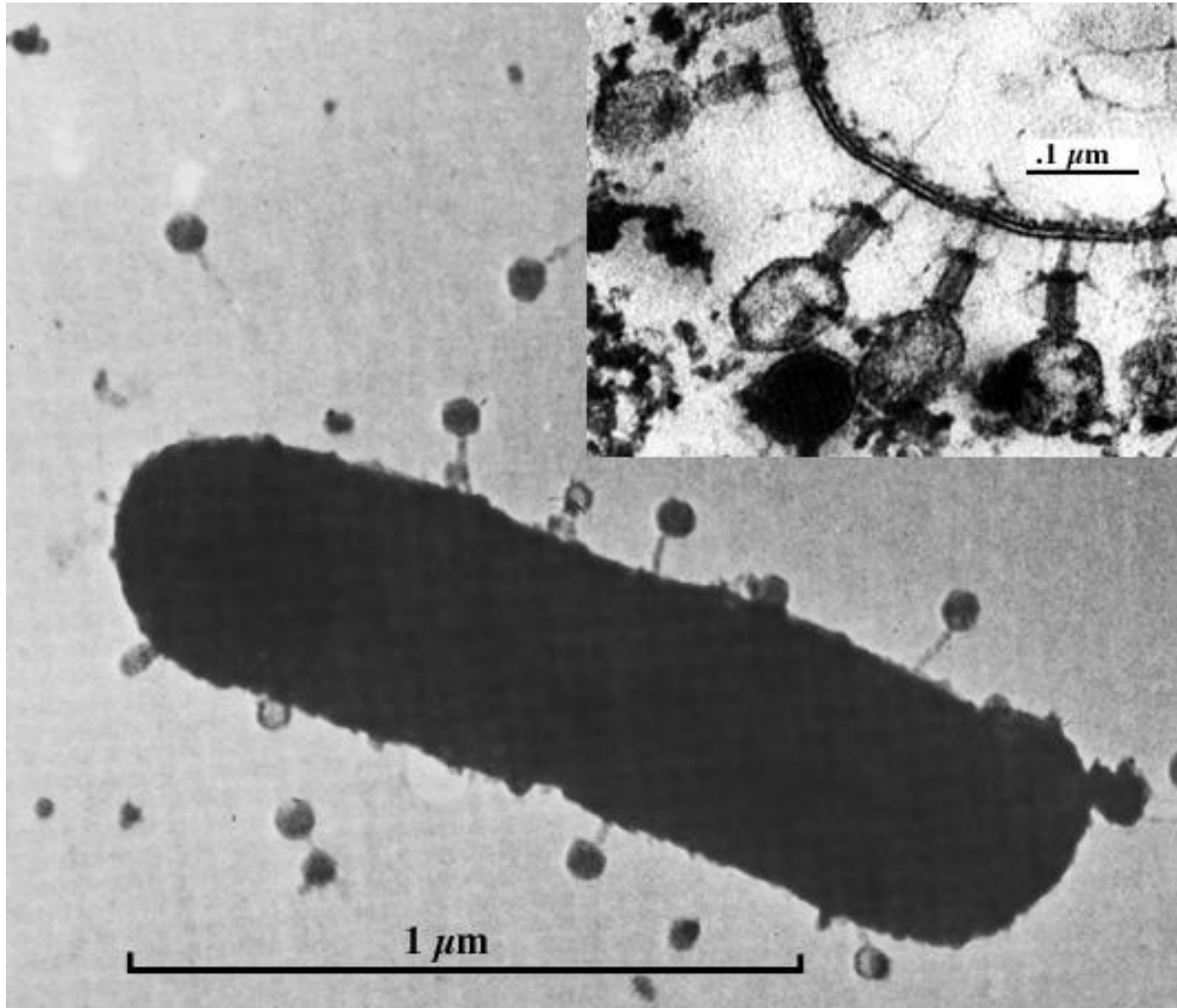


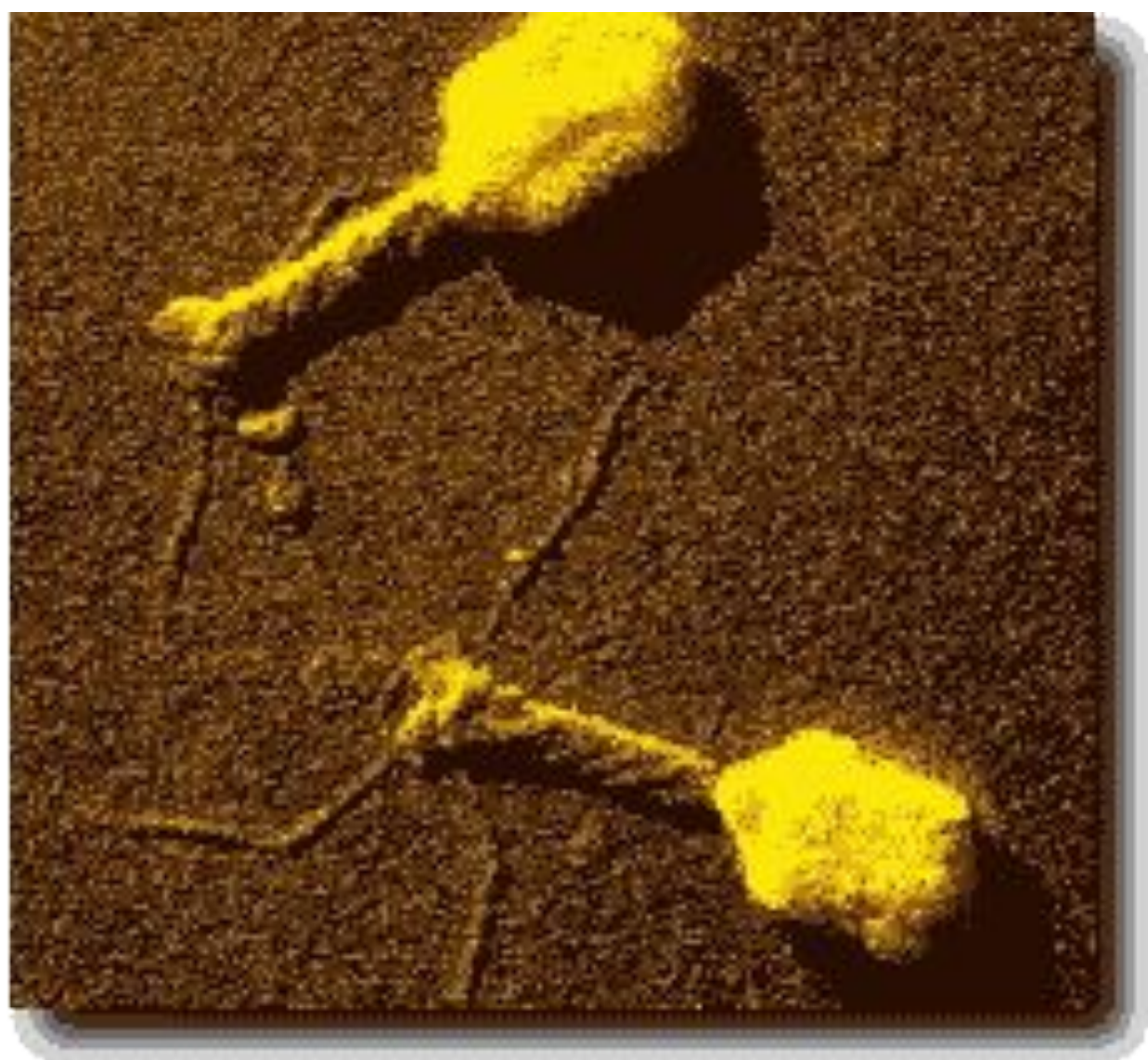
# **БАКТЕРИОФАГИ**

**вирусы  
бактерий**

# БАКТЕРИОФАГИ

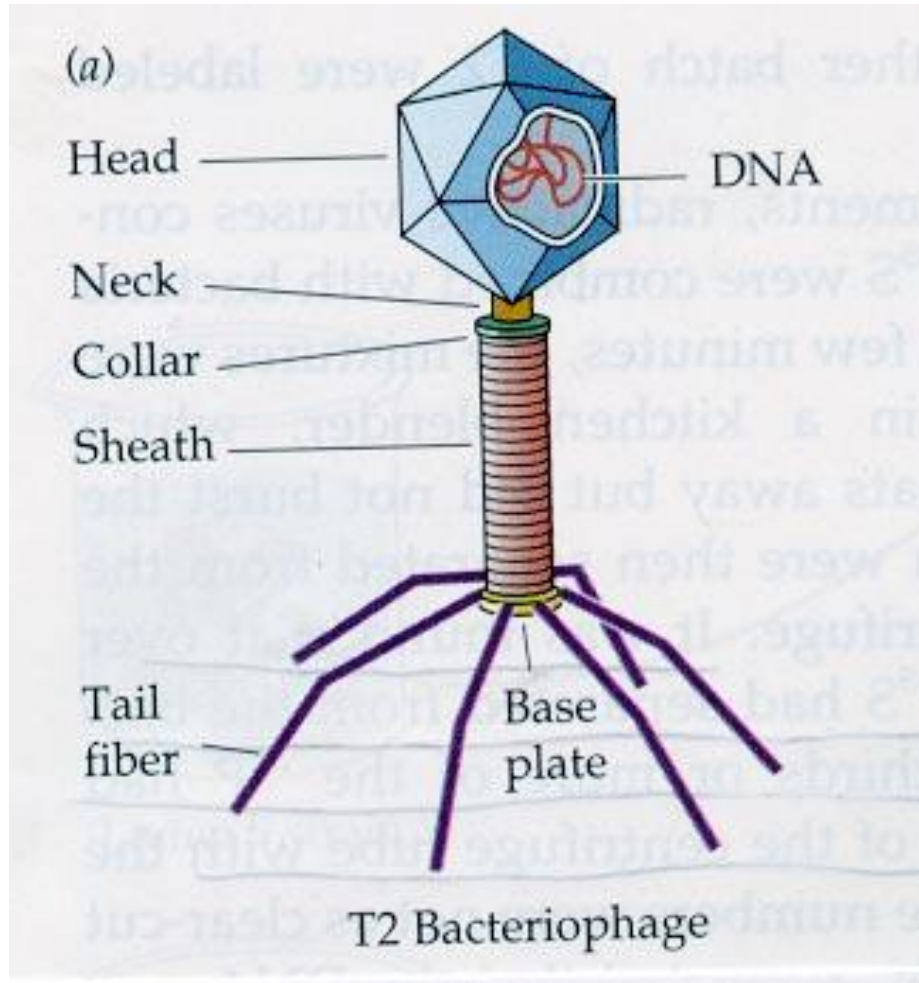
- «пожирающий бактерии» (от бактерия + греч. phagos – пожирающий)
- вирусы бактерий, специфически проникающие в бактериальные клетки и поражающие их.
- **Для обозначения** используют:
  - название м/о, из которых они выделены: колифаги, стафилофаги,
  - буквы латинского алфавита





# Строение бактериофагов

- икосаэдрическая головка,
- хвостовой отросток: внутри – полый цилиндрический стержень, сообщающийся с головкой, а снаружи - чехол отростка, заканчивающийся шестиугольной базальной пластинкой с шипами, от которых отходят фибриллы (нити),
- капсид головки и чехол хвостового отростка бактериофага состоят из полипептидных субъединиц, уложенных по **икосаэдрическому (головка)** или *спиральному (отросток)* типу симметрии.



# Нуклеиновая кислота фага

- Бактериофаги (фаги) содержат ДНК или РНК:
  - двунитевые
  - однонитевые
  - линейные,
  - -кольцевые.
- Большинство – **двунитевую ДНК, замкнутую в кольцо**

# В состав головки входит:

- **полипептид**, состоящий из аспарагиновой, глутаминовой кислот и лизина,
- - у некоторых – **гистоноподобный** белок → суперспирализация ДНК.



# В состав сокращающегося чехла ВХОДИТ:

- у некоторых фагов входит АТФ и ионы кальция.
- В дистальной части отростка – лизоцим.

# Морфологические типы бактериофагов

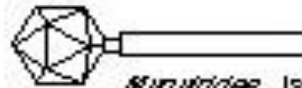
- **I тип (нитчатые)**
  - без головки (только отросток)
- **II тип**
  - без отростка (только головка)
- **III тип**
  - головка и отросток, короткий без чехла
- **IV тип**
  - головка и отросток, длинный с чехлом, не сократительный
- **V тип**
  - головка и отросток, длинный с чехлом, сократительный

## Families of Viruses Infecting Bacteria

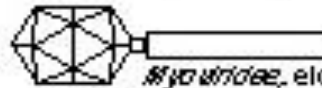
### dsDNA



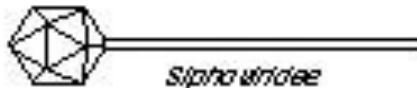
*Lipovirginiviridae*



*Mycoviridae*, Isometric head



*Mycoviridae*, elongated head



*Siphoviridae*



*Podoviridae*



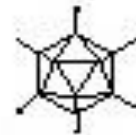
*Pleomorphicidae*



*Cubicalidae*



*Fusiformidae*



*Tailedidae*

100 nm

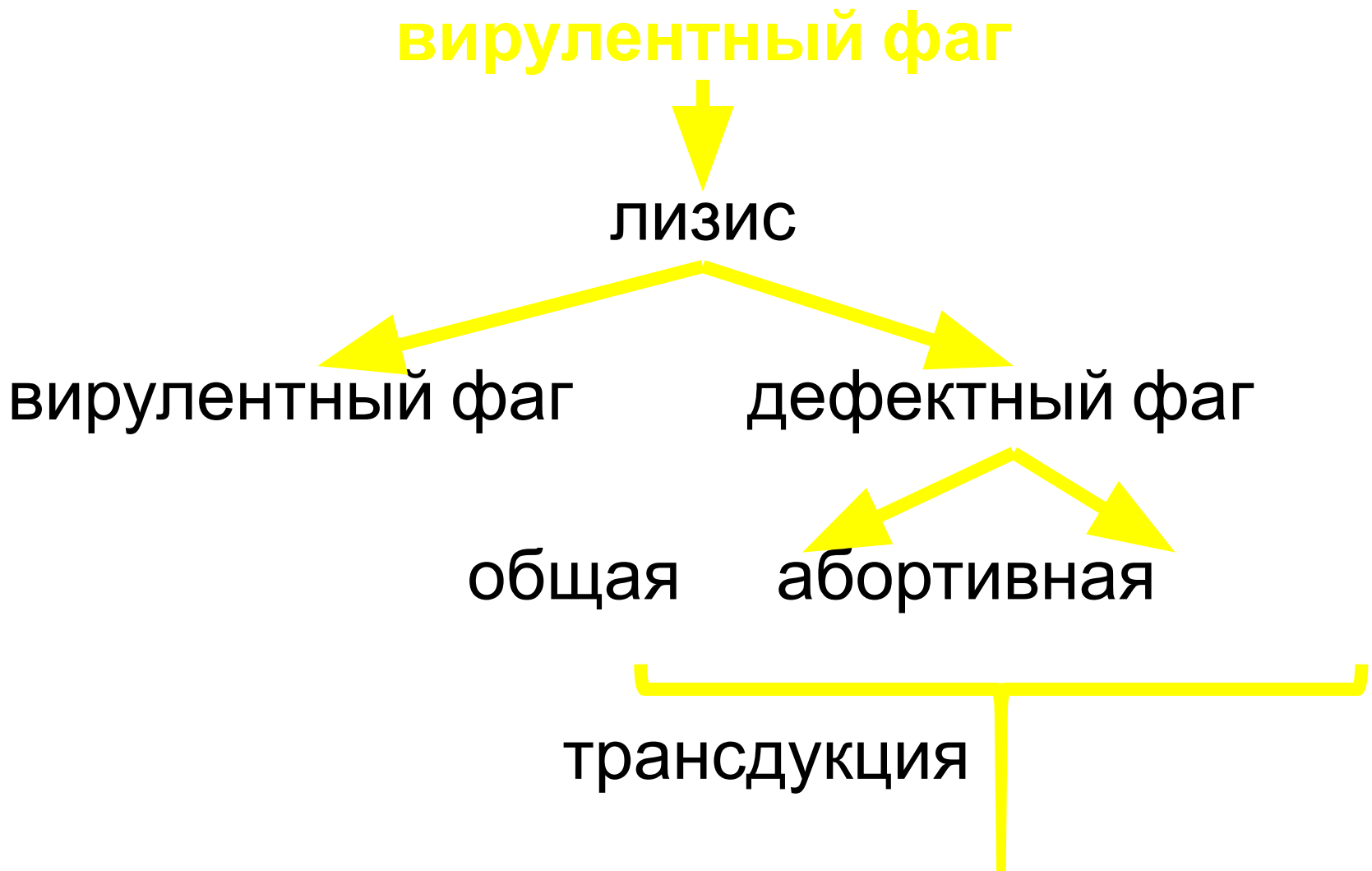
# Классификация бактериофагов по спектру действия

- **полифаги**
  - поражают несколько видов
- **монофаги** (видовые)
  - поражают один вид
- **типовые фаги**
  - поражают часть вида (фаговар)

# Классификация фагов в зависимости от эффекта действия на бактериальную клетку

- вирулентные
- умеренные

# Классификация фагов в зависимости от эффекта действия на бактериальную клетку



# Классификация фагов в зависимости от эффекта действия на бактериальную клетку

умеренный фаг

ЛИЗОГЕНИЯ

- без изменения фенотипа бактерии
- с изменением фенотипа бактерии (*фаговая конверсия*)

ЛИЗИС

умеренный

дефектный

специализированная трансдукция

# Взаимодействие фагов с бактериями

- может происходить:
  - по продуктивному типу – вирулентные фаги → фаговое потомство, бактерии лизируются
  - интегративному – умеренные → встраиваются в геном клетки и сосуществуют с ней,
  - abortивному типу → фаговое потомство не образуется, бактерии сохраняют свою жизнедеятельность

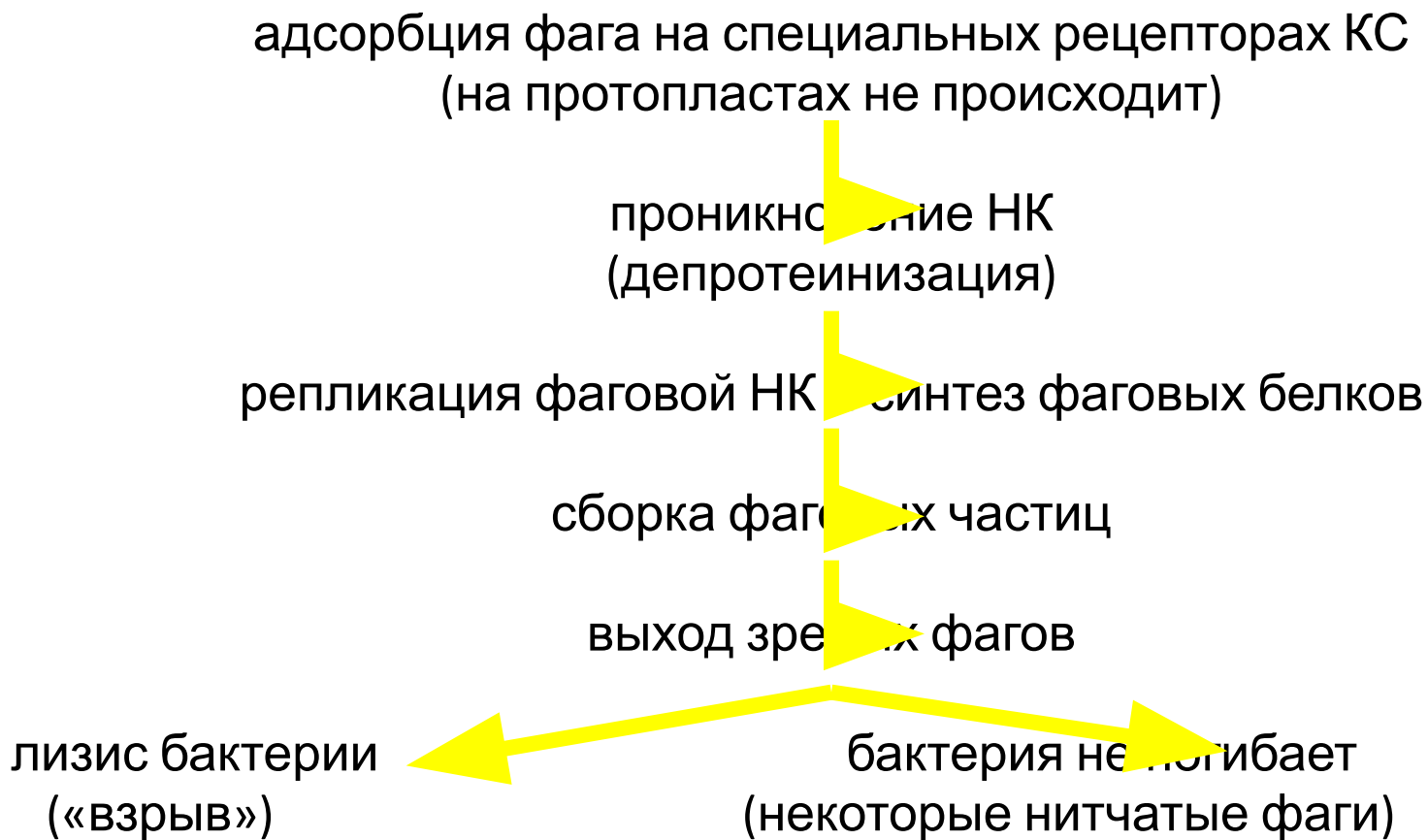




# Вирулентные бактериофаги

- попав в бактерию, реплицируются, формируя 200-300 фаговых частиц, и вызывают гибель (лизис) бактерии = это **продуктивный тип взаимодействия**

# Взаимодействие вирулентного фага с бактериальной клеткой

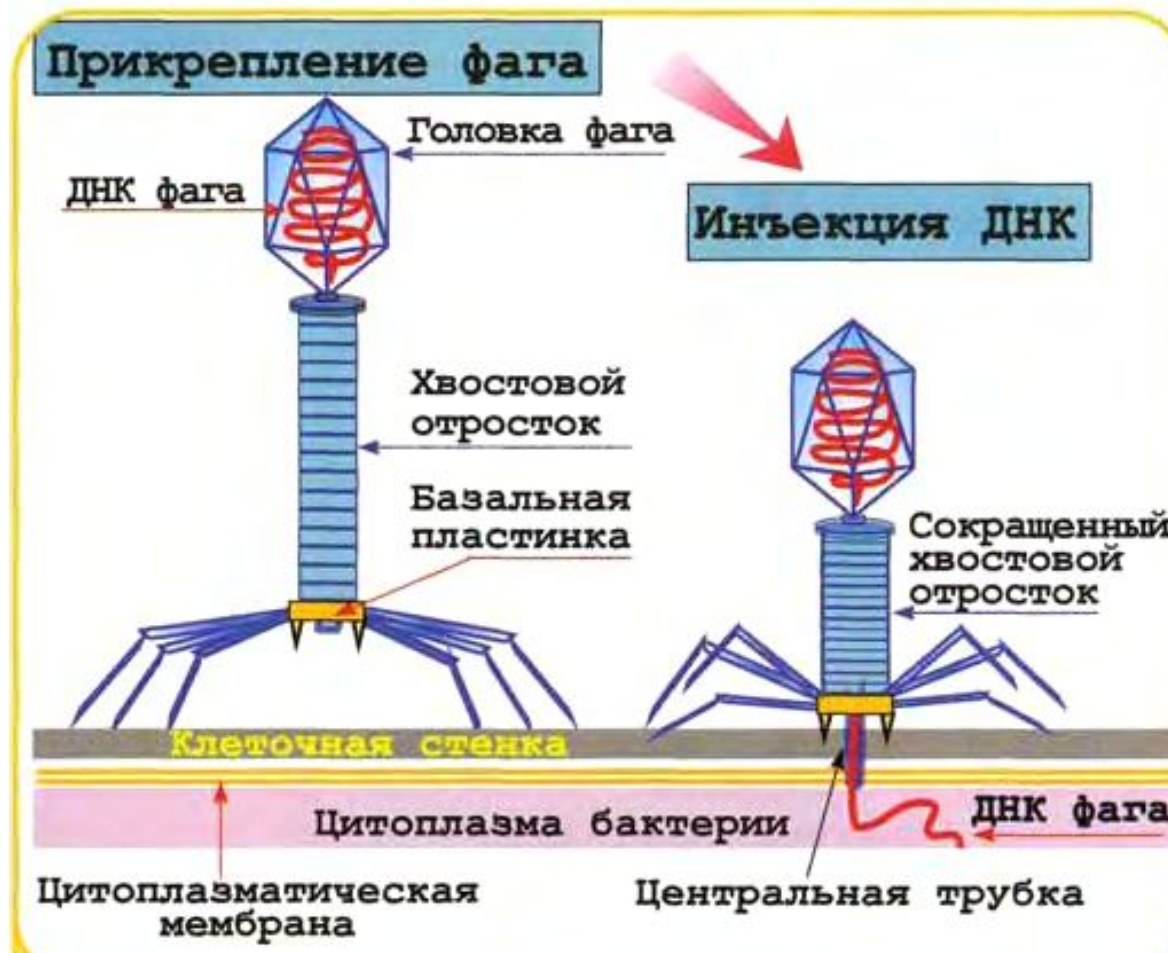


**ПРОДУКТИВНАЯ ИНФЕКЦИЯ**

# Этапы взаимодействия вирулентного фага с бактериальной клеткой =продуктивный тип взаимодействия

- 1. Бактериофаги с сокращающимся чехлом **адсорбируются на клеточной стенке** с помощью фибрилл хвостового отростка.
- 2. **Чехол хвостового отростка сокращается**, и стержень с помощью ферментов (лизоцима) просверливает оболочку клетки.
- 3. Через канал стержня бактериофага **нуклеиновая кислота инъецируется из головки в бактериальную клетку**, а капсид бактериофага остается снаружи бактерии.

# Взаимодействие бактериофага с оболочкой клетки



# Этапы взаимодействия вирулентного фага с бактериальной клеткой =продуктивный тип взаимодействия

- 4. Инъецированная внутрь клетки нуклеиновая кислота подавляет биосинтез компонентов клетки, заставляя ее синтезировать нуклеиновую кислоту и белки бактериофага:
  - происходит полный распад ДНК бактерии и ее утилизация.
  - если ДНК бактерии не хватает для образования фаговой ДНК – она синтезируется из компонентов среды.

# Этапы взаимодействия вирулентного фага с бактериальной клеткой =продуктивный тип взаимодействия

- 5. Образовавшиеся в разных частях клетки **компоненты бактериофага собираются в фаговые частицы** путем заполнения фаговой нуклеиновой кислотой пустотелых капсидов головки
- 6. Сформированная **головка соединяется с хвостовой частью**, образуя новый фаг.
- Затем в результате лизиса клетки бактериофаги выходят из нее.

# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

адсорбция фага на специальных рецепторах КС  
(на протопластах не происходит)

проникновение НК  
(депротеинизация)

интеграция фаговой ДНК в геном бактерии

профазия  
(фаговый репрессор блокирует транскрипцию)

лизогенная культура  
**ЛИЗОГЕНИЗАЦИЯ**  
в дальнейшем – может  
индукция профага

продуктивная инфекция

# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

- ***Умеренные бактериофаги*** взаимодействуют с бактериями:
  - либо по продуктивному,
  - либо по интегративному типу.
- **Продуктивный цикл умеренного фага** идет как и у вирулентных фагов, и заканчивается лизисом бактерий.



# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

- **При интегративном типе ДНК** умеренного фага **встраивается в хромосому** бактерии:
  - приобретает форму кольца,
  - интегрируется в гомологичную область,
  - реплицируется синхронно с геномом бактерии, не вызывая ее лизиса (передается при делении бактерии).

# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

- ДНК фага, встроенная в хромосому бактерии, называется **профагом**,
  - культура бактерий — **лизогенной**;
  - сам процесс — **лизогенией**
- (от греч. *lysis* – разложение, *genesis* – происхождение).

# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

- **При лизогении** фаги не образуются в результате “выключения” фаговых генов репрессором (=низкомолекулярный белок), кодируемым одним геном фага.
- **Профаги** могут спонтанно или под действием *индуцирующих* агентов (УФ-лучи, митомицин С и др.) дерепрессироваться, исключаться из хромосомы. Этот процесс заканчивается продукцией фагов (*индукция* профага) и лизисом бактерий.

# Взаимодействие умеренного фага с бактериальной клеткой

- 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.

# Применение фагов

- для профилактики,
- для лечения инфекций,
- в генной инженерии в качестве векторов для получения рекомбинантной ДНК,
- для диагностики (например, для фаготипирования с целью выявления источника инфекции или внутривидовой идентификации).

# Практическое применение бактериофагов

## Фагопрофилактика

- брюшной тиф
- дизентерия

# Практическое применение бактериофагов

## Фаготерапия

Фаг применяется в том случае, когда  
антибиотики применять нельзя,

Чаще всего местно

# Практическое применение бактериофагов

## Фагодиагностика

1. **Выявление определённого вида бактерий в патологическом материале**
  - реакция нарастания титра фага
2. **Идентификация чистой культуры**
  - определение вида
    - фагоиндикация
  - определение фаговара
    - фаготипирование



# Выделение бактериофага

материал

- объект внешней среды
- бактериальная культура



бактериальный фильтр



фильтрат



МПБ + чувствительная бактерия



Инкубация 24 час



роста нет – фаг присутствует (очищают фильтрованием)  
рост есть – фаг отсутствует

# Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

–Качественный метод:

метод «стерильной дорожки»

–Количественные методы:

- А) Метод Грациа
- Б) Метод Аппельмана

# Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

## – Качественный метод:

На чашку газоном засевают культуру микроорганизмов, наносят каплю бактериофага и дают ей стечь. Чашки инкубируют при 37 градусах 24 час и учитывают результат:

- *там, где стекал бактериофаг, образовалась «стерильная дорожка»*

# Метод фагоиндикации = «стекающая капля» = «стерильная дорожка»

стекающая капля по газону  
засеянной культуры

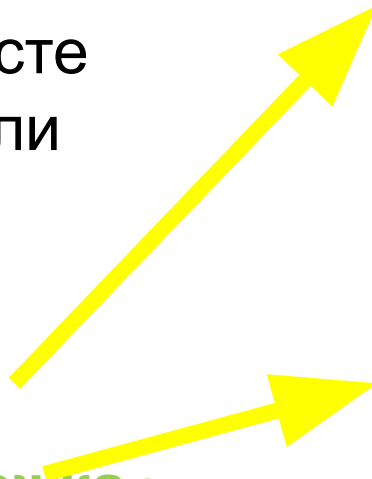
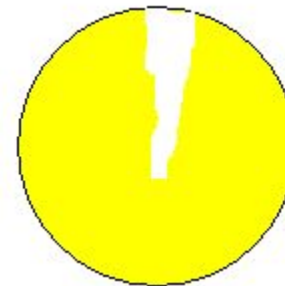
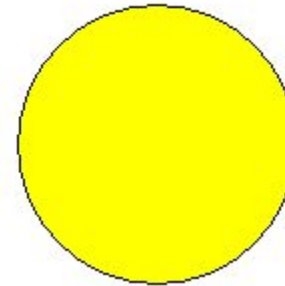


регистрация роста  
бактерий в месте  
стекания капли



рост есть – -  
роста нет – +

«стерильная дорожка»



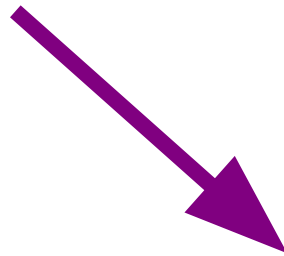
# Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

## –Количественные методы:

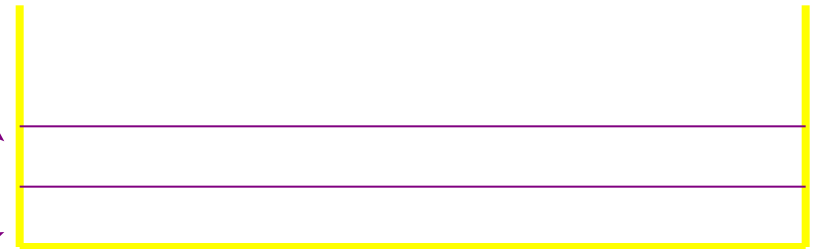
- А) **Метод Грациа**: готовят десятикратные разведения фага в хлориде натрия от  $10^{-2}$  до  $10^{-7}$
- Затем по 0,5 мл из каждого разведения смешивают с таким же объемом бульонной культуры и 4 мл расплавленного и остуженного до 45 град. агара и выливают на чашки Петри.
- Когда агар застынет чашки помещают в термостат при 37 градусах на 24 часа и затем учитывают результаты:
  - одна фаговая частица образует одно «стерильное пятно»
  - Величина, показывающая концентрацию фага

# Титрование фага по Грациа

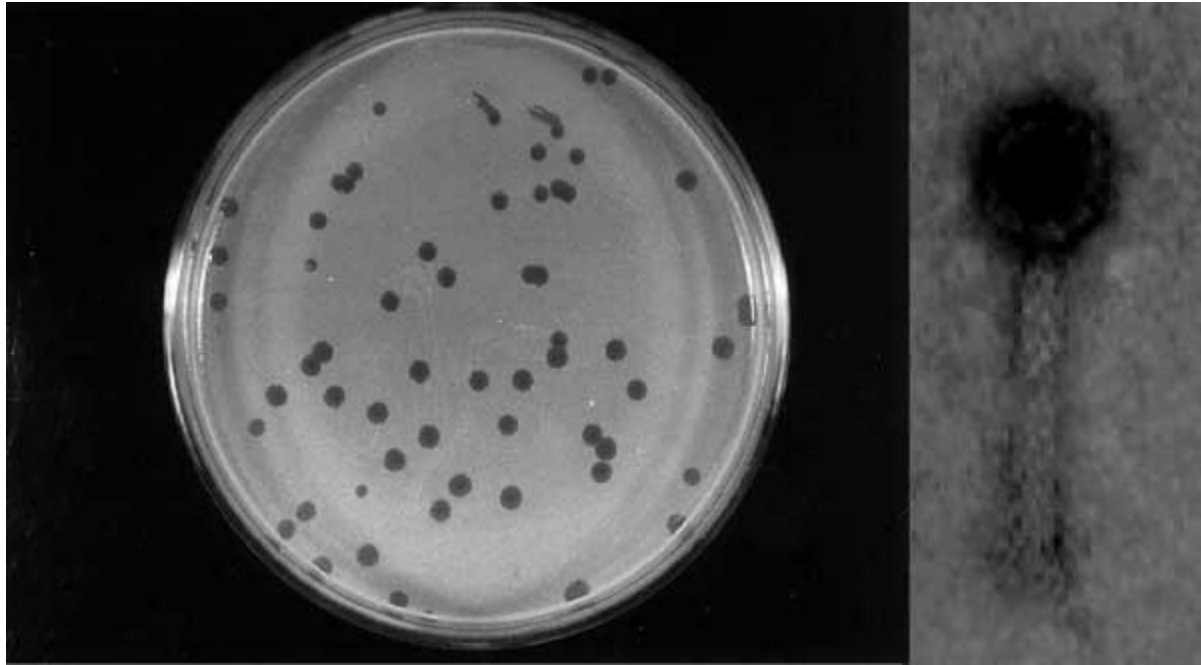
- МПА + разведение фагосодержащего материала + чувствительная культура



- МПА (подложка)



чашка Петри со средой  
(в разрезе)



# Определение активности бактериофагов = фагоиндикация

## –Количественные методы:

Б) **Метод Аппельмана**: готовят десятикратные разведения фага в питательном бульоне от  $10^{-2}$  до  $10^{-8}$ .

- Затем в каждую пробирку добавляют по 0,2мл бульонной культуры и ряды ставят в термостат.

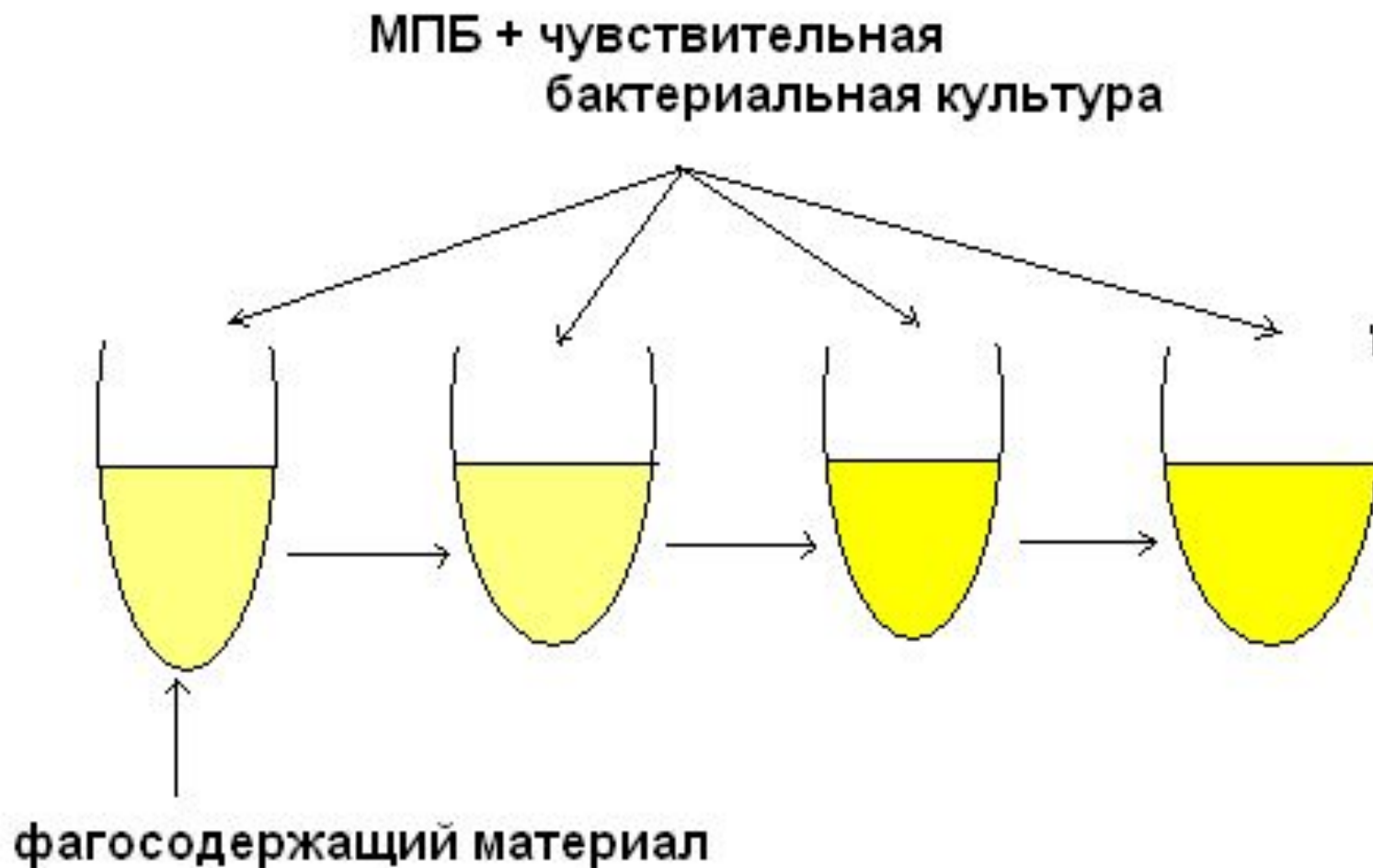
- После инкубации в термостате учитывают результаты:

= в положительном случае наблюдается просветление среды.

*Разведение в последней пробирке, где произошел полный лизис культуры, называется **титром***



# Титрование фага по Аппельману

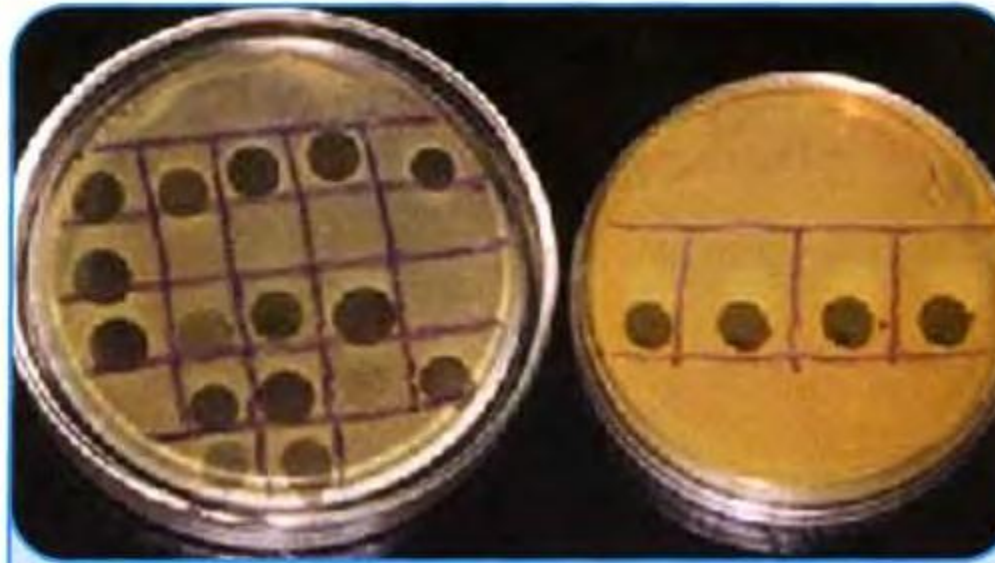


# Фаготипирование бактерий

1. засев газоном на чашку с питательным агаром изучаемого штамма
2. чашку делят на квадратики и на каждый наносят бактериофаг
3. инкубация
4. регистрация «стерильных пятен» («бляшек»)
5. фаготип (фаговар) = перечень типовых фагов, лизирующих данный вариант



# Фаготипирование стафилококков



# Определение спектра литического действия фага

- Чашку делят на квадратики и на каждый газоном засевают испытуемые штаммы,
- затем на каждый квадратик петлей или пипеткой наносят каплю фага
- после инкубации в термостате в течение 24 час определяют наличие «стерильных пятен».
- *Количество культур, которые лизирует бактериофаг – спектр его литического действия.*

