
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.

Вопрос. **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.

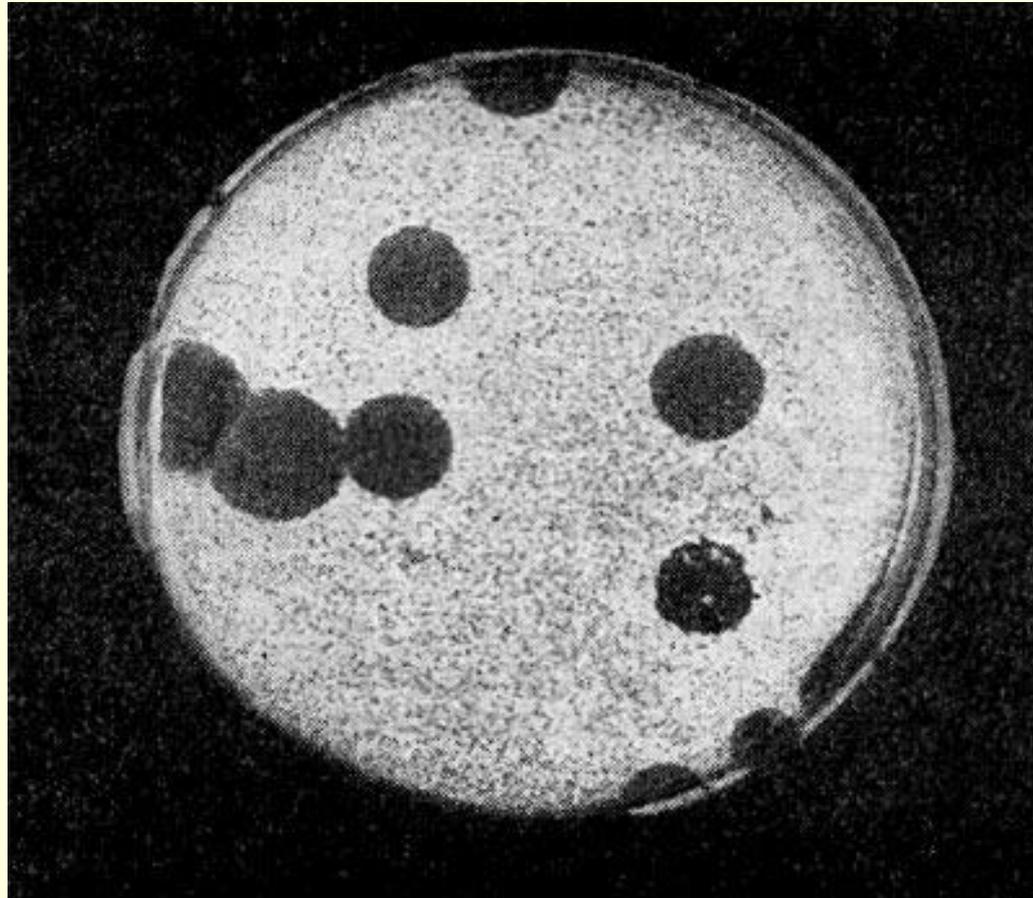
История открытия БФ

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



Негативные колонии БФ - результат лизиса бактерий

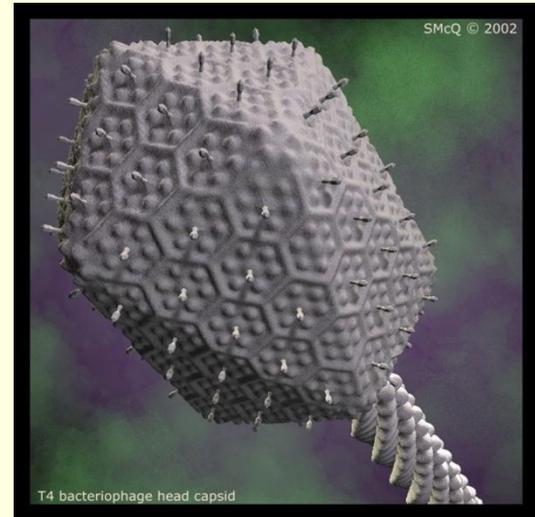
- *Shigella dysenteriae*



Визуализация БФ

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

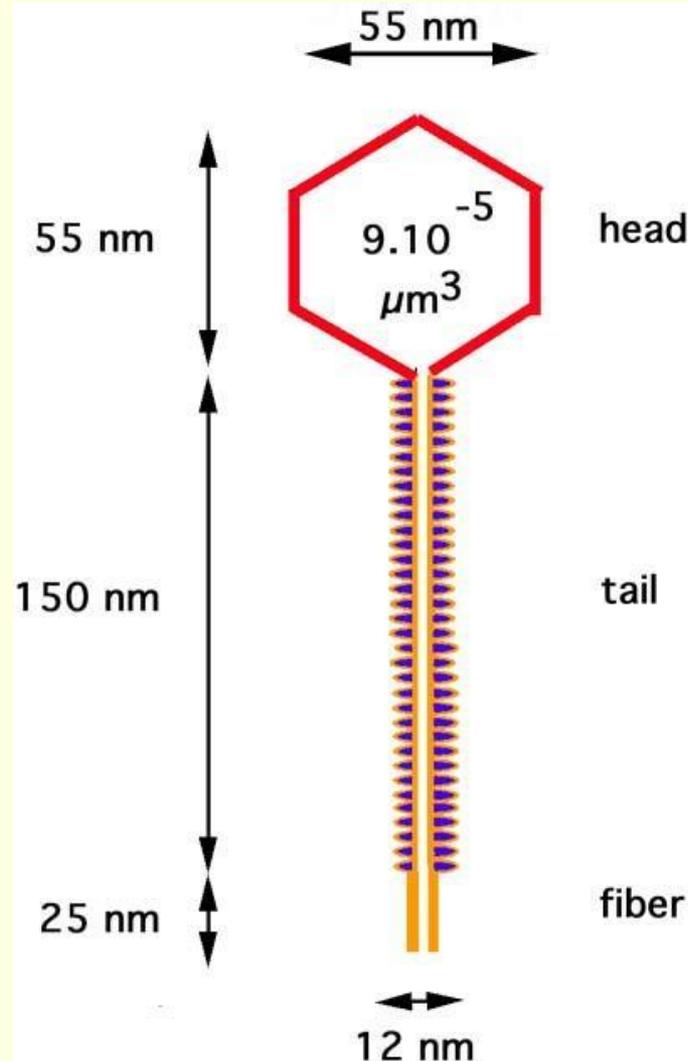
- **БФ Т4**
(компьютерная графика)



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.

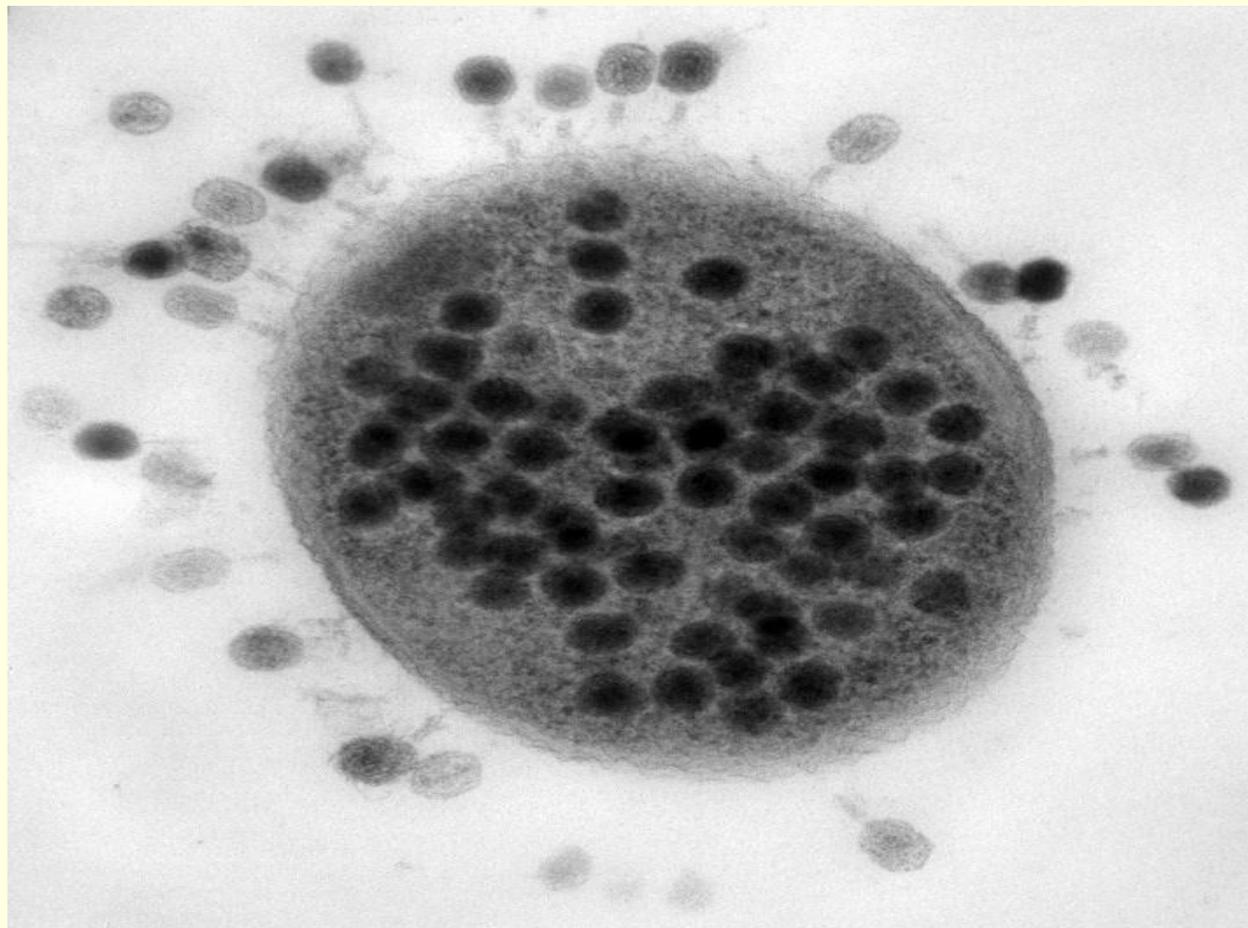
Схема строения Фага-λ *E.coli*



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.
-

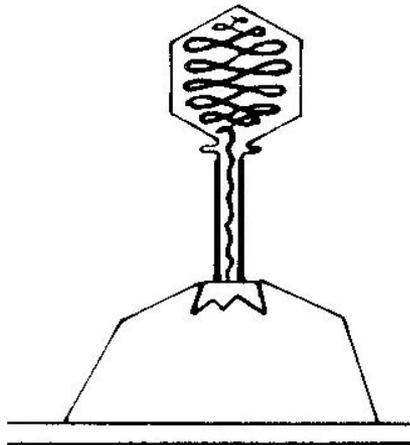
Инфицирование БФ Т4 клетки *E.coli* К12



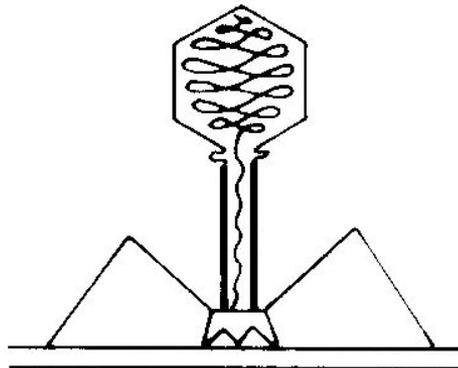
Этапы инфекционного процесса

- 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.

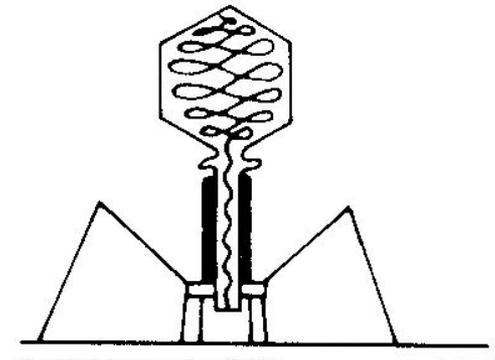
Стадии адсорбции БФ: приземление,
прикрепление, сокращение отростка,
проникновение отростка, инъекция ДНК



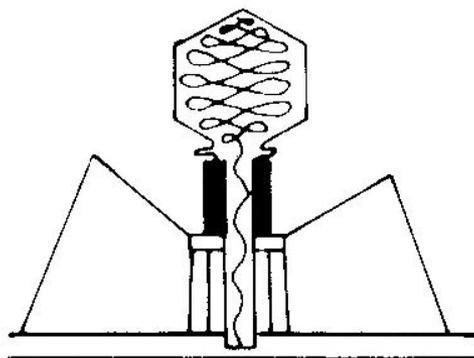
Landing



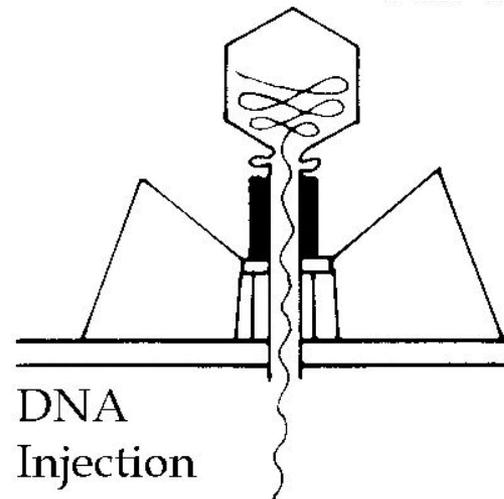
Pinning



Tail Contraction

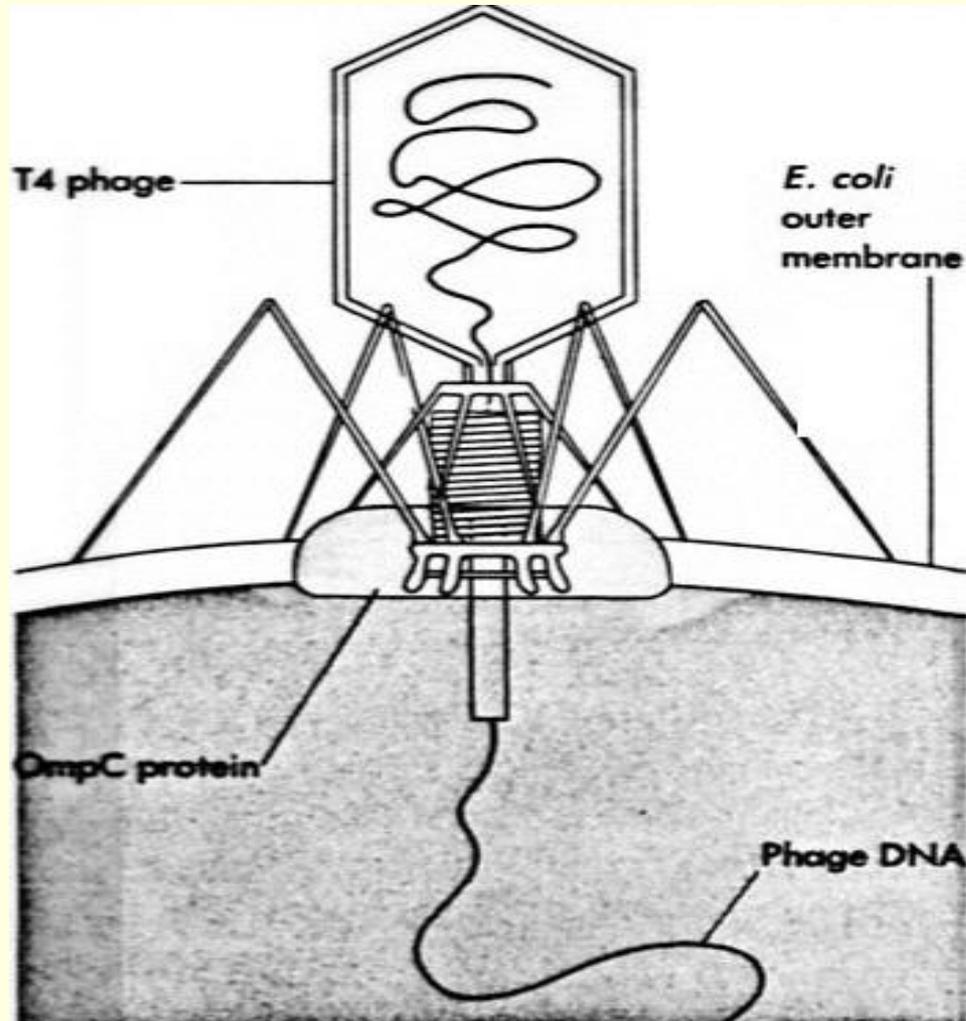


Penetration &
Unplugging



DNA
Injection

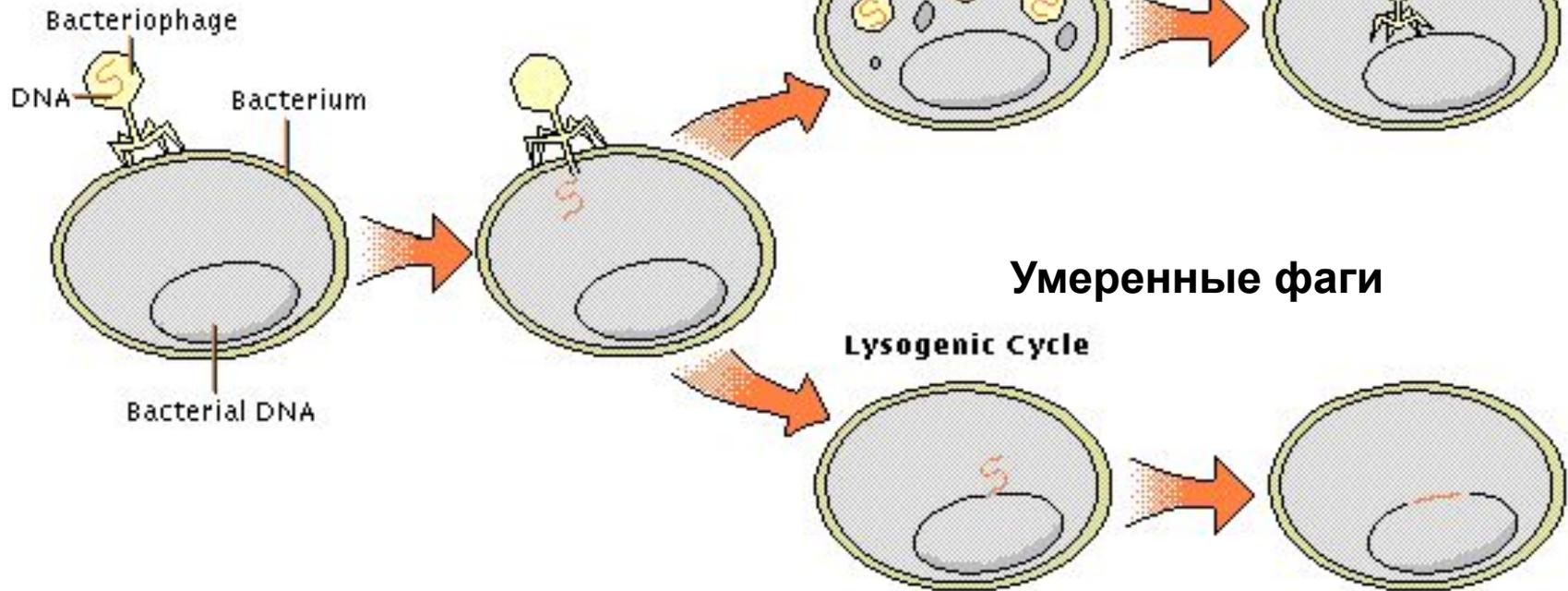
Адсорбция фага Т4 и проникновение ДНК в клетку *E. coli*



Варианты развития инфекции: в зависимости от свойств и стратегии поведения БФ делят на 2 группы

Вирулентные фаги

Lytic Cycle



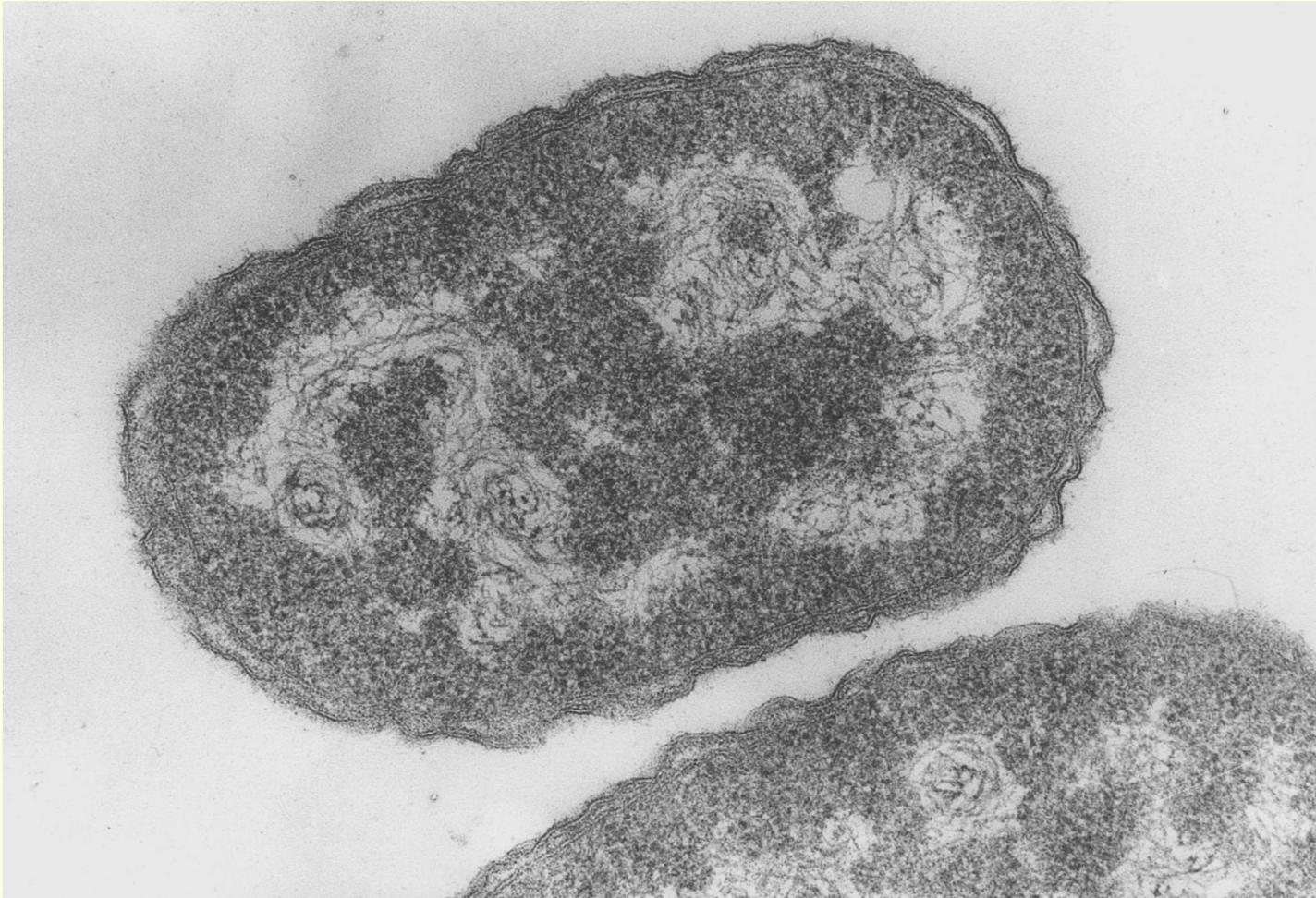
Умеренные фаги

Lysogenic Cycle

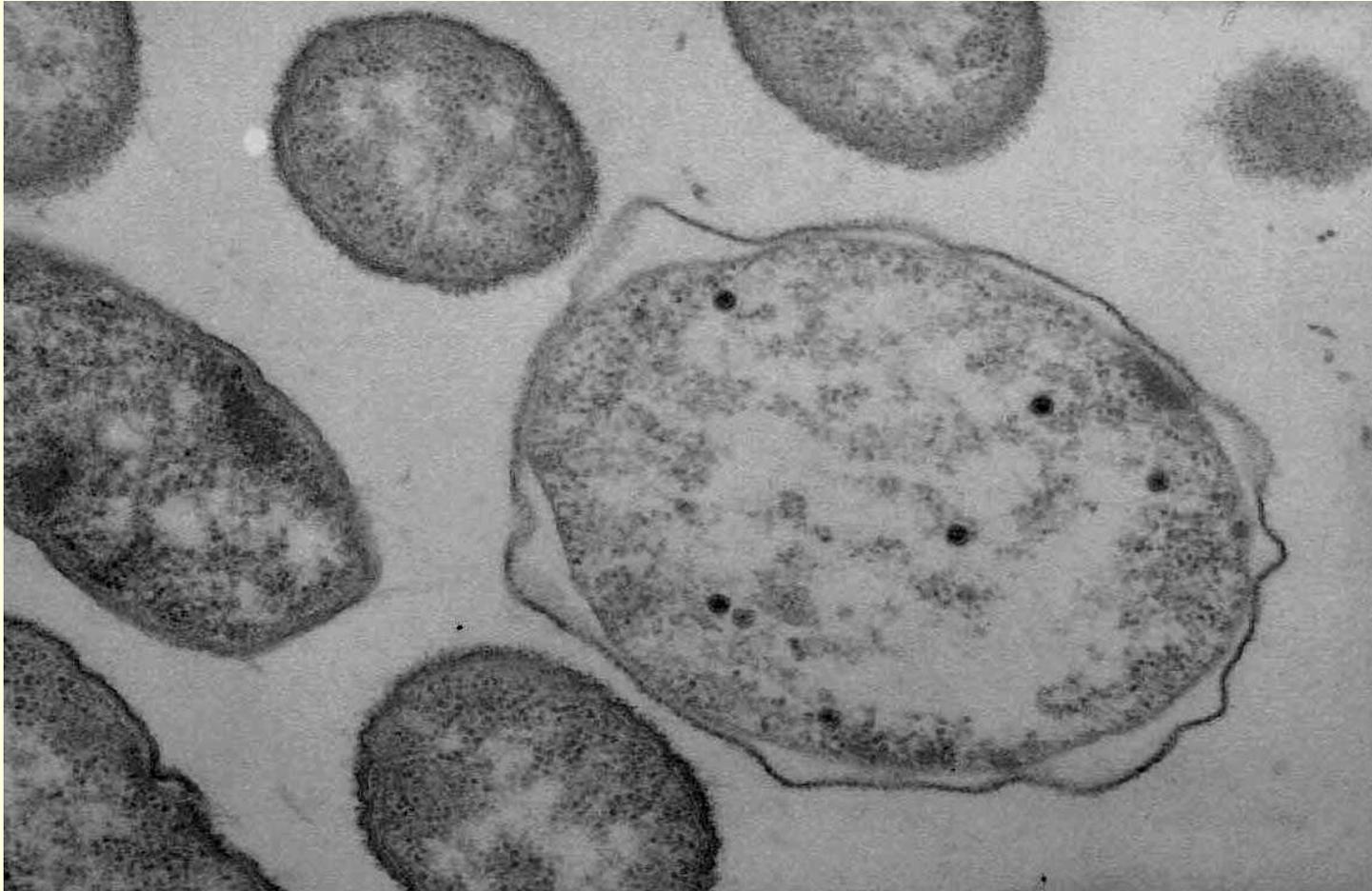
5 вопрос. Жизненный цикл вирулентного фага (литический цикл)

- 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 (морфопоз)
 - 5. высвобождение фаговых потомков
- Вирулентные фаги реплицируются только в результате литического процесса

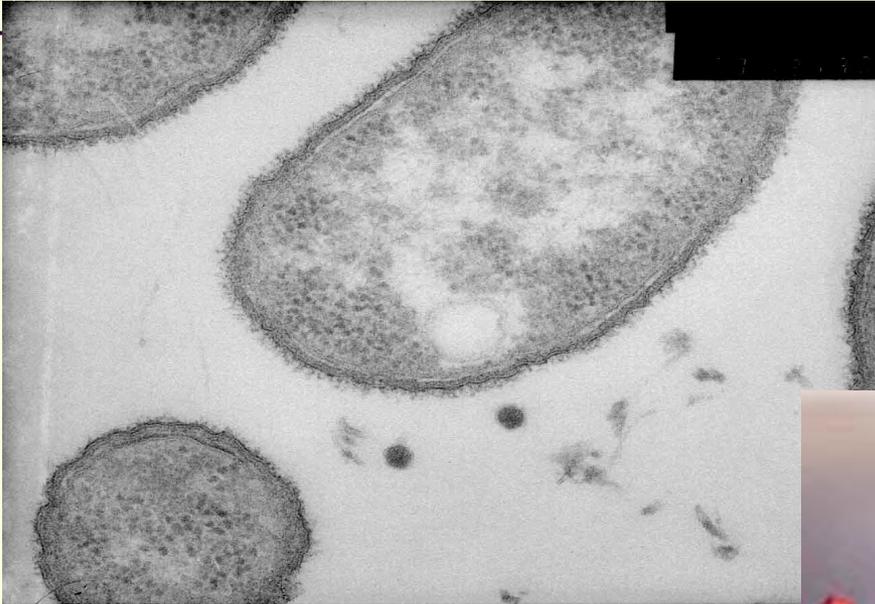
БФ – изменения в структуре нуклеоида



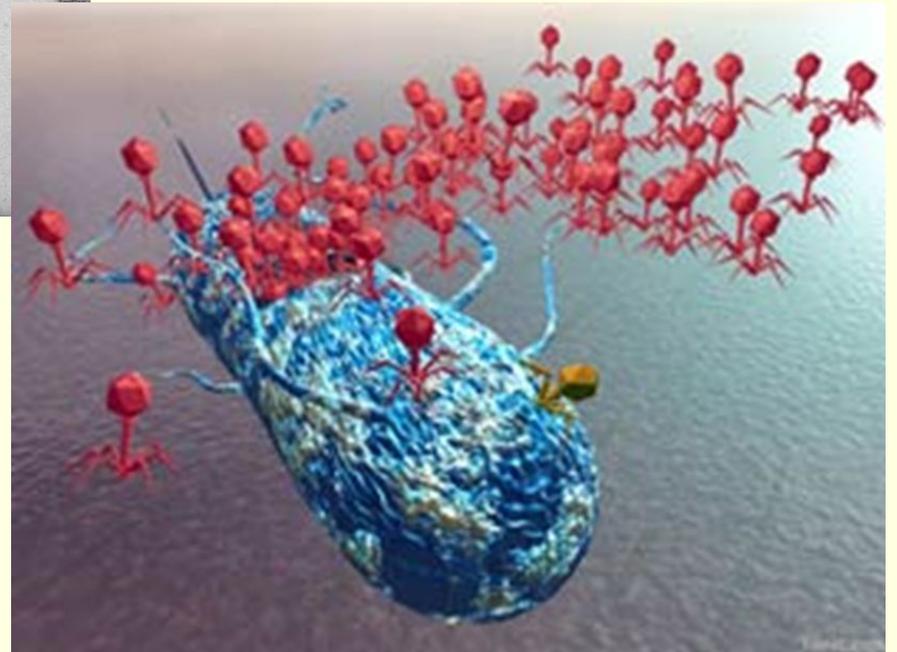
Образование БФ внутри БК



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

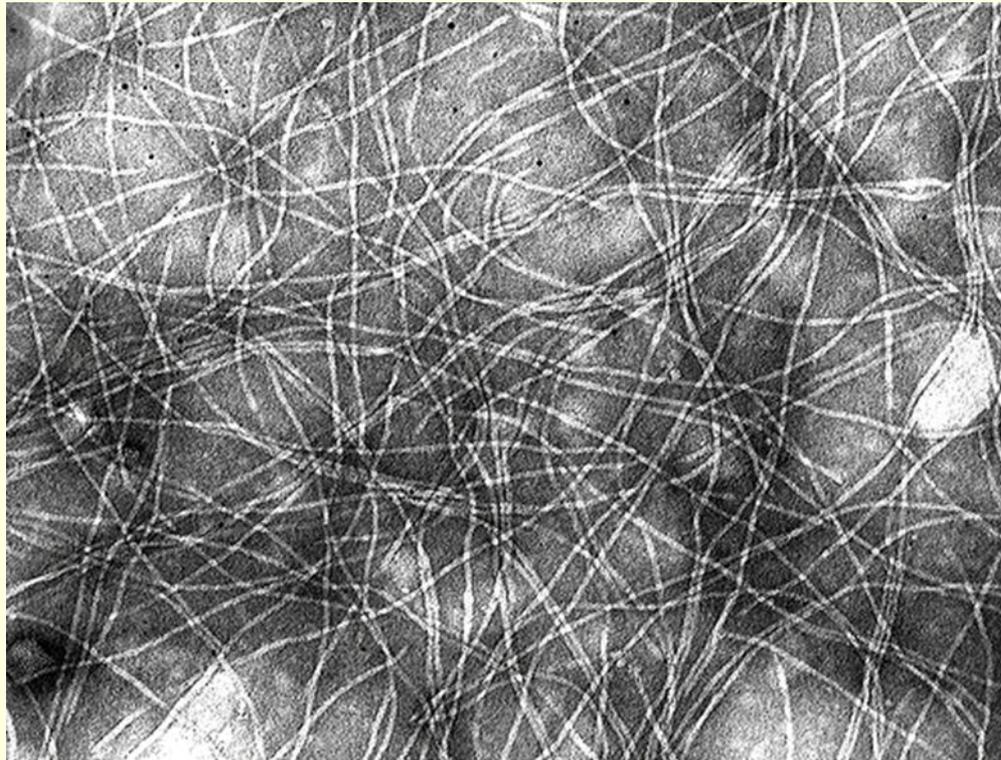
- С умеренными БФ связано явление вирусной конверсии -
- Изменение свойств **лизогенных** бактерий, содержащих **профаг**
- **Трансдукция** – передача определенных признаков, напр. о выработке токсинов:
- 1. *Corynebacterium diphtheriae* – содержат 11 умеренных фагов, 5 из них несут информацию о дифтерийном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

8 вопрос. Классификация фагов: нитевидные и полиэдрические

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

Морфологические типы БФ

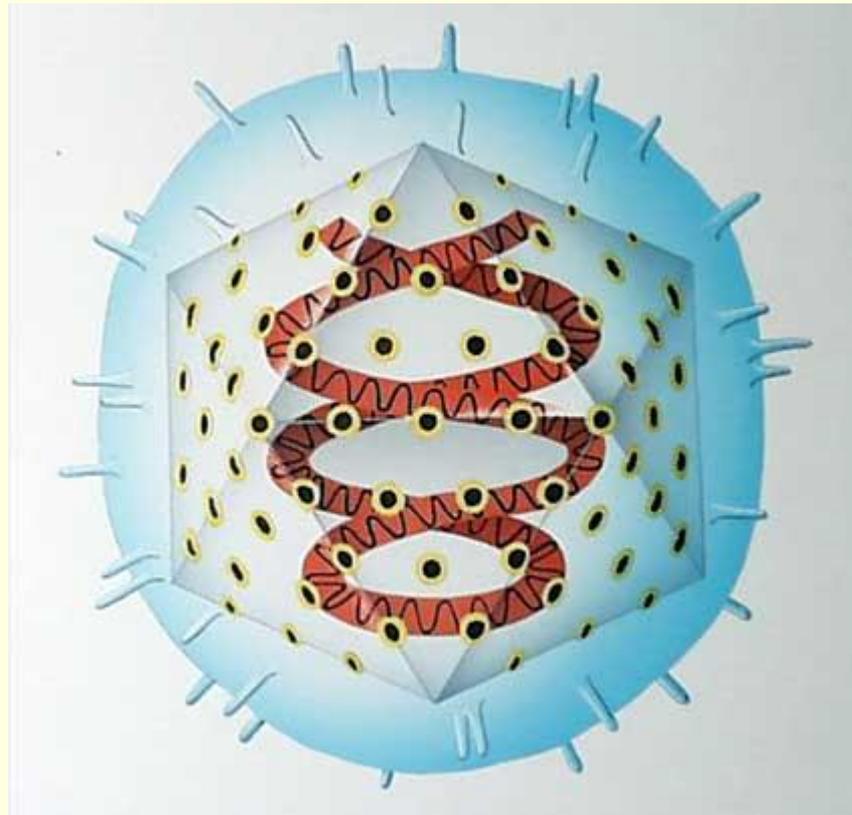
- I тип - нитевидные ДНК-содержащие фаги



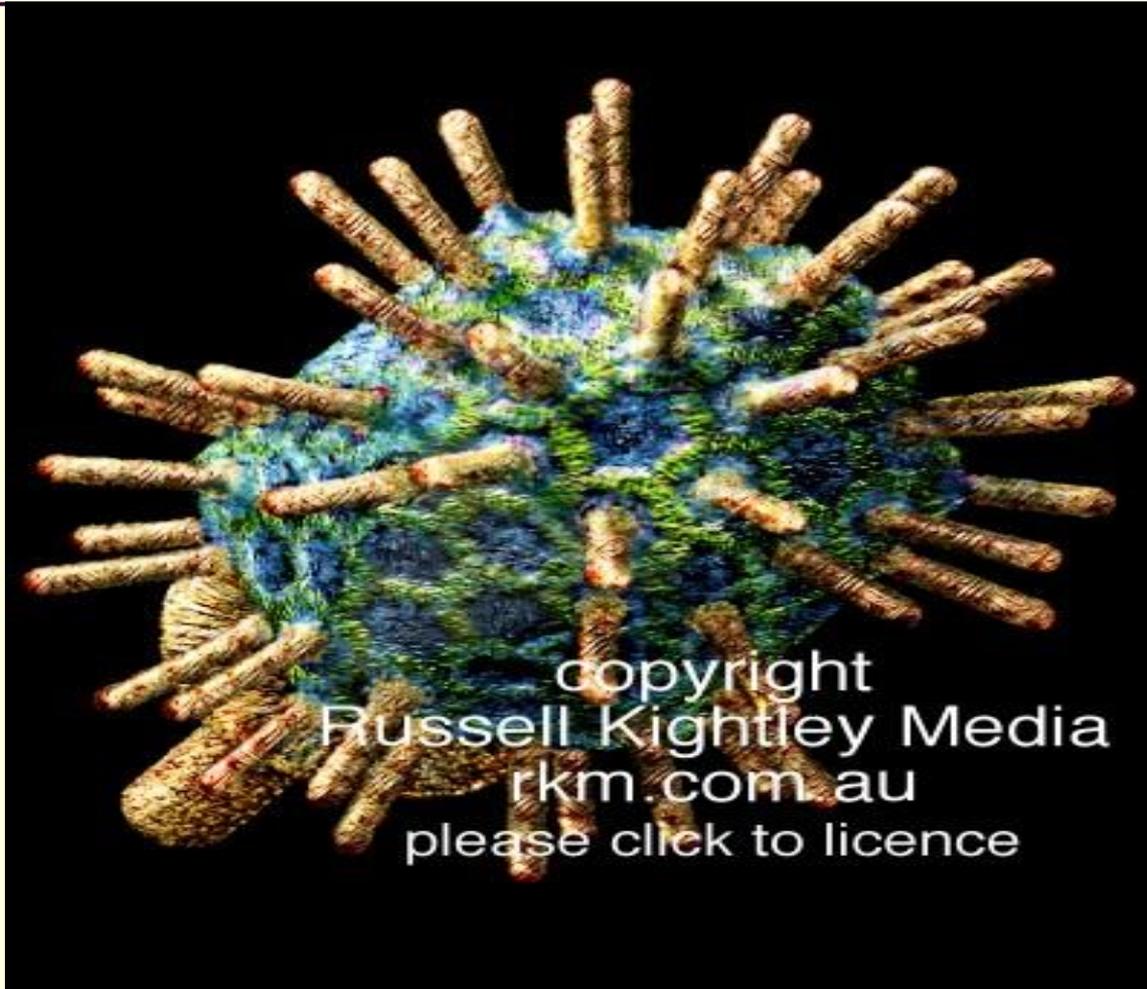
Нитевидные фаги (fd, M13)

- 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.

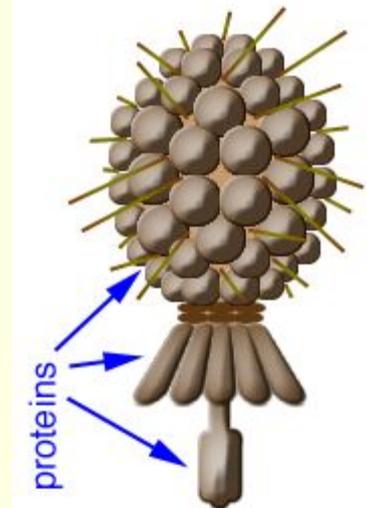
II тип: фаги с аналоговыми отростками (РНК или 1Н ДНК)



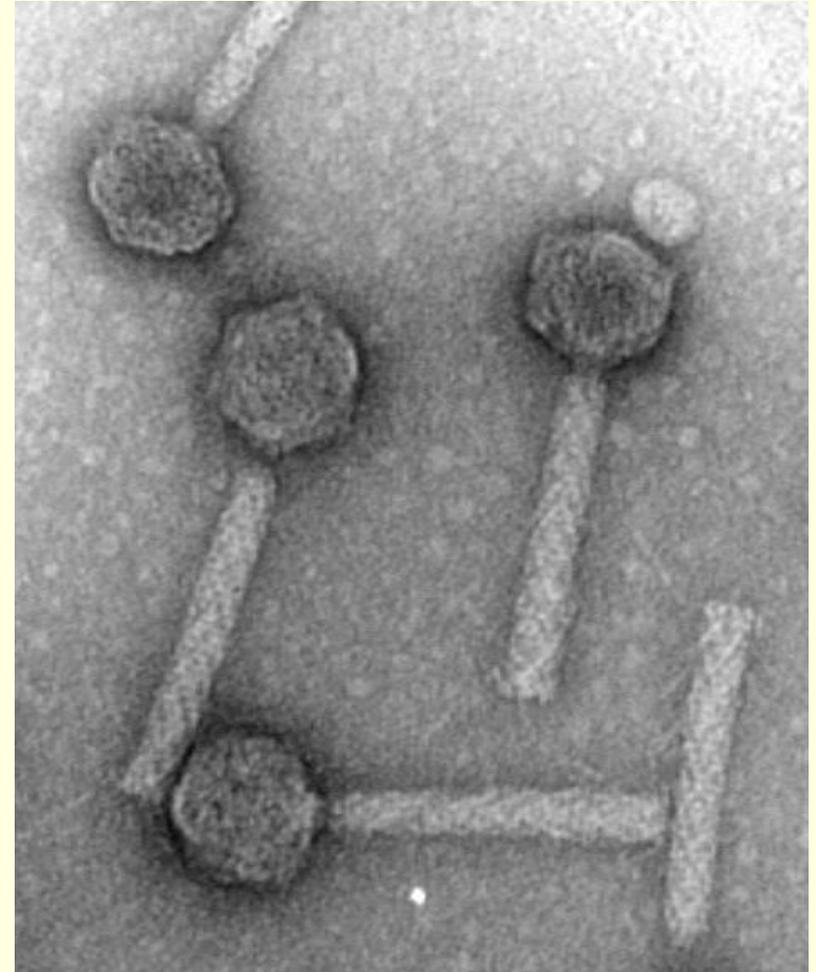
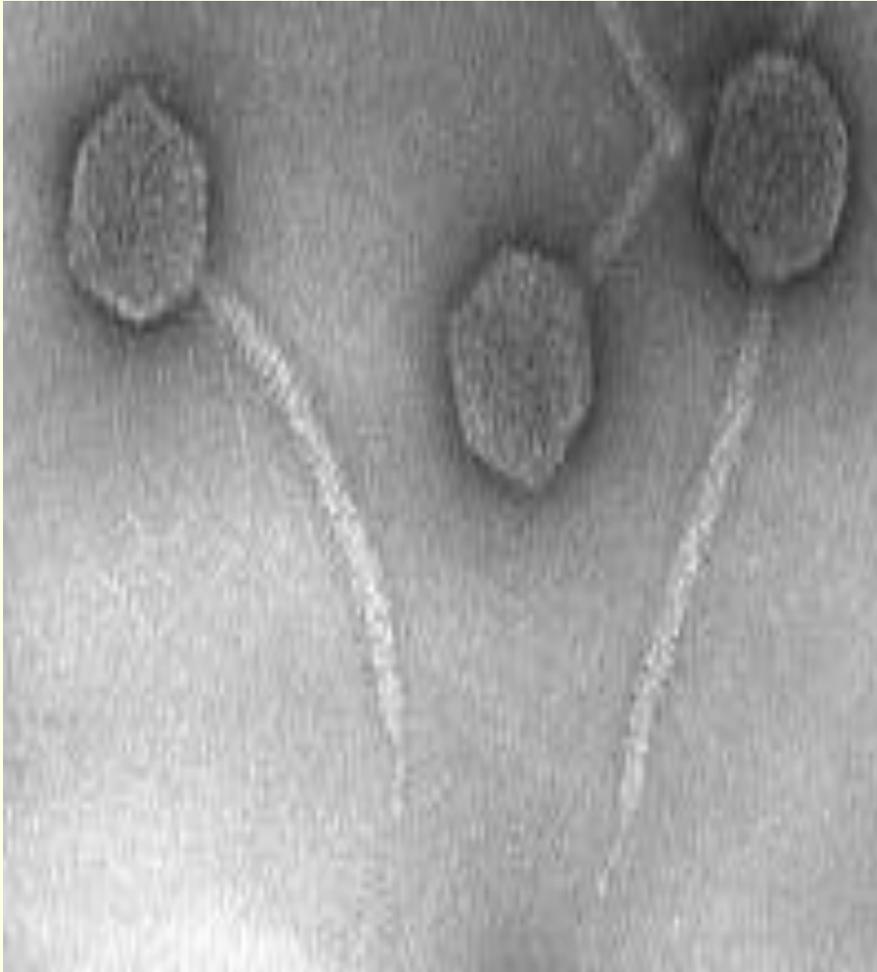
III тип: Фаги с коротким отростком (Т3, Т7)



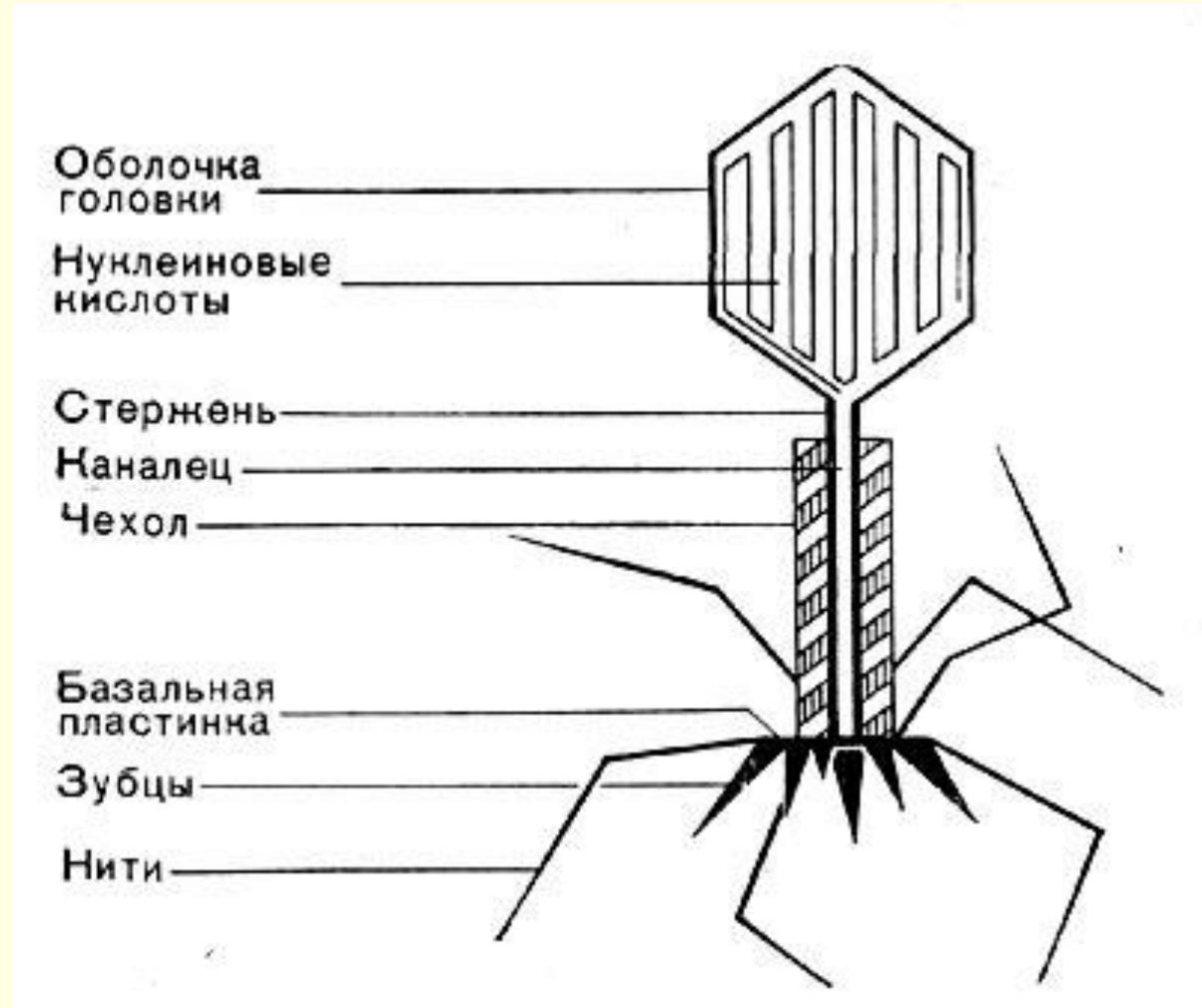
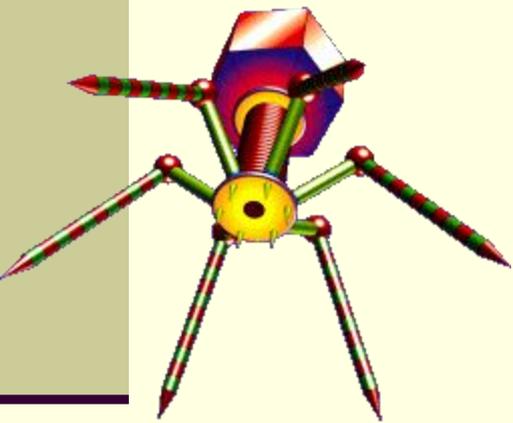
bacteriophage



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



V тип: Фаги с сокращающимся отростком и базальной пластинкой (T2, T4, T6)



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

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 ПРИМЕНЕНИЯ 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.