Бактериофаги
- вирусы бактерий

СПбГУ
2014

Вопросы

- 1. Актуальность проблемы
- 2. История открытия фагов. Определение и терминология.
- 3. Строение фагов
- 4.Стратегия поведения фагов
- 5. Жизненный цикл вирулентных фагов
- 6. Жизненный цикл умеренных фагов
- 7. Вирусная конверсия
- 8. Классификация фагов: нитевидные фаги и полиэдрические фаги
- 9. Лечебные бактериофаги.

1вопрос. **Актуальность проблемы**

- Ведущую роль в этиологии гнойно-воспалительных заболеваний играют лекарственноустойчивые (резистентные) штаммы условно-патогенных бактерий.

- Применение АМП может быть мало эффективным, сопровождаться нарушениями нормальной микрофлоры и вести к формированию резистентных штаммов бактерий, а также иммунодефицитных состояний и аллергизации макроорганизма.

Преимущества лечебных бактериофагов (БФ) по сравнению с АМП

- БФ поражают как чувствительные, так и лекарственноустойчивые клетки возбудителей заболеваний.
- БФ способны лизировать бактерии до полной их элиминации из очага воспаления.
- Т.о., БФ участвуют в восстановлении нормальной микрофлоры (микробиоценоза).

ОСОБЕННОСТИ ЛЕЧЕБНЫХ БФ

Высокая специфичность к бактериальным клеткам-мишеням.

Хорошая совместимость с другими лекарственными средствами при терапии кишечных, респираторных и урогенитальных инфекций у детей и взрослых.

- Противопоказаний к приему БФ нет.

2вопрос. **БФ определения и терминология**

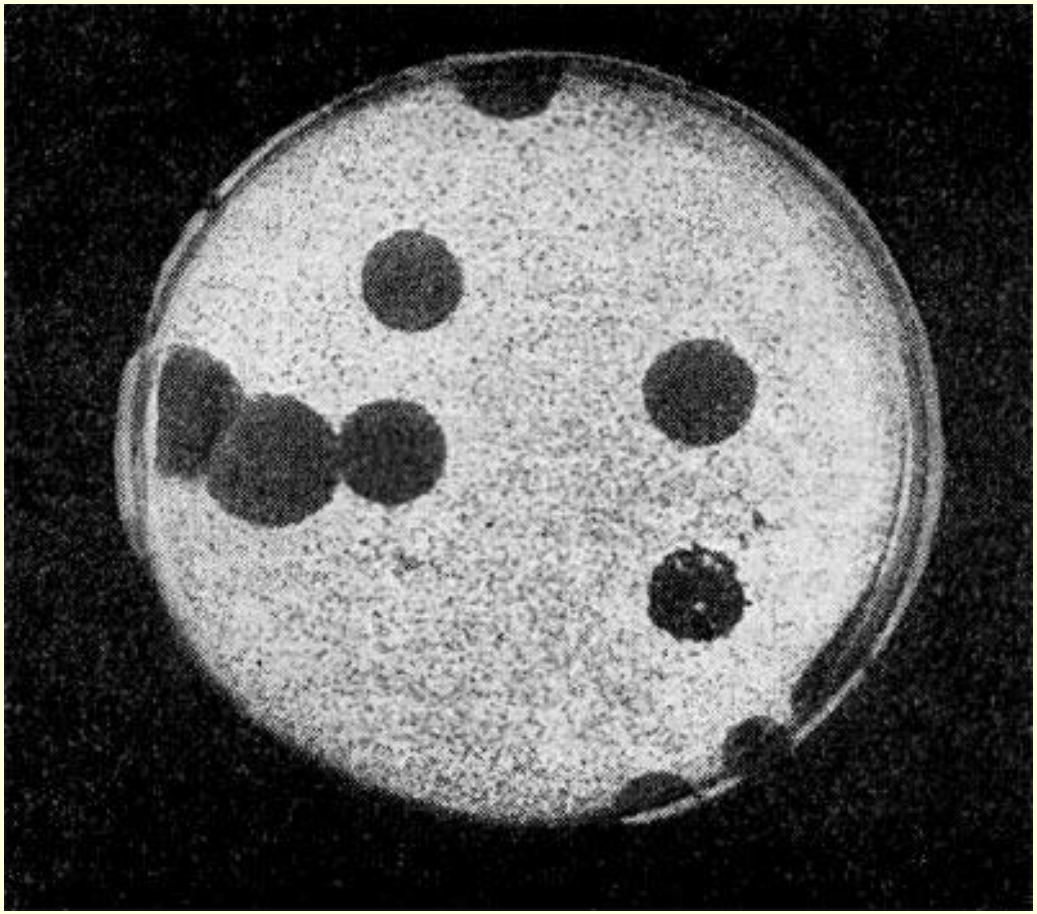
- БФ (фаги)- вирусы бактерий.
- Облигатные паразиты на молекулярном уровне.
- Нападают на своих хозяев-бактерий.
- Вне бактериальной клетки - не активны.
- Полностью зависят от жизнедеятельности бактерий и существуют за их счет:
- для репликации генома и образования новых частиц используют белки и ферменты бактерий.
- высвобождение БФ сопровождается гибелью клеток-хозяев.

История открытия БФ

- Феликс д’Эррель
- (1873-1949). Военный врач
- (Франция)
- В 1917 г.
- опосредованно
- изучал лизис бактерий
- и обнаружил БФ

Негативные колонии БФ - результат лизиса бактерий

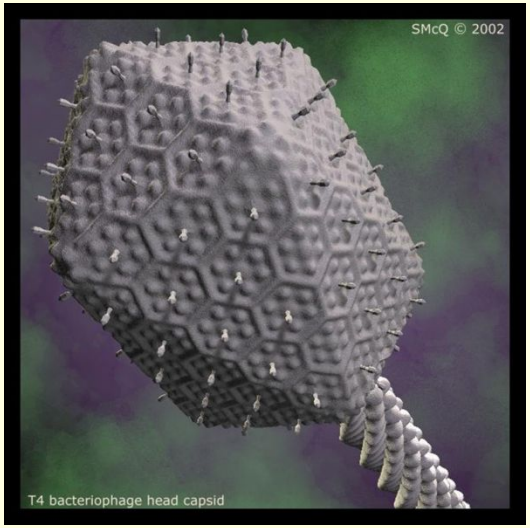
- Shigella dysenteriae



Визуализация БФ

- первый электронный микроскоп –
- Германия 1940 г.
- братья Руска (врач и физик)
- 1942 г. – впервые увидели БФ

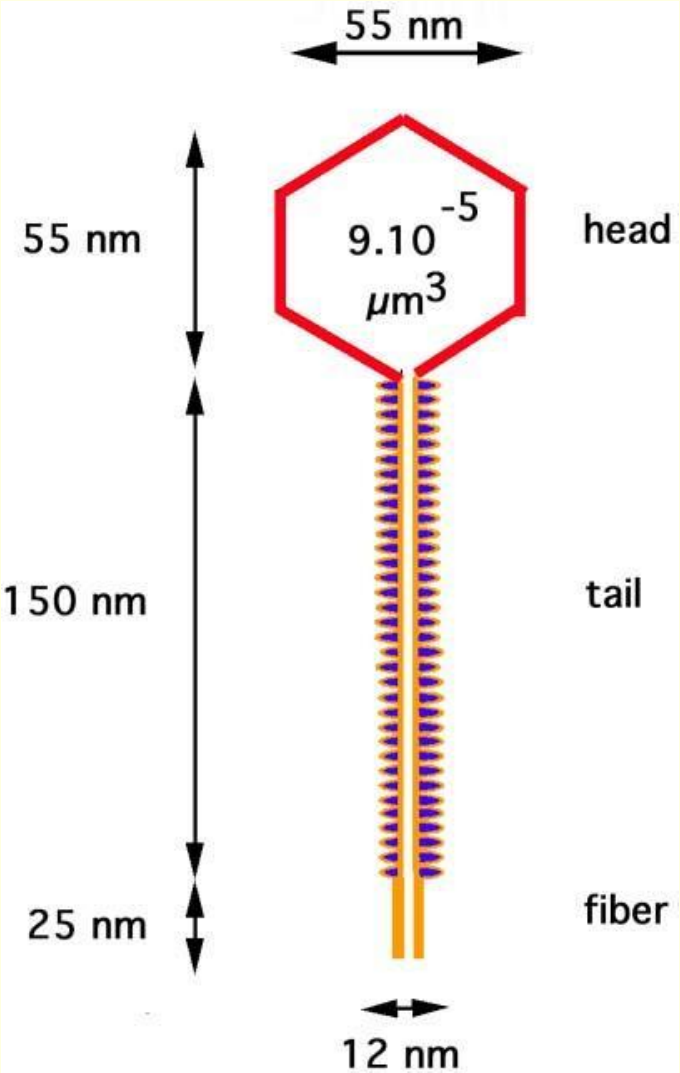
- **БФ Т4 (компьютерная графика)**



3 вопрос. Строение БФ

- Строение БФ определяет их характер поведения:
- доставляют НК в клетку-хозяина, при этом сами остаются вне клетки в виде "тени«.
- "Тень" – пустая головка БФ.
- Головка содержат генетический материал: ДНК или РНК.
- НК - линейная 2Н, реже 1Н.
- Головка - чаще только белковый капсид,
- реже содержит мембрану от клетки-хозяина.
- Капсид - 2 функции: защитная и адсорбция.
- Специализированное приспособление для адсорбции - отросток с базальной пластиной, но может и отсутствовать.

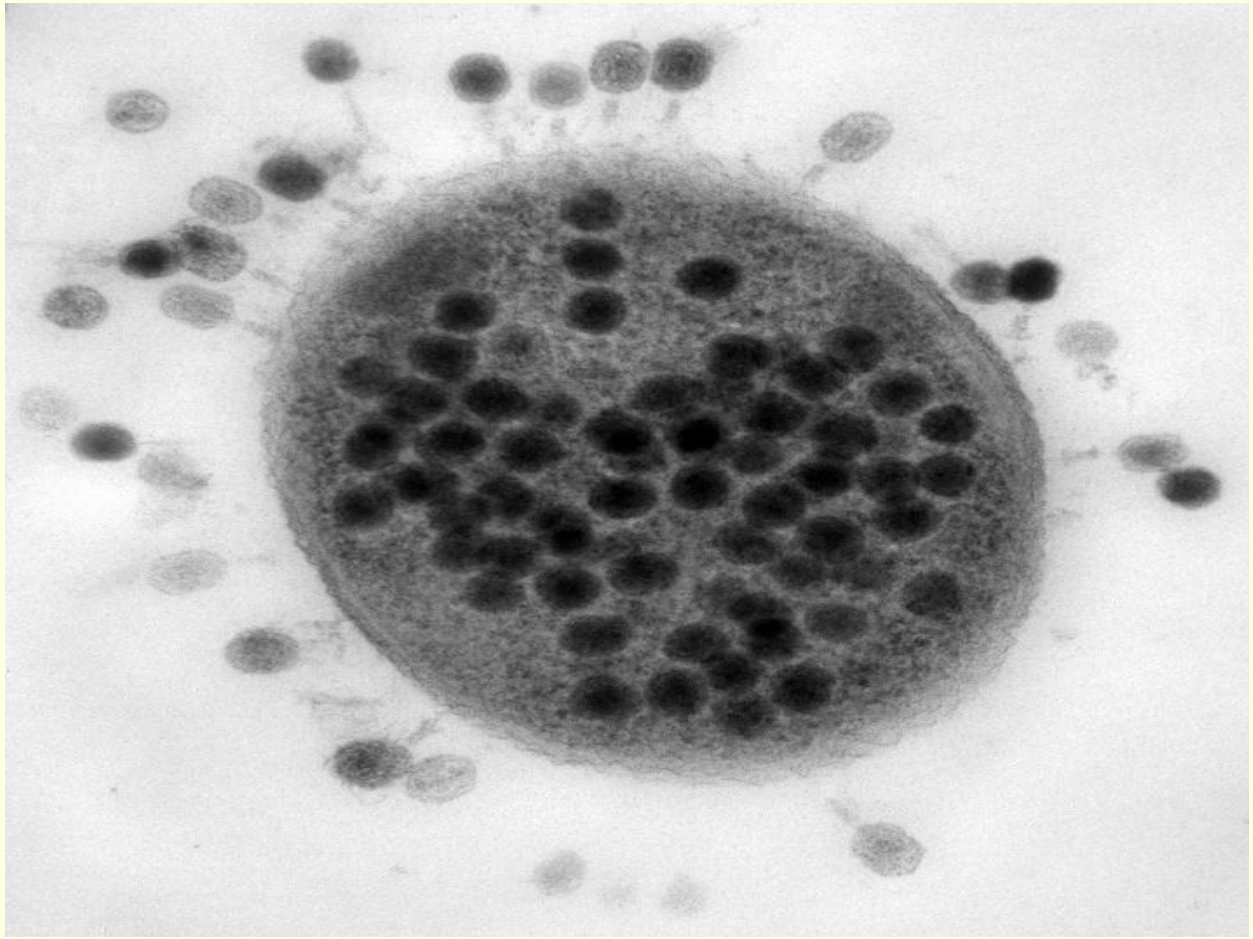
Схема строения Фага-λ *E.coli*



4вопрос. Стратегия поведения БФ

- У БФ рецепторы (нити) – специфические к определенным БК.
- Наличие специфических рецепторов определяет возможность заражения БК.
- Доставка НК в клетку-хозяина.
- Пустой капсид ("тень") остается с внешней стороны БК.
- Стратегия поведения связана с особенностями строения БК и их клеточной стенки.
-

Инфицирование БФ Т4 клетки E.coli K12

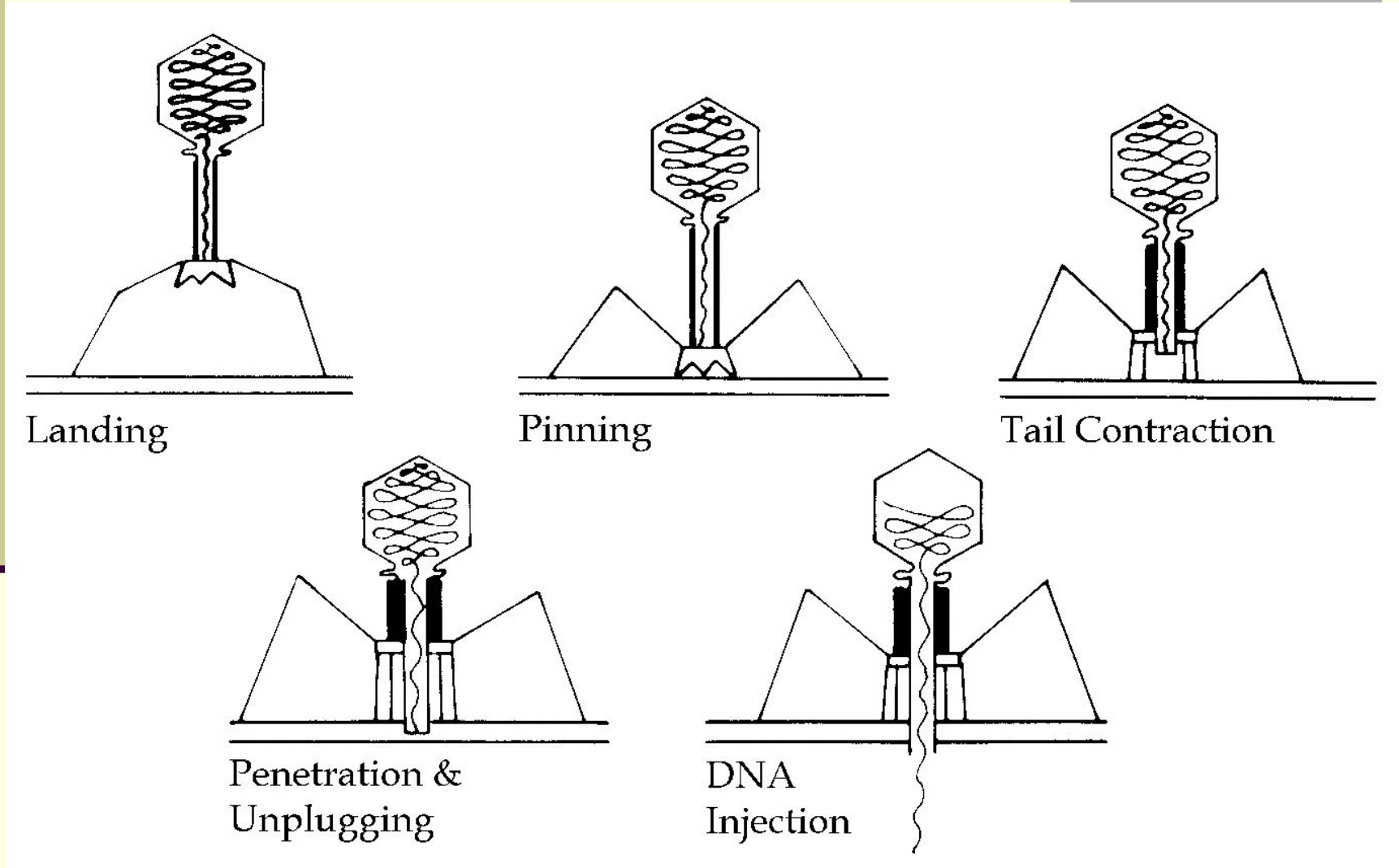


Этапы инфекционного процесса

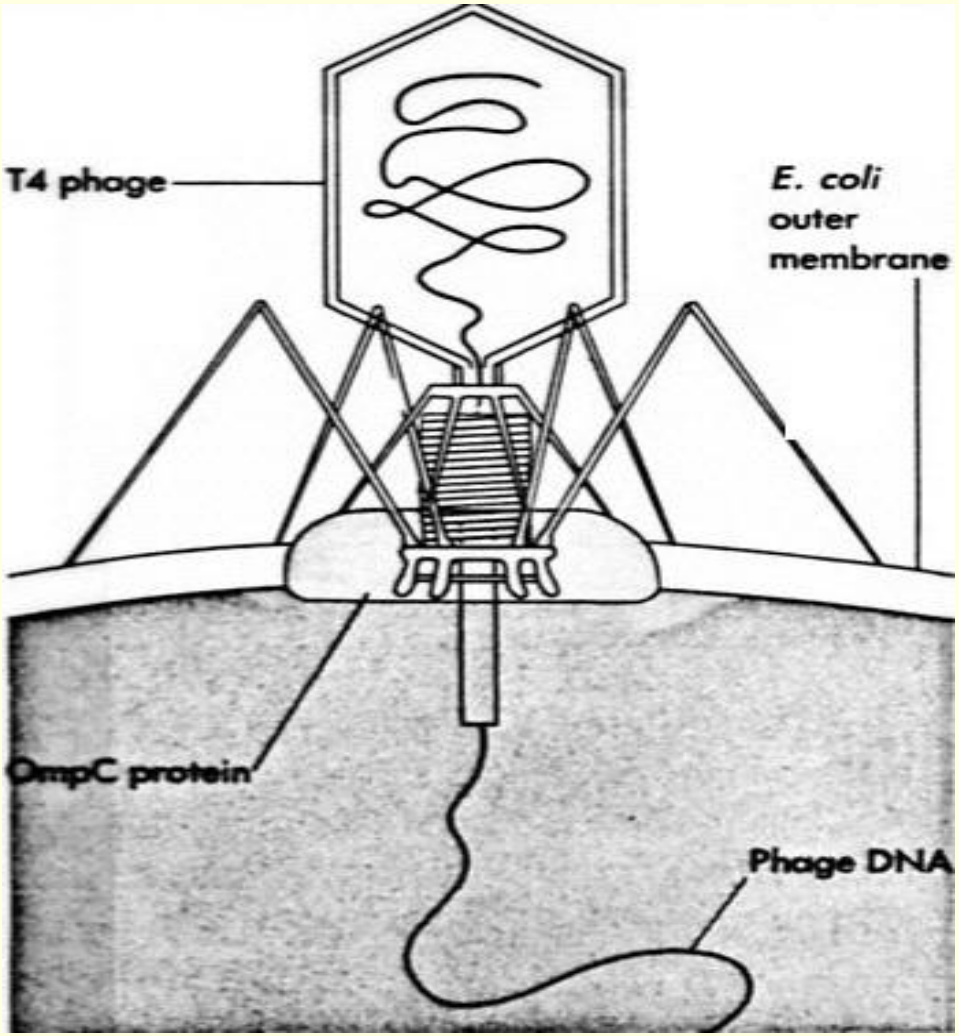
- 1. Адсорбция к соответствующим рецепторам БК на поверхности клеточной стенки:
- 1. обратимая (фаг отрывается)
- 2. необратимая (плотное присоединение)

- **На данном свойстве БФ основан метод диагностики бактерий - фаготипирование**
- Имея набор фагов, можно определить их хозяев.

Стадии адсорбции БФ:приземление, прикрепление, сокращение отростка, проникновение отростка, инъекция ДНК

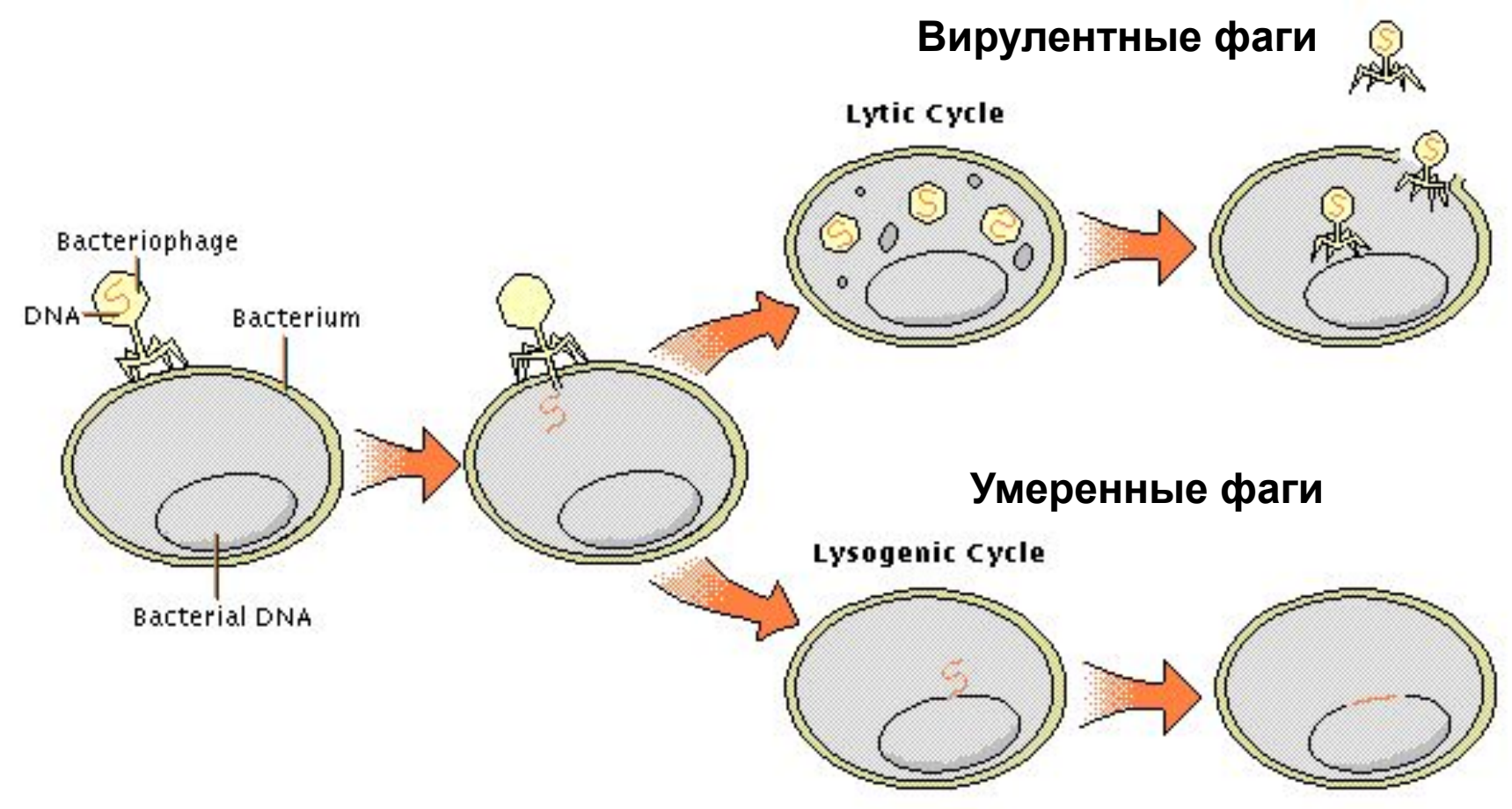


Адсорбция фага Т4 и проникновение ДНК в клетку *E. coli*



Варианты развития инфекции:

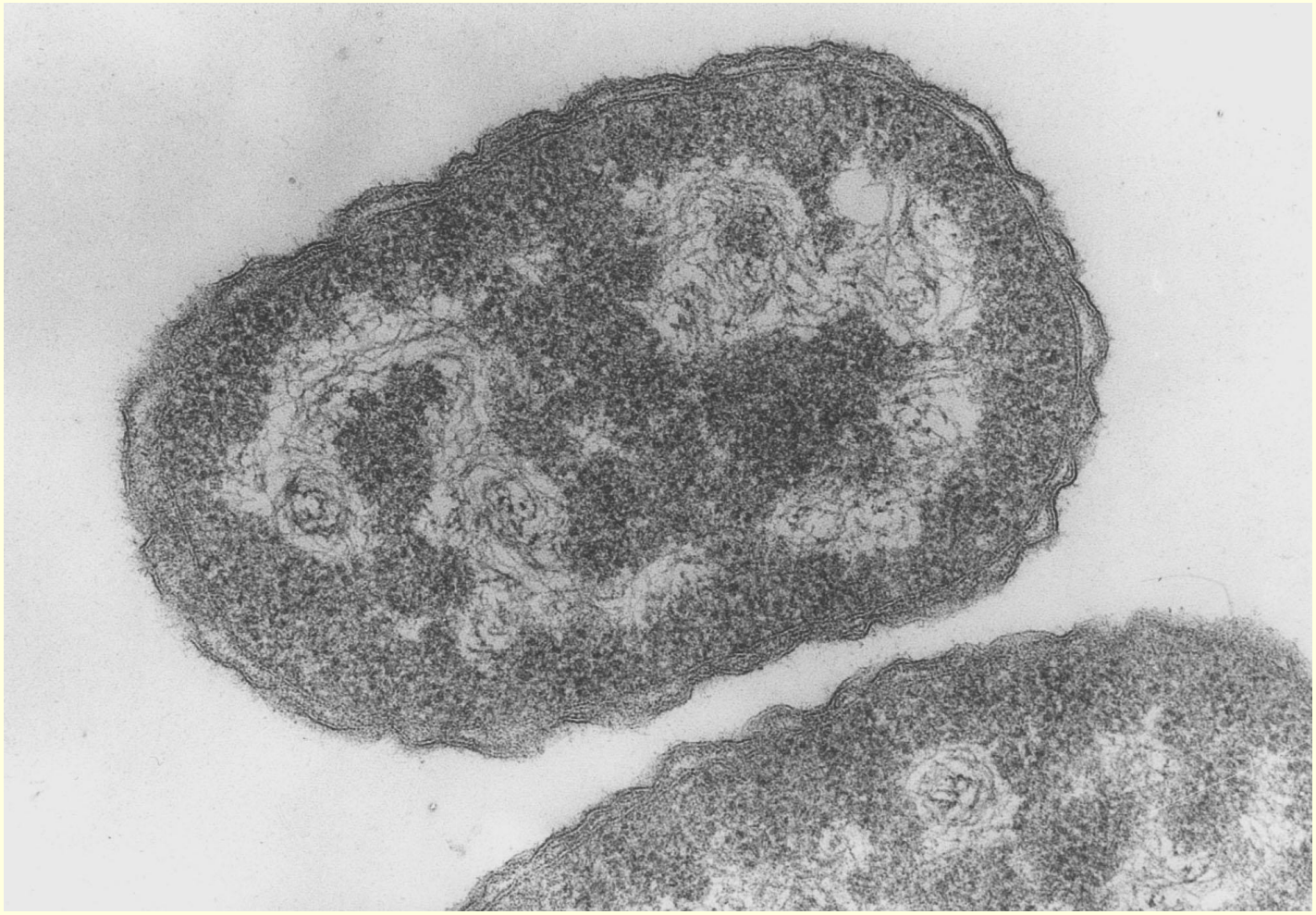
в зависимости от свойств и стратегии поведения БФ делят на 2 группы



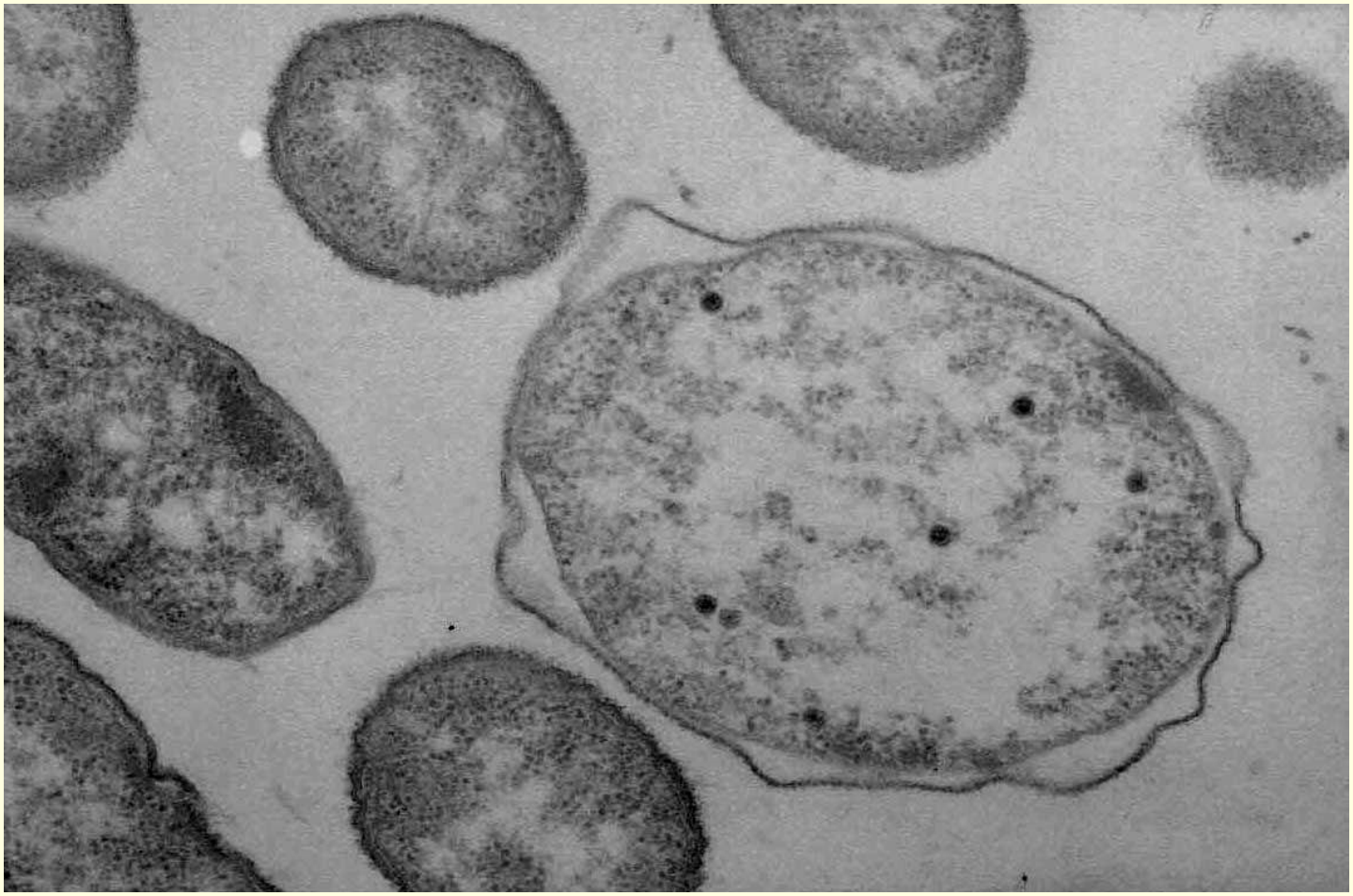
5 вопрос. Жизненный цикл вирулентного фага (литический цикл)

- вызывают реальную инфекцию
- разрушение БК (литический процесс):
  - 1. адсорбция
  - 2. проникновение НК в клетку
  - 3. репликация НК
  - 4. синтез новых компонентов фаговых частиц и их сборка (морфопоэз)
  - 5. высвобождение фаговых потомков
- Вирулентные фаги реплицируются только в результате литического процесса

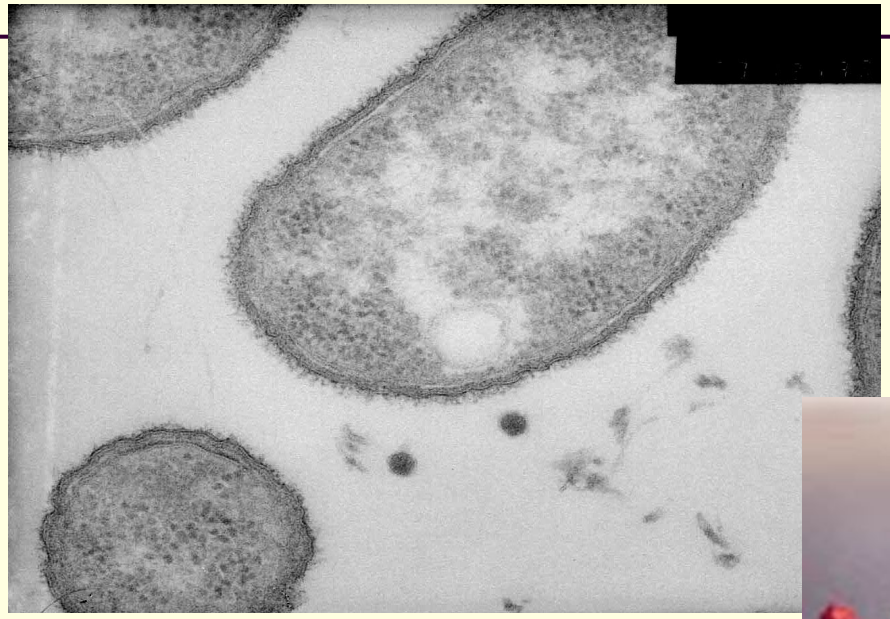
БФ – изменения в структуре нуклеоида

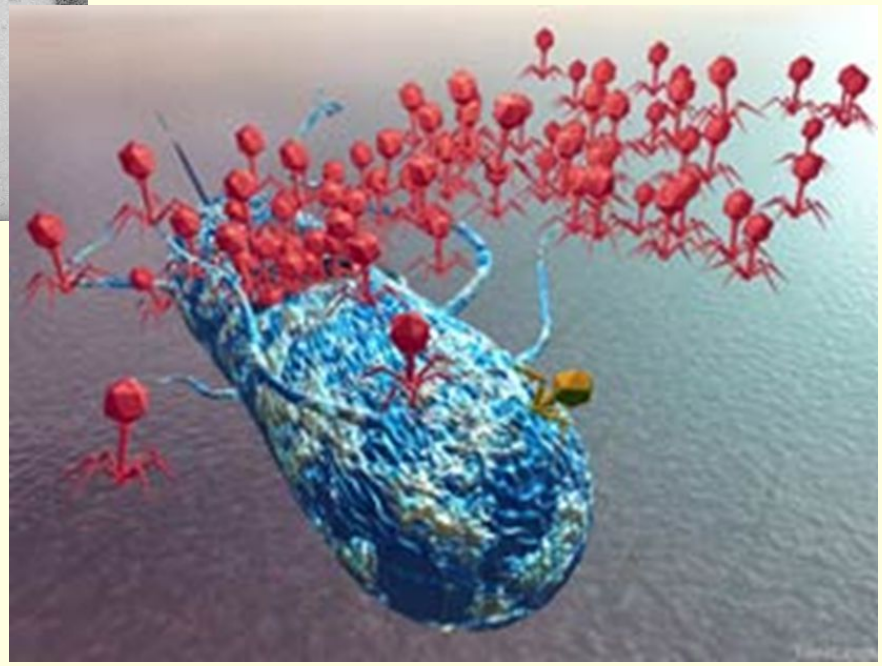


Образование БФ внутри БК



Выход БФ из БК (ТЭМ)





Выход БФ из БК
(комп. графика)

6 вопрос. Жизненный цикл умеренного фага (лизогенный процесс)

- 1. Вместо синтеза новых БФ и лизиса БК - репликация фаговой НК вместе с геномом клетки-хозяина - **лизогения**
- При этом БФ называется **профагом**
- 2. Существование профага в клетке-хозяина в:
- *а) свободном состоянии (плазмидоподобном)*
- *б) интегрированном состоянии в хромосому клетки-хозяина*
- 3. Интеграция в геном клетки-хозяина происходит:
- *в случайных участках и специфических участках*
- 4. Активация профага в лизогенных БК
- 5.Образование новых БФ и лизис БК

Механизмы торможения литического процесса

- В геноме умеренного БФ содержатся гены белка-репрессора (БР)
- БР подавляет активность других генов умеренного БФ,

что тормозит развитие литического процесса

- Бактерии, содержащие БФ в виде профага, называются лизогенными
- В любой момент профаг может активизироваться, что приведет к лизису БК.

Индукция литического процесса умеренных фагов

- Лизис может быть запущен:
- УФ-облучением,
- действием химических веществ (метамицин С),
- изменением температуры,
- спонтанный процесс.
- **При этом происходит:**
- разрушение белка-репрессора,
- индукция репликации фаговой НК,
- образование БФ - реализация литического процесса.

7 вопрос. Вирусная конверсия

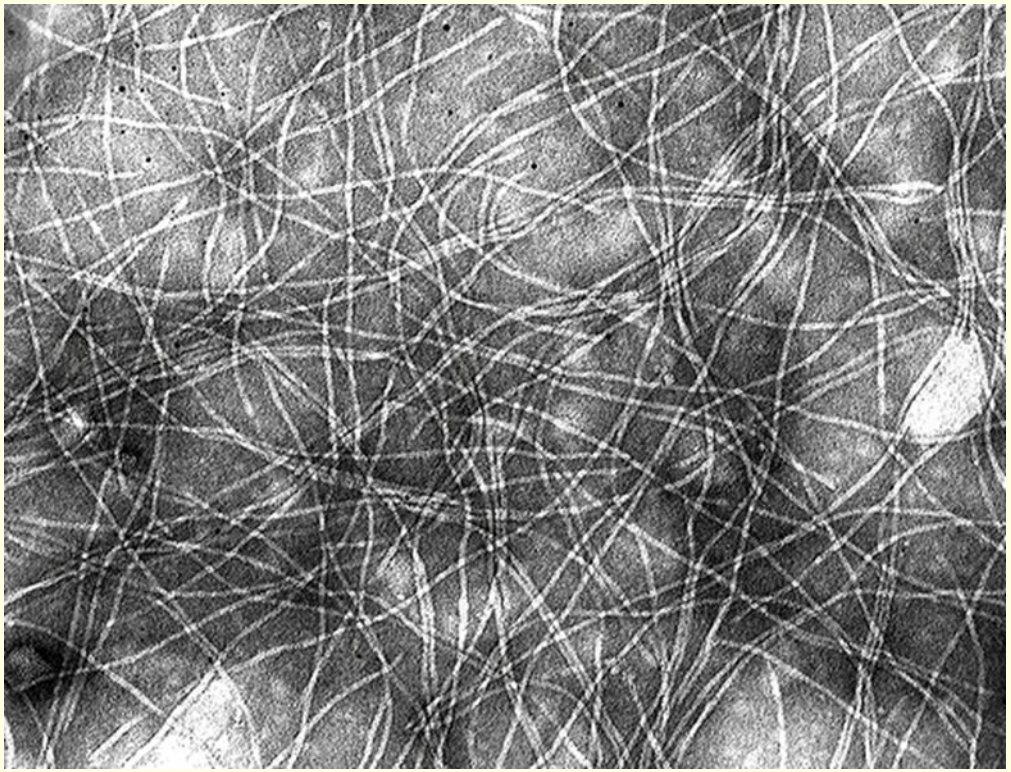
- С умеренными БФ связано явление вирусной конверсии -
- Изменение свойств **лизогенных** бактерий, содержащих **профаг**
- **Трансдукция** – передача определенных признаков, напр. о выработке токсинов:
- 1.*Corynebacterium diphtheriae* – содержат 11 умеренных фагов, 5 из них несут информацию о дифтерийном токсине.
- 2. род *Clostridium.*

8 вопрос. Классификация фагов: нитевидные и полиэдрические

- Основана на **морфологической характеристике:**
- размеров,
- формы вириона,
- природы НК,
- числе и функции белков,
- наличии или отсутствии липидов (мембраны от клетки-хозяина).

Морфологические типы БФ

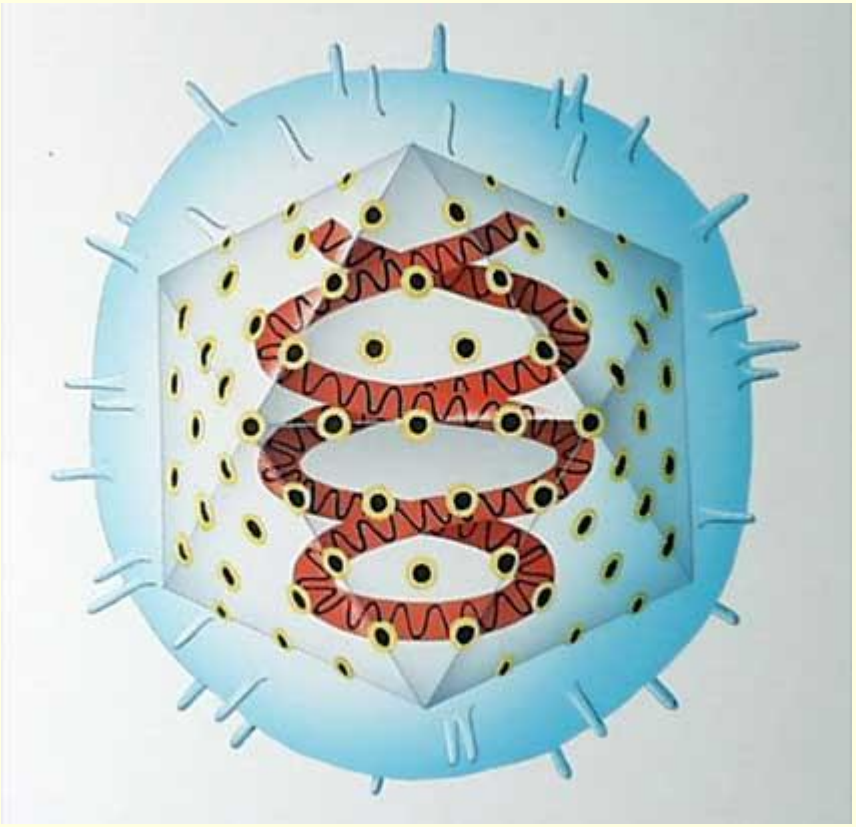
- I тип - нитевидные ДНК-содержащие фаги



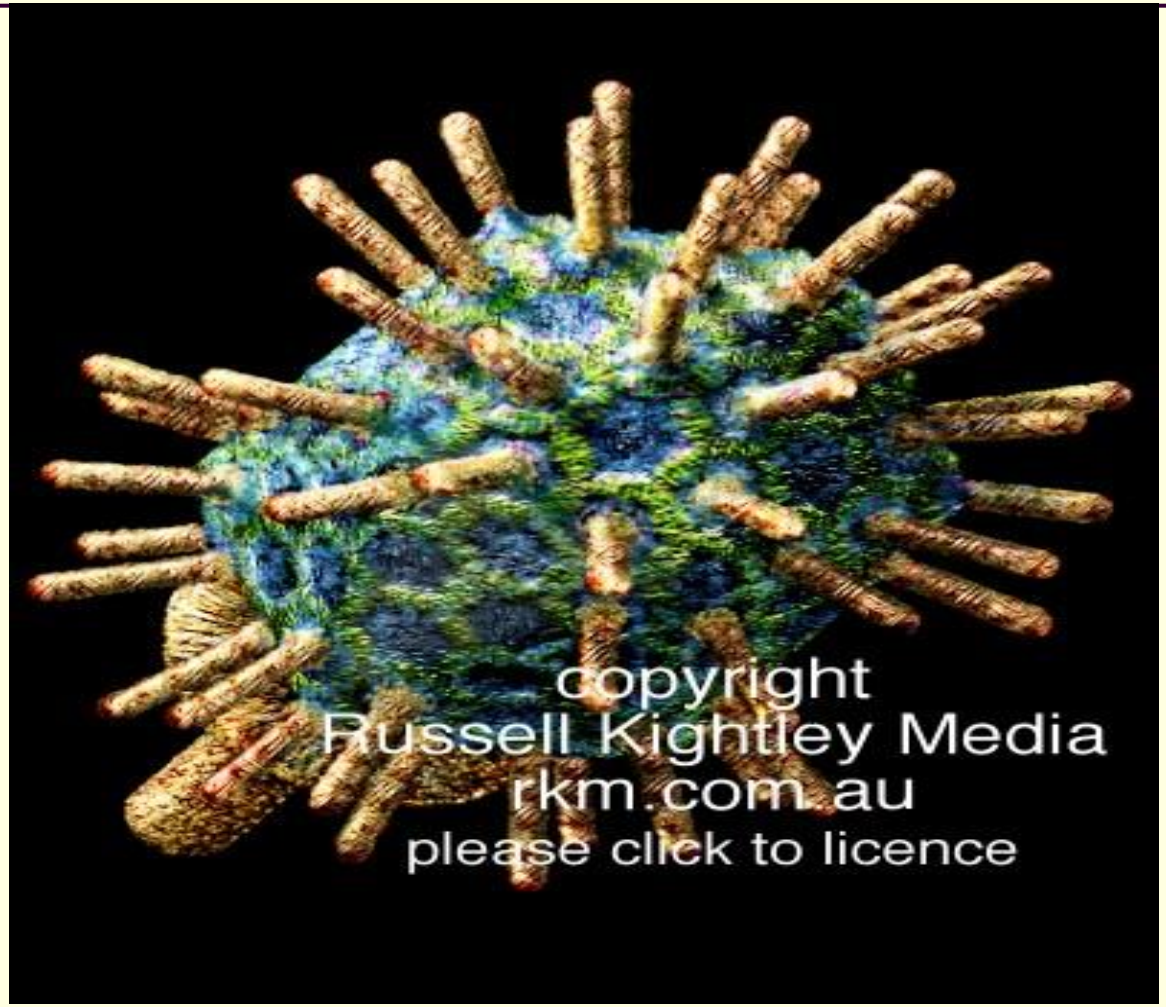
Нитевидные фаги (fd, M13)

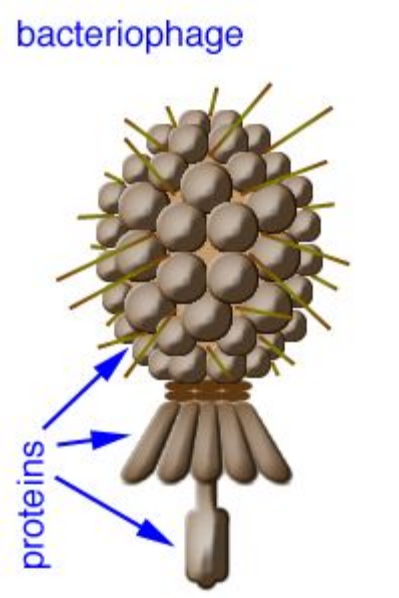
- Содержат кольцевую 1Н ДНК – хромосому,
- хромосома окружена белковым капсидом (оболочкой) продолговатой формы,
- ср. диаметр – 6 нм,
- ср. длина – 89 нм,
- капсид состоит из 1-го белка (сотни тысяч субъединиц),
- длина нитевидного капсида определяется длиной ДНК,
- несколько молекул специального белка, прикрепленного к одному из концов фага, формируют комплекс адсорбции.

II тип: фаги с аналоговыми отростками (РНК или 1Н ДНК)

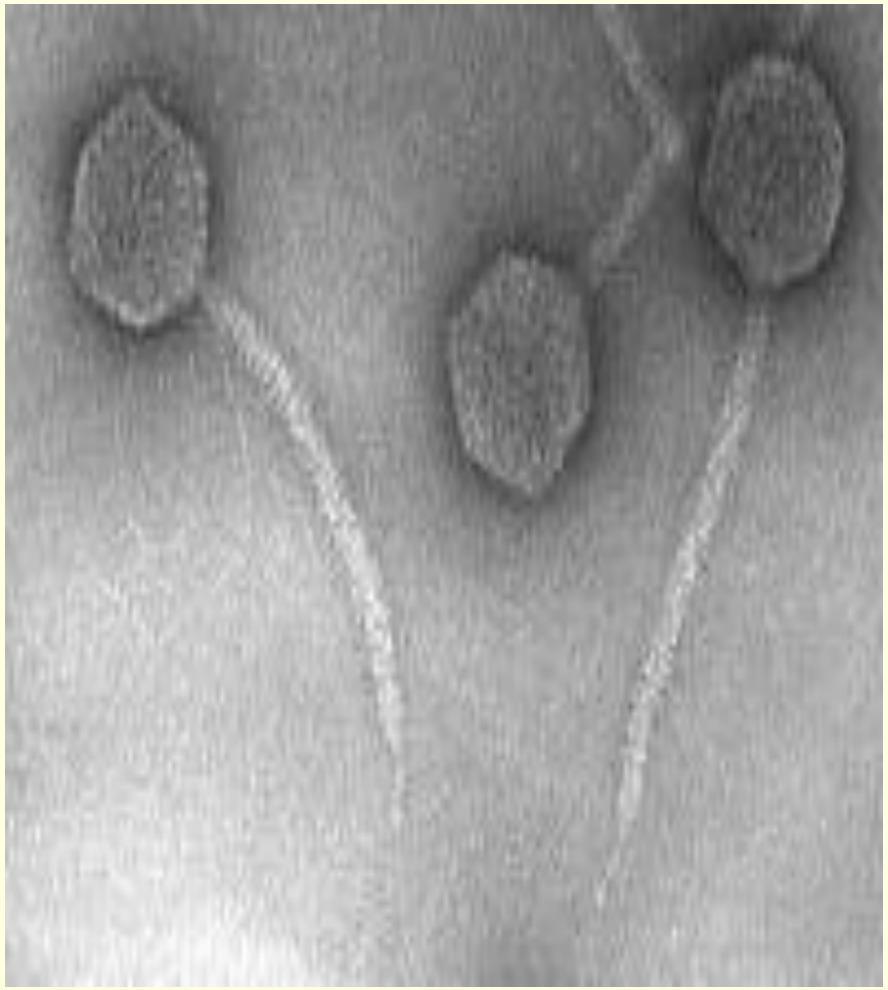


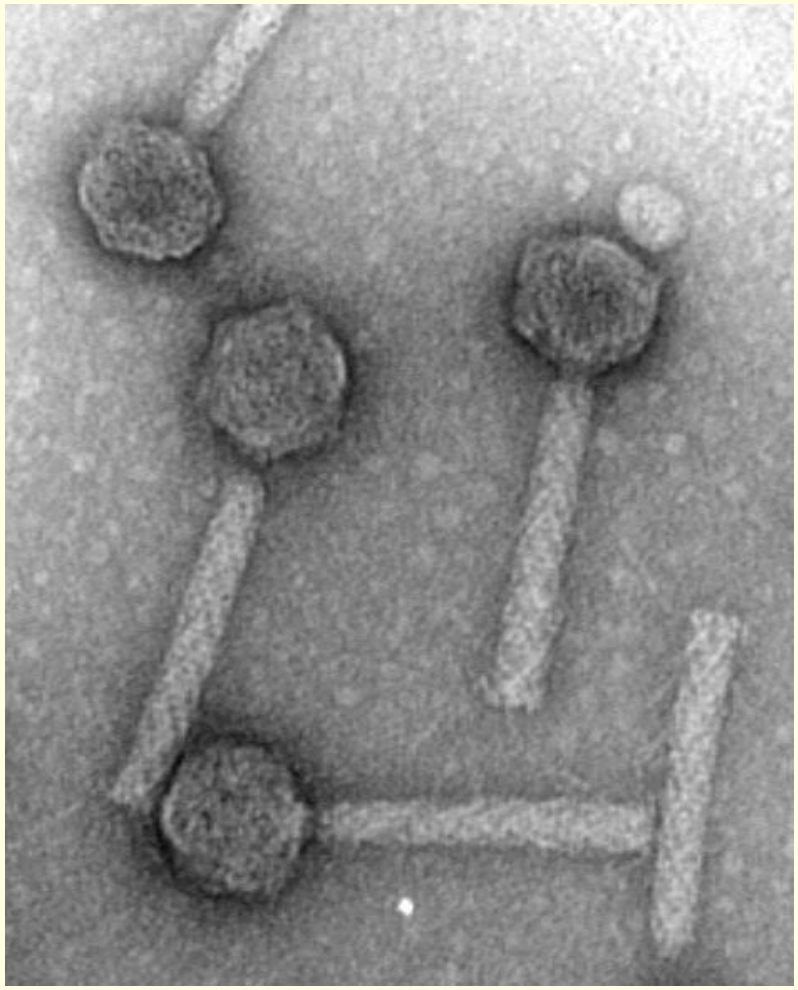
III тип: Фаги с коротким отростком (T3, T7)



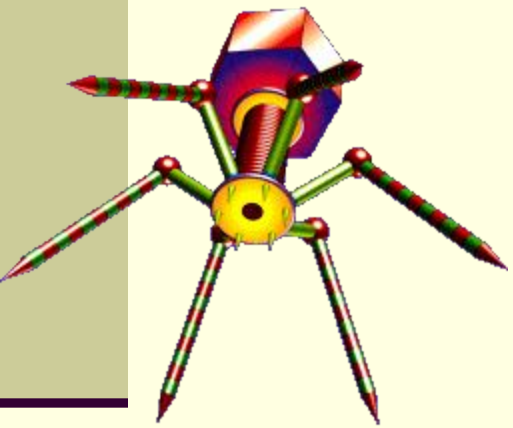


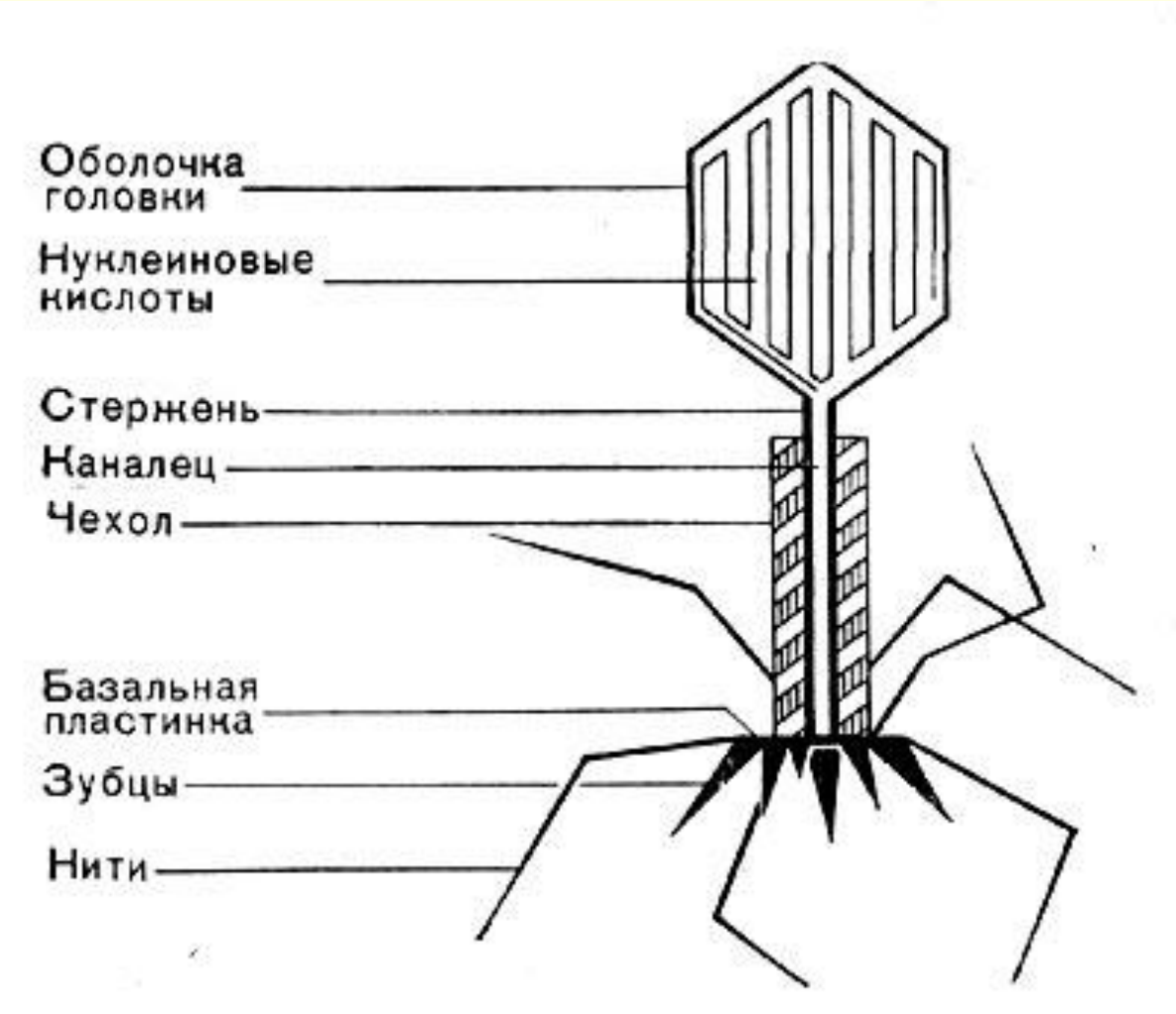
IV тип: Фаги с несокращающимся отростком 2Н ДНК (Т1, Т5)





V тип: Фаги с сокращающимся отростком и базальной пластинкой (Т2, Т4, Т6)





Полиэдрические фаги

- Сложное строение капсида:
- октаэдр (8-гранник),
- икосаэдр (20-гранник),
- в капсиде заключена плотно упакованная ДНК,
- от основания капсида отходит отросток – "органелла" адсорбции,
- типичный представитель – сем. Myoviridae

Сем. Myoviridae (БФ Т-серии)

- Т-четный фаг Т-4 -
- вирусы *E. coli.*
- Состоит:
- головка-капсид (ø 115 нм),
- отросток – сократительная
- структура из актиноподобного
- белка (*в полосочку*) (длина
- 100 нм),
- базальная пластинка – 6 игл,
- в основе шестигранник:
- 100 молекул АТФ, ионы
- кальция, лизоцим.

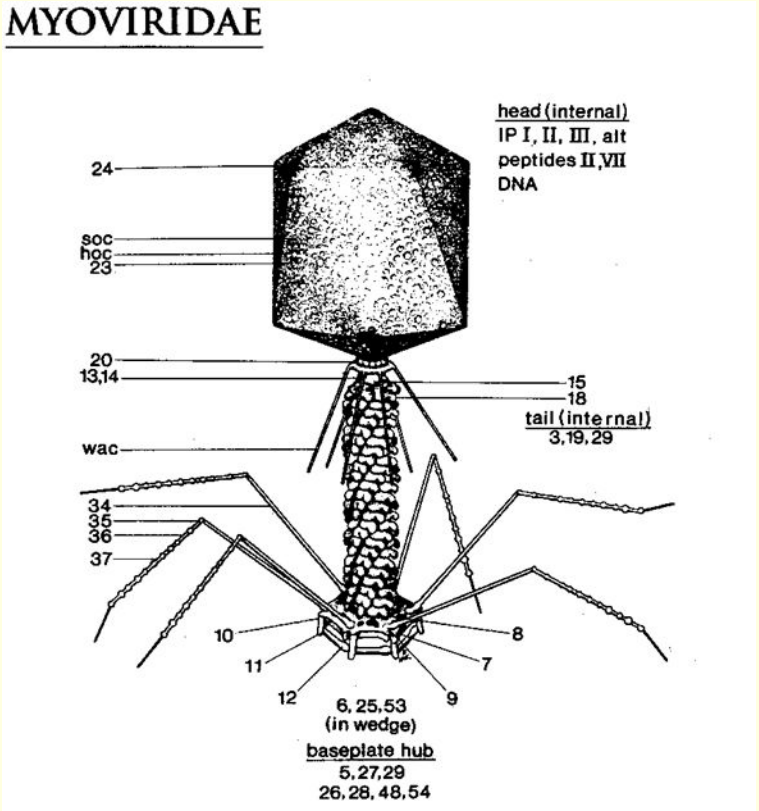


FIGURE 217
A splendid model of phage T4 (1983) showing detailed location of structural proteins. Head vertices consist of cleaved gp24. Gp20 is located at the head-tail connector. Collar and whiskers appear to be made of the same protein, gpwac. Sheath subunits (gp18) fit into holes in the base plate and short tail fibers (gp12) are in the quiescent state. The very complex base plate is assembled from a central plug and six wedges. Tail fibers consist of three proteins. (From Eiserling, F.A., *Bacteriophage T4*, Mathews, C.K., Kutter, E.M., Mosig, G., and Berget, P.B., Eds., American Society for Microbiology, Washington, DC, 1983, 11. Revised with permission.)

9 вопрос. **Лечебные БФ**

- **МОНОВАЛЕНТНЫЕ препараты БФ:**
- стафилококковый
- стрептококковый
- бактериофаг коли жидкий
- клебсиеллезный
- протейный
- синегнойный жидкий

Комбинированные препараты лечебных БФ

- **Из нескольких видов бактериофагов:**
- **коли-протейный,**
- **пиобактериофаг (против стафилококков, стрептококков, клебсиелл, протеев, синегнойной и кишечной палочек),**
- **интести-фаг (против шигелл, сальмонелл, стафилококков, энтерококков, протеев, кишечной и синегнойной палочек).**

СПОСОБЫ ПРИМЕНИЯ лечебных БФ

- аппликации на месте поражения,
- пероральный, подкожный, внутримышечный и
- внутрибрюшинный способы введения,
- клизмы,
- аэрозоли (введение в полость легких, в перикард и т.д.)

ВЫВОДЫ: Лечебные БФ- альтернатива АМП

- **Лечебные БФ подавляют как чувствительные, так и антибиотикоустойчивые бактерии.**
- **Рекомендовано использовать комплексные БФ с высокой специфической литической активностью, способные элиминировать возбудителей заболеваний без подавления нормальной микрофлоры.**
- **Важна идентификация и определение чувствительности возбудителя к БФ с целью выбора наиболее эффективного препарата.**

ОСТ 91 500.11.004-2003

- В Отраслевом Стандарте «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (Приказ МЗ РФ № 231, 2003), внимание педиатров ориентировано на профилактику и терапию дисбиотических состояний у детей пробиотиками и специфическими лечебными бактериофагами.