**Лекция 10**

 **Тема Бактериофаги.**

План:

1.Природа фага.

2.Бактериофаг строение

3. Применение фагов в медицине.

**Полный конспект лекции.**

**Фаги** — вирусы бактерий и ряда других микроорганиз­мов. В определенных условиях они вызывают лизис (растворение) своих хозяев. Действие фагов проявляется в природе и используется в практике.

Природа фагов. Фаги, как считает большинство исследователей,— это организмы, которые подобно всем живым организмам способны размножаться, передавать потом­ству свои свойства и изменяться под воздействием различ­ных факторов. Они могут инфицировать, только молодые развивающиеся клетки, являясь их паразитами.

Морфология фагов. Большинство фагов состоит из головки и хвостового отростка, поэтому их сравнивают с головастиками или сперматозоидами. Наиболее изучены Т-фаги кишечной палочки). Их отросток представ­ляет собой полый цилиндр (стержень), покрытый чехлом и заканчивающийся базальной пластинкой с шипами и фиб­риллами. Размеры фагов, форма и величина головки, длина и строение отростка различны у разных фагов. Например, встречаются фаги с длинным отростком, чехол которого не сокращается, фаги с коротким отростком, без отростка и нитевидные

Химический состав фагов. Как и все вирусы, фаги состоят из нуклеиновой кислоты одного типа (чаще встречаются ДНК-фаги) и белка. Молекула нуклеиновой кислоты, скрученная в спираль, находится в головке фага. Оболочка фага (капсид) и отросток имеют белковую природу. На свободном конце отростка содержится литический фермент, обычно лизоцим или гиалуронидаза.

Специфичность фагов. Фаги обладают строгой специ­фичностью. Различают видовую специфичность, т. е. способность паразитировать только в определенном виде микроорганизмов. Именуют фаги обычно по названию микроба-хозяина (стрептококковый, стафилококковый, холерный, дизентерийный и т. д.). Фаги с более строгой специфичностью паразитируют только на определенных представителях данного вида — это типовые фаги. Фаги, лидирующие микроорганизмы близких видов, например видов, входящих в род возбудителей дизентерии (шигелл), называются поливалентными.

Взаимодействие фага с чувствительной клеткой прохо­дит через последовательные стадии. Весь цикл занимает в разных системах фаг —бактерия от нескольких минут до 1—2 ч. Разберем последовательность этого процесса на примере Т-четного фага кишечной палочки.

Стадия I — адсорбция частиц фага на поверхно­стных рецепторах клетки осуществляется с помощью нитей хвостового отростка. На одной клетке могут адсор­бироваться сотни фагов (для лизиса клетки достаточно одного). Адсорбция фагов специфична.

Стадия II — проникновение (инъекция) нуклеино­вой кислоты фага в клетки у разных фагов происходит по-разному. У Т-фагов кишечной палочки шипы базальной пластинки соприкасаются с клеточной стенкой. Стержень «прокалывает» клеточную стенку. Фермент, находящийся в отростке, чаще всего лизоцим, разрушает цитоплазматическую мембрану. При этом чехол отростка сокращается, и через канал стержня нуклеиновая кислота фага «впры­скивается» в клетку. Пустая белковая оболочка фага («тень») остается снаружи.

Стадия III — репродукция белка и нуклеиновой кислоты фага внутри клетки.

Стадия IV — сборка и формирование зрелых частиц фага.Стадия V—лизис клетки и выход зрелых частиц фага из нее. Обычно происходит разрыв клеточной стенки и в окружающую среду выходит несколько сот новых фагов, способных поражать свежие клетки. Такой лизис называется лизисом изнутри.

В отличие от лизиса изнутри лизис извне происходит тогда, когда на клетке адсорбируется сразу очень боль­шое количество фагов. Они проделывают в клеточной стенке многочисленные отверстия, через которые вытека­ет содержимое клетки. Таким образом при лизисе извне фаг не размножается, и количество его частиц не увеличи­вается.

По характеру действия на микроорганизмы различают вирулентные и умеренные фаги.

Вирулентные фаги вызывают лизис зараженной клетки с выходом в окружающую среду большого количе­ства фаговых частиц, способных поражать новые клетки. При этом культура микроорганизмов лизируется. Жидкая среда становится прозрачной — происходит образование фаголизата — среды, в которой находится большое количество фагов. При развитии вирулентного фага в бактериях, растущих на плотной среде, образуются или прозрачные участки сплошного лизиса, или вырастают отдельные прозрачные образования — колонии фага. Их называют негативными колониями (бляшками). Колонии — разных фагов отличаются по величине и структуре .

Умеренные фаги лизируют не все клетки в популя­ции. С частью из них фаги вступают в симбиоз: нуклеиновая кислота фага (его геном) встраивается в хромосому клетки и получает название про Фаг. Проис­ходит образование единой хромосомы. Бактериальная клетка при этом не погибает. Профаг, ставший частью генома клетки, при ее размножении может передаваться неограниченному числу потомков, т. е. новым клеткам. Явление симбиоза микробной клетки с умеренным фагом (профагом) носит название л и з о г е н и я, а культура, в которой имеется про фаг, называется лизогенной. Это название отражает способность профага спонтанно поки­дать хромосому клетки и, переходя в цитоплазму, превра­щаться в вирулентный фаг. Те клетки культуры, в которых образовался вирулентный фаг, погибают (лизируются), остальные сохраняют лизогенность.

 Лизогенные культуры по своим основным свойствам не отличаются от исходных, но они устойчивы к повторному заражению одноименным фагом. При действии на лизогенную культуру проникающего излучения (определенных доз и экспозиции рентгеновских, космических лучей), некоторых химических веществ и ряда других факторов продукция вирулентного фага и лизис им клеток культуры значительно увеличиваются.

Умеренные фаги могут принести вред микробиологиче­скому производству. Например, если штаммы-продуценты вакцин, антибиотиков и других биологических веществ оказываются лизогенными, существует опасность перехо­да умеренного фага в вирулентный, что повлечет за собой лизис производственного штамма.

Умеренные фаги являются мощным фактором измен­чивости микроорганизмов. Профаг может изменить некоторые свойства микробной культуры, например сделать ее способной к токсинообразованию, что наблюдается среди дифтерийных палочек, возбудителя скарлатины и др. Кроме того, переходя в вирулентную форму и лизируя клетку, фаг может захватить часть хромосомы клетки-хозяина и перенести эту часть хромосомы в другую клетку, где фаг снова перейдет в профаг, а клетка получит новые свойства.

Распространение фагов в природе повсеместное. Фаги встречаются там, где находятся чувствительные к ним микроорганизмы: в воде, почве, сточных водах, выделени­ях человека и животных и т. д. Почти все известные бактерии являются хозяевами специфических для них фагов.

Устойчивость фагов к физическим и химическим факто­рам выше, чем у вегетативных форм их хозяев. Фаги выдерживают нагревание до.75°С, длительное высушива­ние, рН от 2,0 до 8,5. Они не чувствительны к антибиоти­кам, тимолу, хлороформу и ряду других веществ, уничто­жающих сопутствующую микрофлору. Поэтому эти веще­ства используют при выделении и сохранении фагов. Кислоты и дезинфицирующие вещества губительны для фагов.

**Практическое применение фагов**.

Применение фагов основано на их строгой специфично­сти и способности разрушать микробные клетки или вступать с ними в симбиоз.

Фагопрофилактика и фаготерапия—предупреждение и лечение инфекций с помощью фагов основаны на том, что, встречая в организме больного возбудителя болезни, фаг уничтожает его. В настоящее время фаги широко применяют при лечении и профилактике стафилококковых и стрептококковых поражений, даже таких, которые не поддаются действию антибиотиков, а также холеры, чумы и ряда других инфекций, например, инфекций, вызванных кишечной палочкой и протеем.

Фагодиагностика включает: а) идентификацию выде­ленных культур с помощью известных (диагностических) фагов. Культура соответствует тому фагу, который ее лизировал. Например, если лизис вызвал холерный фаг, то это культура холерного вибриона. Строгая специфич­ность типовых фагов дает возможность типировать вари­анты внутри вида (фаговары). Фаготипирование имеет большое значение в эпидемиологии, так как позволяет установить источник инфекции и решить ряд других вопросов; б) определение неизвестного фага по тест-культуре микробов. Если фаг лизирует культуру возбудителя дизентерии, то это дизентерийный фаг; в) ускоренный метод диагностики с помощью реак­ции нарастания титра фага РНТФ не требует выделения чистой культуры возбудителя. Исследуемый материал (от больного или из объектов внешней среды) и индикаторный фаг, титр которого строго установлен, вносят в бульон.

Умеренные фаги широко применяют при решении кардинальных вопросов биологии. С их помощью изучен генетический код, достигнуты большие успехи в генной инженерии, их используют для изучения опухолевого роста, как фактор изменчивости микроорганизмов и в других исследованиях. Так как лизогенные культуры в отличие от «здоровых» чувствительны к радиации, они служат для определения надежности защиты космических кораблей от космических лучей: при ненадежной защите профаг переходит в вирулентную форму и лизирует культуру.

**Препараты фагов.**

При производственном получении препаратов фага пользуются хорошо изученными штаммами микроорганизмов и фагов, которые обычно выращивают в реакторах, что позволяет получать большие количества фаголизата.

Фаги выпускают в жидком виде (ампулы и флаконы ), в таблетках и свечах. Таблетка фагов, предназначенные для применения через рот, покрыты кислотоустойчивой оболочкой, защищающей фаги от действия соляной кислоты желудочного сока.

Все препараты фагов подлежат обязательному контролю на отсутствие посторонней флоры, безвредность и активность (титр), который осуществляется на выпускающем их производстве. Выборочный контроль производят в Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича. Выпускаемый фаг снабжен этикеткой, на которой указано: учреждение, его выпускающее, название фага, серия, номер контроля и срок годности. Каждая упаковка снабжена наставлением по применению и хранению фага.

Контрольные вопросы для закрепления:

1.Природа фага.

2.Бактериофаг строение

3. Применение фагов в медицине