


- ✗ Типичная фаговая частица состоит из «головки» и «хвоста».
- ✗ Головка соответствует плотно упакованному ядру, состоящему из нуклеиновой кислоты, окруженной белковой оболочкой – капсидом.
- ✗ Белковый капсид головки состоит из идентичных субъединиц (капсомеров)

# Структура бактериофага



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

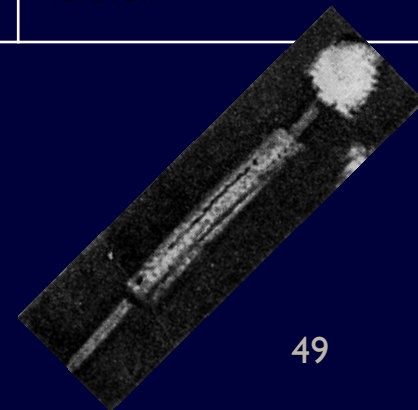
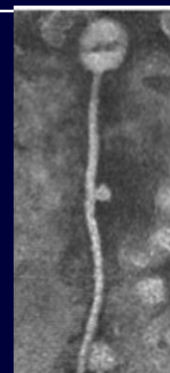
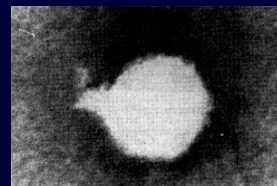
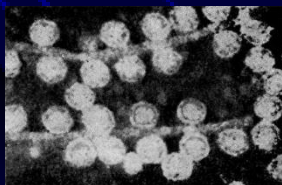


- Подобно другим вирусам, фаги неподвижны.
- Фаги могут существовать в двух формах:
  - внутриклеточной (это профаг, чистая ДНК);
  - внеклеточной (это вирион).



# 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 сокращающим чехлом



# Типы взаимодействия фага с клеткой

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



# Стадии продуктивной фаговой 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)



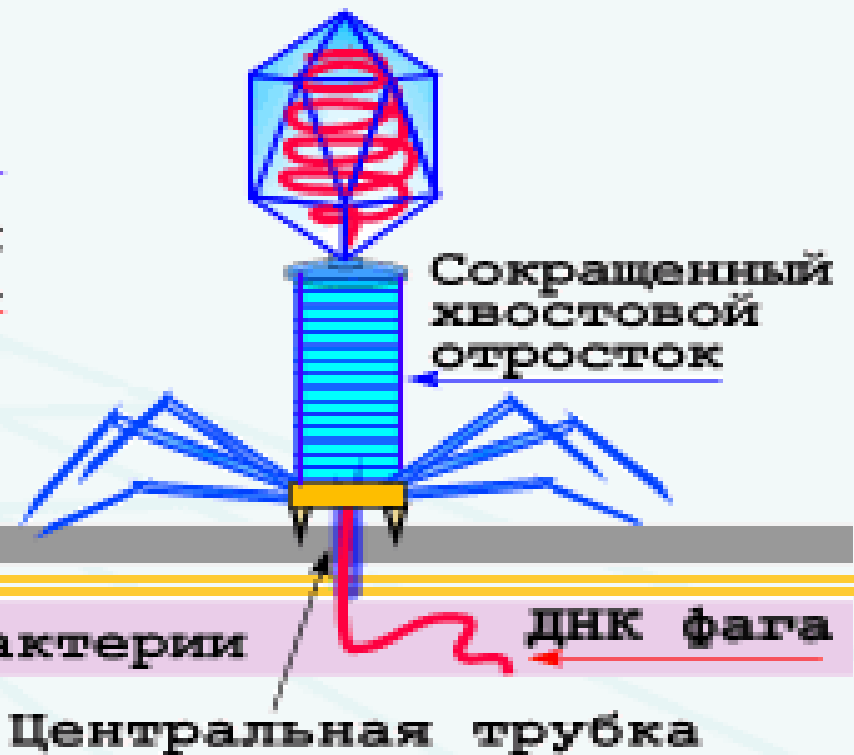
Адсорбция бактериофагов на поверхности бактериальной клетки

# Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии.

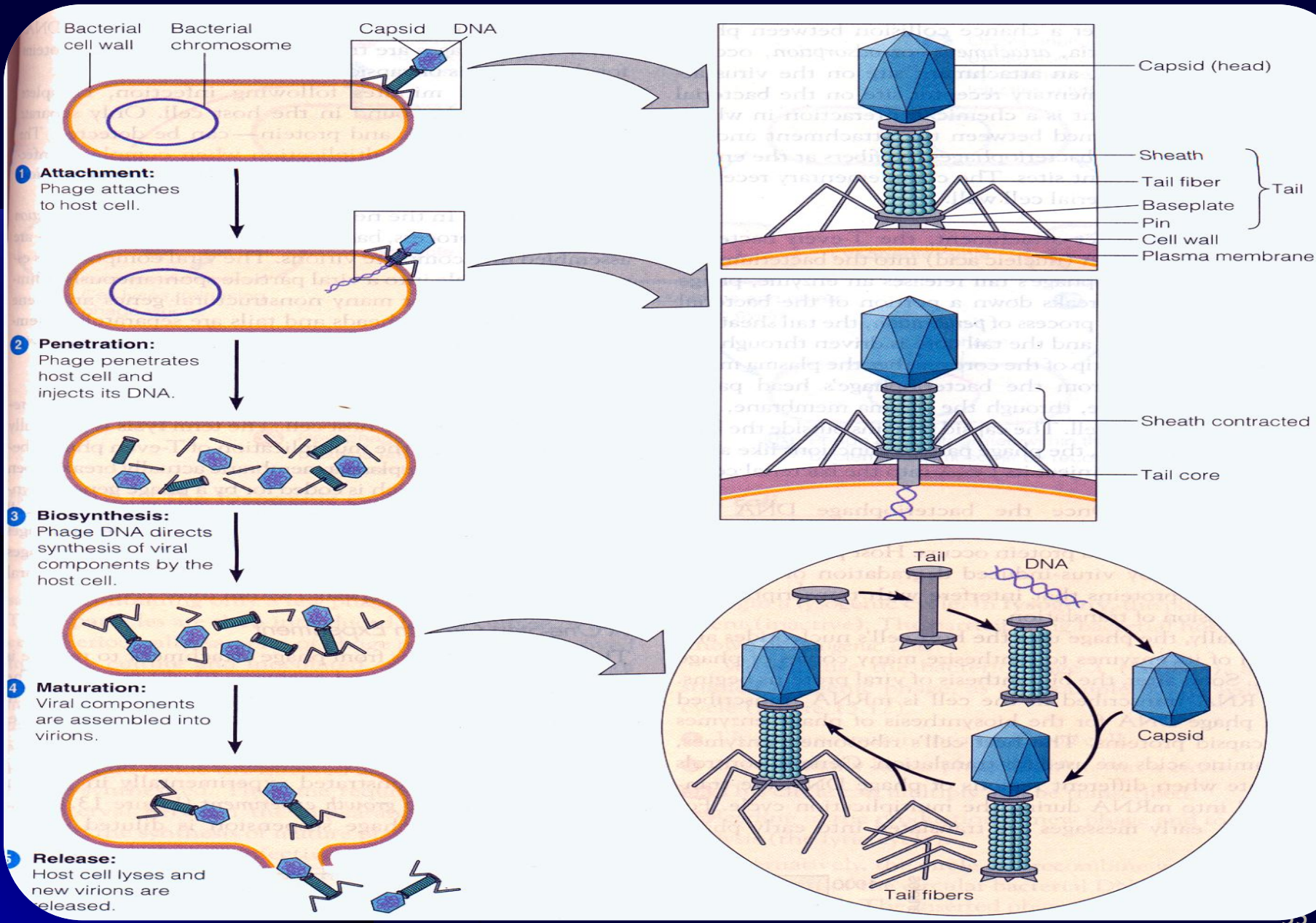
## Прикрепление фага



## Инъекция ДНК



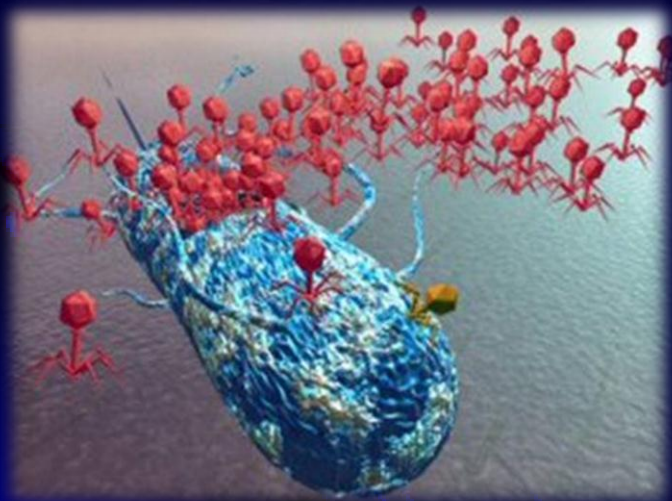
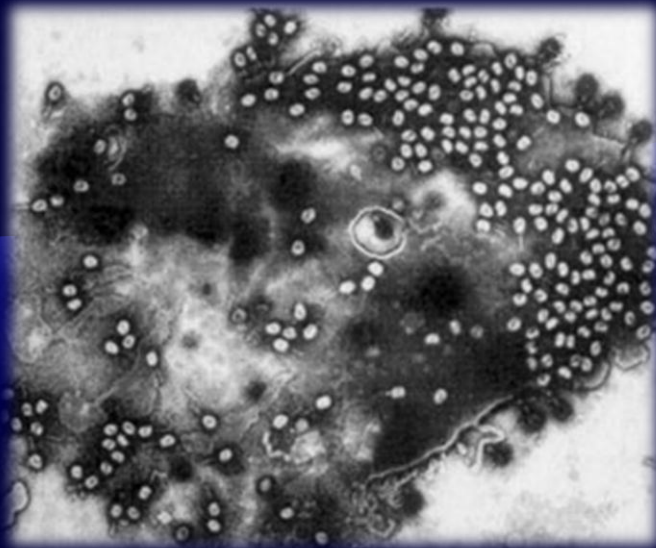
# Литический цикл



# 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 основе информации этой РНК вирусные белки, в том числе фермент РНК-репликазу (РНК-зависимую РНК-полимеразу). Этот фермент осуществляет репликацию вирусной РНК

# Высвобождение зрелых фагов



- 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.

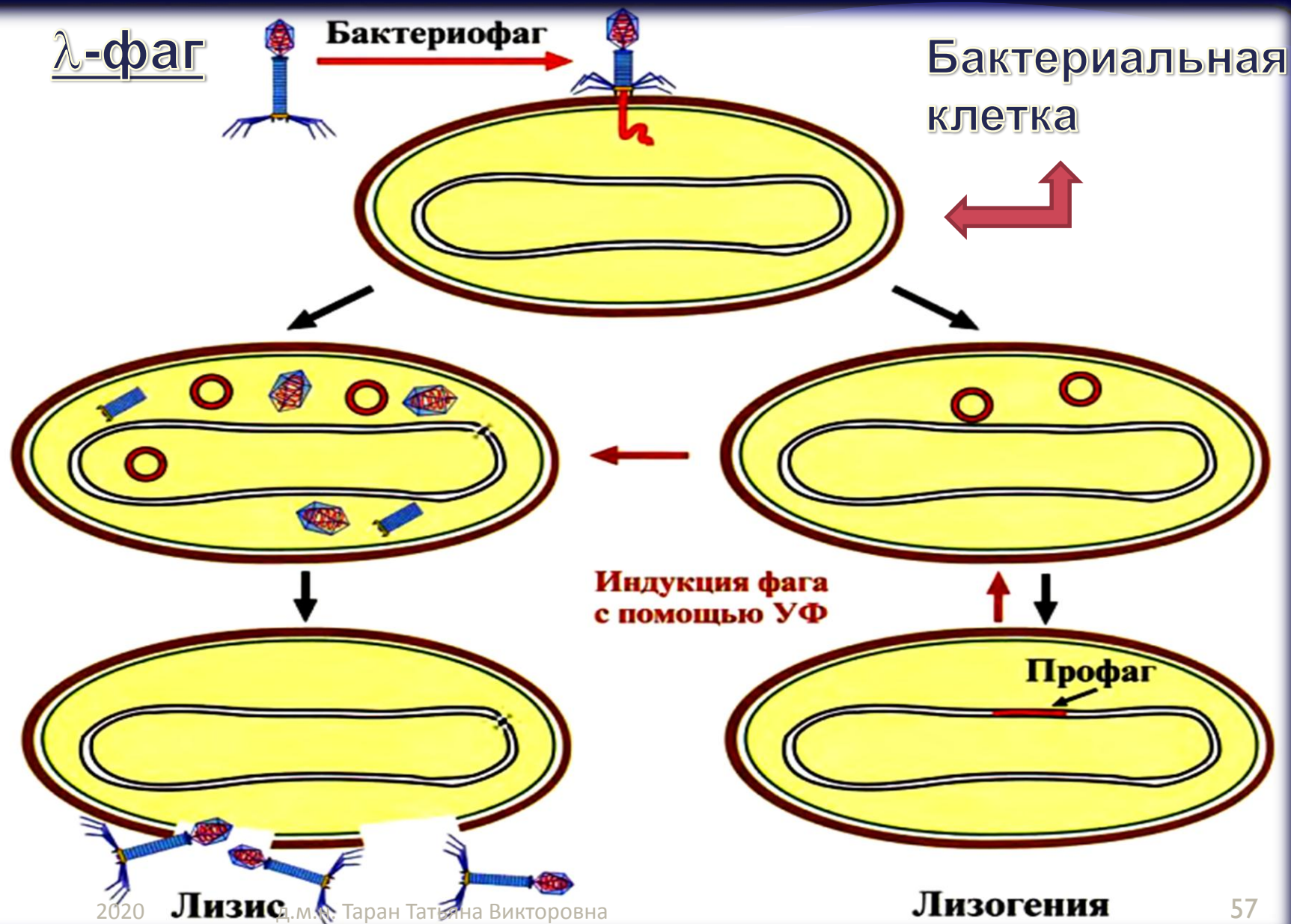
Высвобождение из клетки потомства нитевидных фагов

Высвобождение из клетки потомства фагов путем лизиса клетки

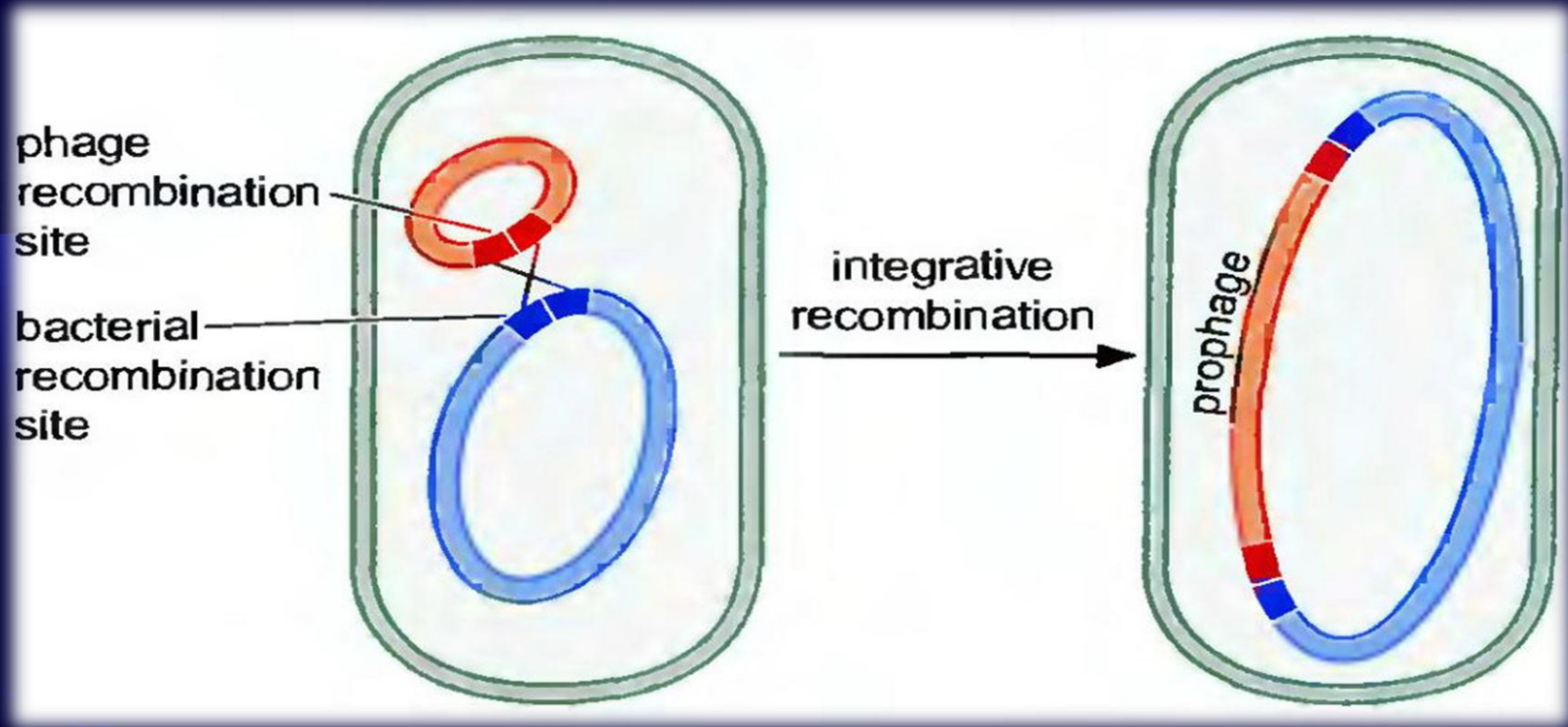




# Пути развития умеренного фага лямбда



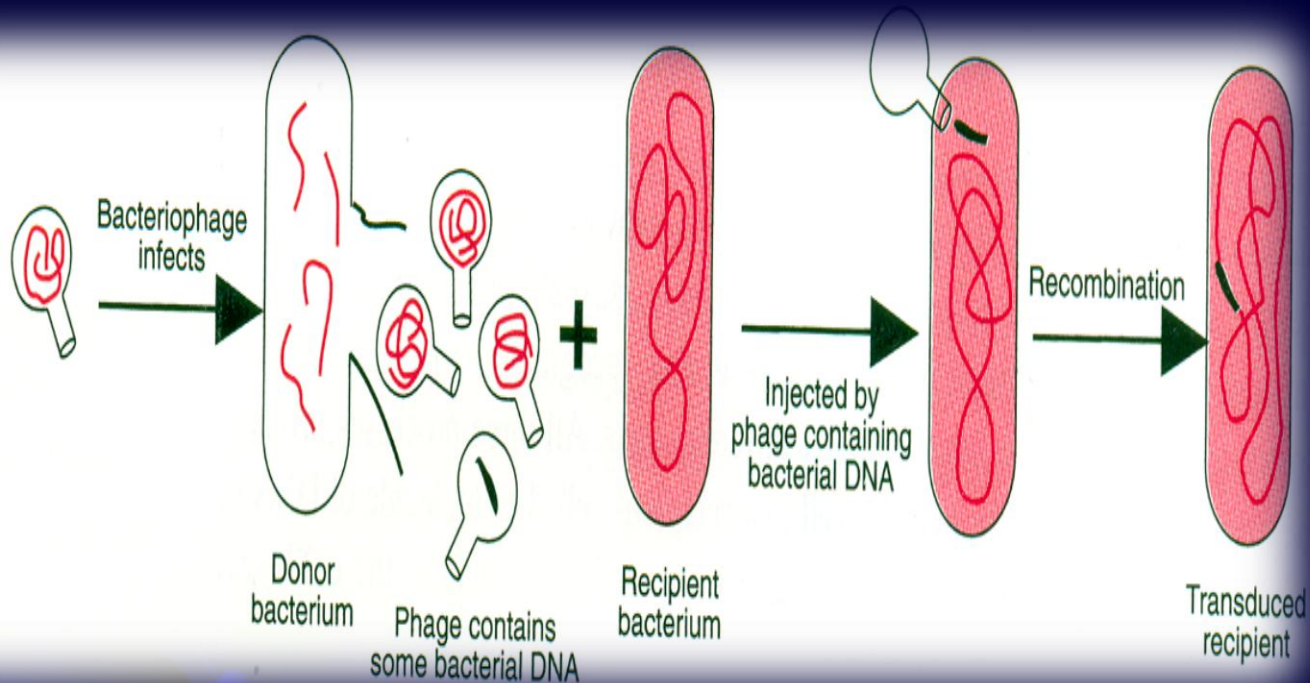
# Лизогения $\lambda$ -типа



- 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 (неспецифическая)

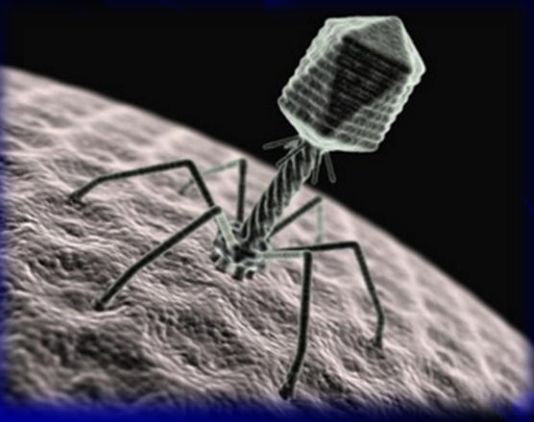
- ◆ При размножении определенных умеренных фагов на чувствительных к ним культурах фаговая частица захватывает какой-нибудь фрагмент генетического материала данной клетки. При воздействии этим же фагом на другую чувствительную к нему культуру он передает новой культуре захваченный фрагмент.
- ◆ При трансдукции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



# Лизогенные конверсии (превращения)

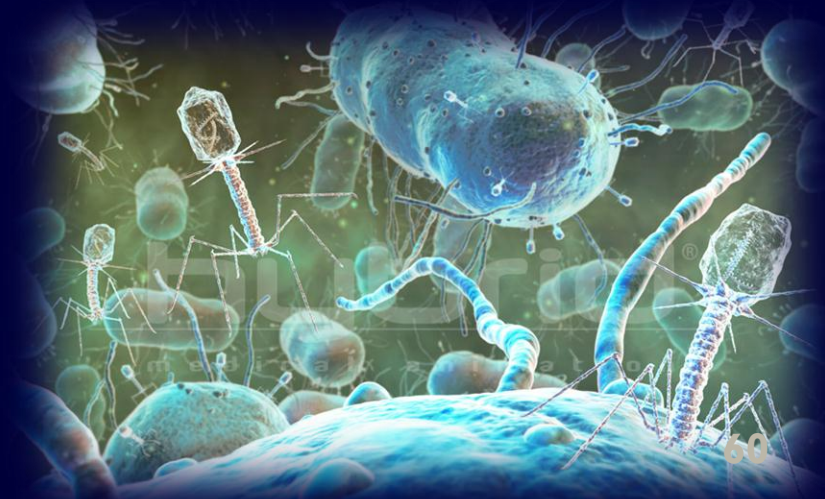


- ◆ В отличие от трансдукции, при которой фаг выступает в роли механического переносчика генетического материала, при лизогенизации **сама нуклеиновая кислота фага является генетическим материалом**, который в виде профага придается генетическому материалу клетки.
- ◆ Поэтому при лизогенизации **не имеет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



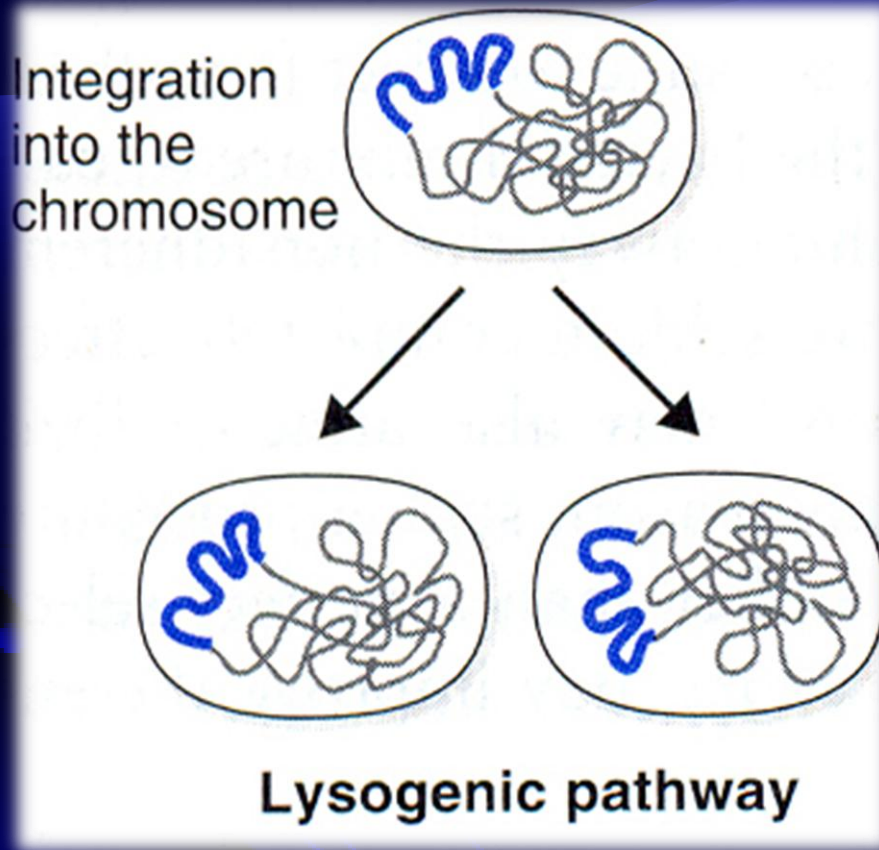
2020

д.м.н. Таран Татьяна Викторовна



60

# 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 умеренные бактериофаги, из которых лучше всего изучен **фаг Р1**, отличаются от фагов группы  $\lambda$  **локализацией в клетке своего генома**.
- Профаг Р1 имеет внехромосомную локализацию (в цитоплазме клетки), он прикрепляется к клеточной мембране (ЦПМ) – аналогично бактериальным плазмидам.
- 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 качестве векторов в генной инженерии.

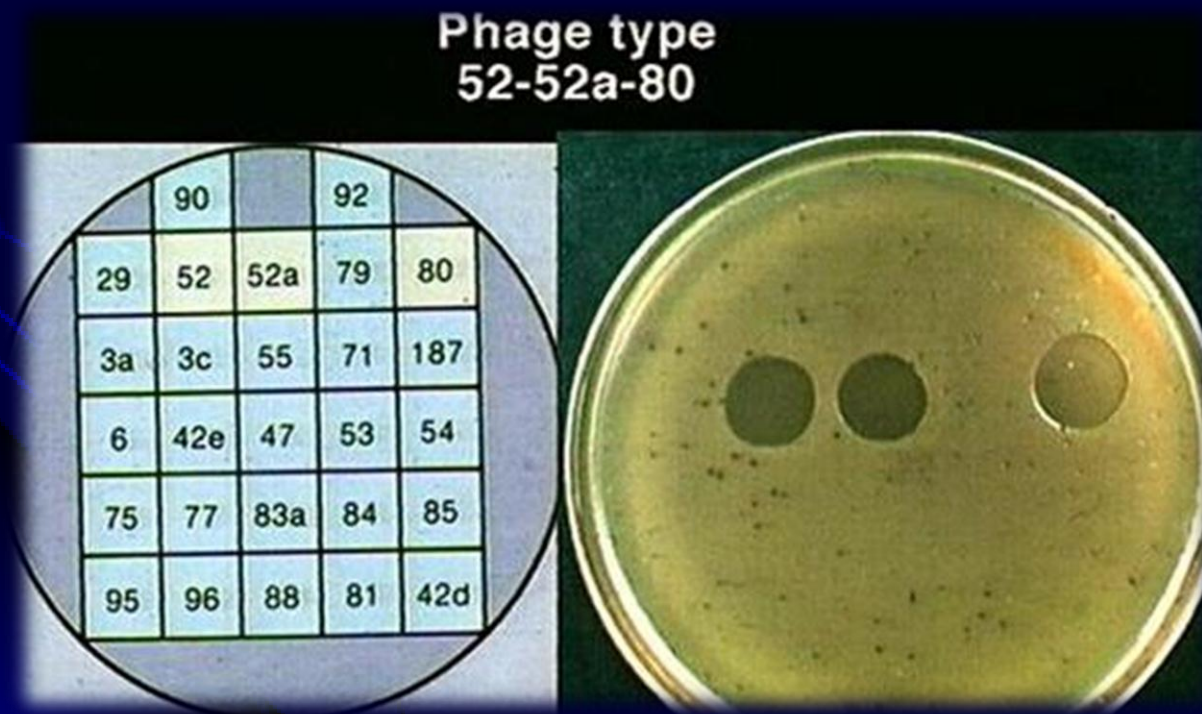
Дефектные фаговые частицы  
*Actinomyces streptomycini* - продуцента  
антибиотика стрептомицина



# Специфичность фагов

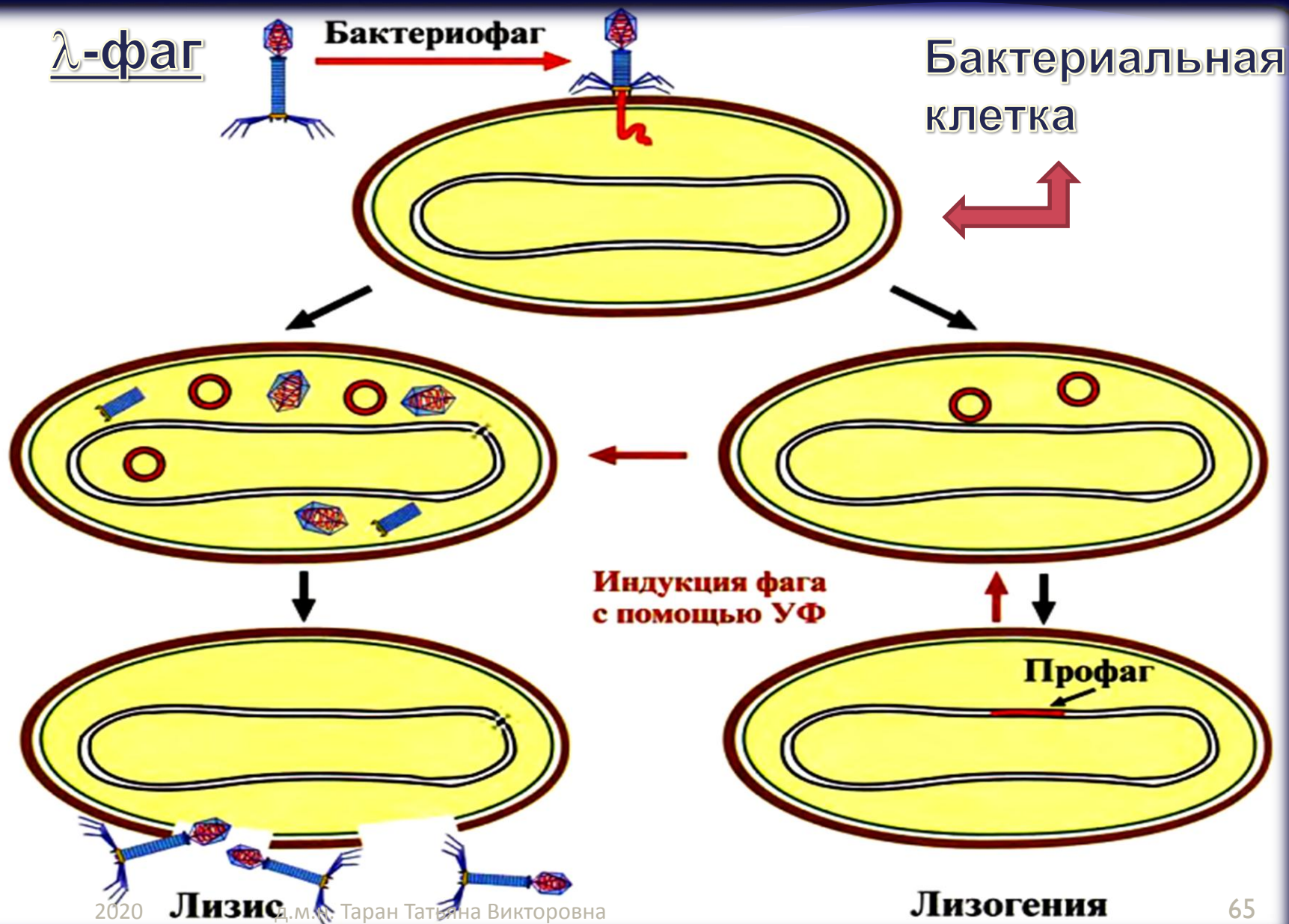
По степени специфичности фаги могут быть разделены на три группы:

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

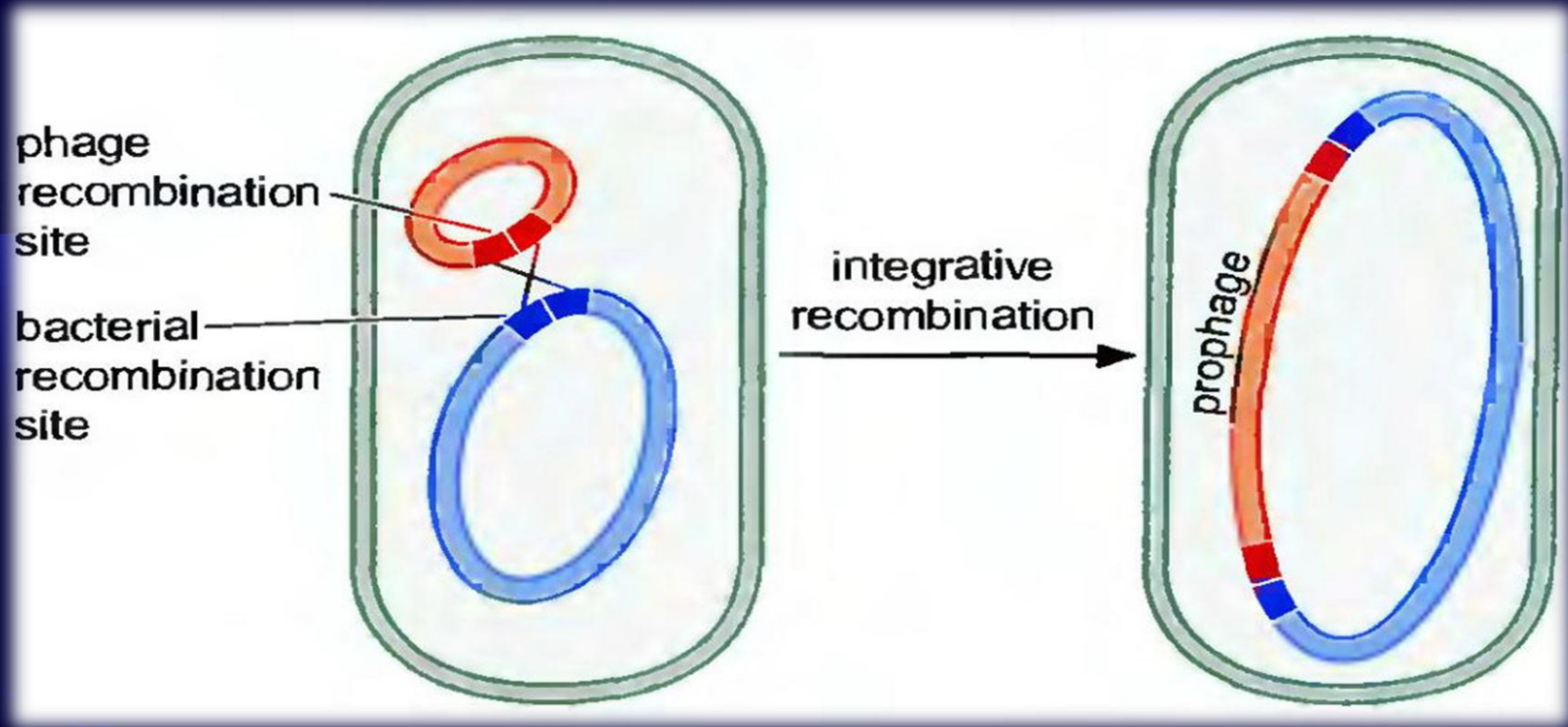




# Пути развития умеренного фага лямбда



# Лизогения $\lambda$ -типа



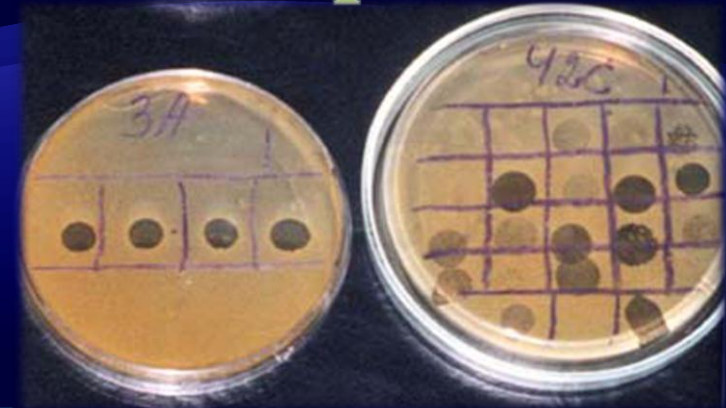
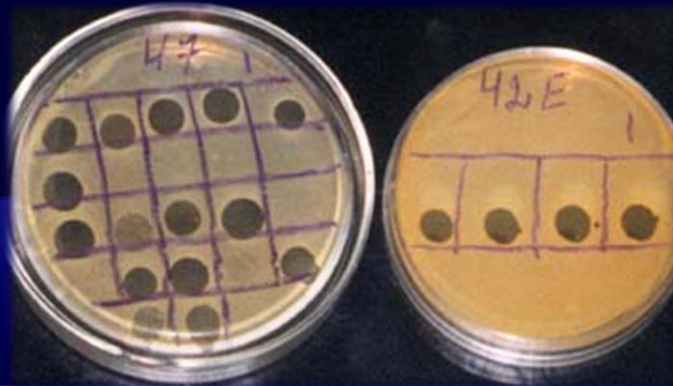
- ◆ Профаг  $\lambda$  прикреплен к бактериальной хромосоме и реплицируется синхронно с ней.
- ◆ При клеточном делении каждая дочерняя хромосома получает бактериальную хромосому вместе с прикрепленным к ней профагом  $\lambda$ .

# Практическое использование бактериофагов

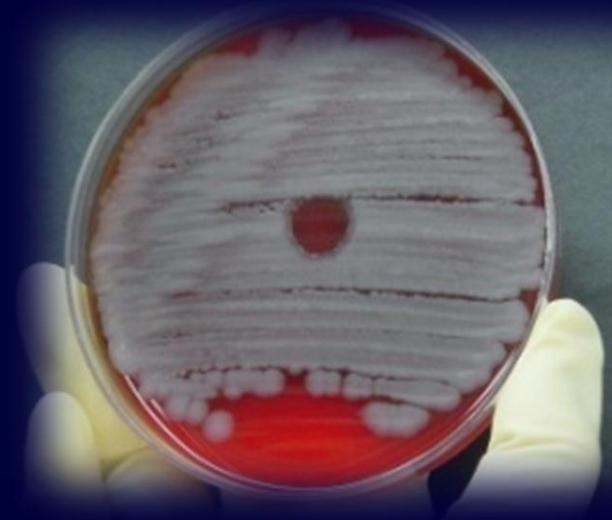
- 1. Для идентификации бактерий (определение фаготипа) с целью выявления источника инфекции.
- 2. Для фагопрофилактики (купирование вспышек).
- 3. Для фаготерапии (лечение дисбактериозов, наружная обработка гнойно-воспалительных поражений стафилококковой этиологии и др.).
- 4. Для оценки санитарного 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

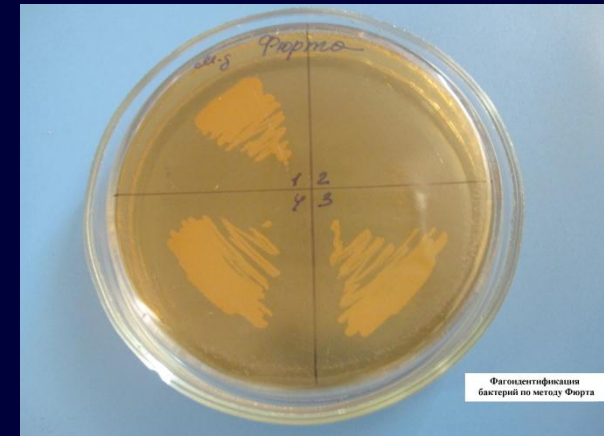
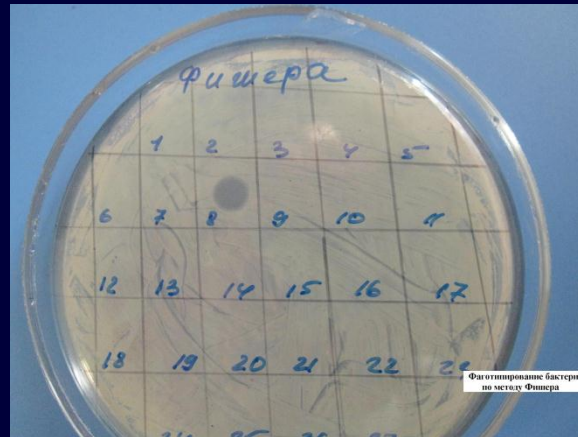


**Phage lysis**

# 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



Гель-спрей для полости рта Sengara с бактериофагами и пребиотиками и Гель-спрей «Монарда» с бактериофагами для очищения воздуха в помещении

# Фаготерапия – альтернатива а/б

- ◆ 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.

Фаговый препарат «Фагодерм». Предназначен для профилактики и лечения раневых инфекций и гнойно-воспалительных осложнений в хирургии, вызываемых 16 патогенными штаммами



# 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!**

У вирусов обнаружено свыше 10 ферментов, разных по своему происхождению и функциональному назначению:

По **происхождению** ферменты делятся на три группы:

- вирионные,
- вирусиндуцированные;
- клеточные, модифицированные вирусами.

По **функциональному назначению** делятся на две группы:

- ферменты, участвующие в процессе репликации и транскрипции вирусной нуклеиновой кислоты (репликазы, транскриптазы),
- ферменты, способствующие проникновению вирусной нуклеиновой кислоты в клетку хозяина и выходу образовавшихся вирионов (нейраминидаза, лизоцим и АТФ-аза).