

**Общая вирусология.
Систематика, морфология и
физиология вирусов.
Бактериофаги.
Использование фагов в
медицинской практике.**

План лекции

- **Исторические этапы развития вирусологии.**
- **Классификация вирусов.**
- **Морфология и химический состав вирусов.**
- **Взаимодействие вируса с чувствительной клеткой.**
- **Культивирование и индикация вирусов.**
- **Бактериофаги морфология и химический состав.**
- **Взаимодействие бактериофагов с бактериальной клеткой.**
- **Практическое значение бактериофагов.**

Открытие вирусов

- Впервые существование вируса (как нового типа возбудителя болезней) доказал в **1892 году русский учёный ботаник Д. И. Ивановский**.
 - После многолетних исследований заболеваний табачных растений Д. И. Ивановский приходит к выводу, что мозаичная болезнь табака вызывается «бактериями, проходящими через фильтр Шамберлана, которые, не способны расти на искусственных субстратах».
 - На основании этих данных были определены критерии, по которым возбудителя заболевания отнесли к этой новой группе:
 - фильтруемость через «бактериальные» фильтры,
 - неспособность расти на искусственных средах,
 - воспроизведение картины заболевания фильтратом, освобождённым от бактерий и грибов.
- Возбудитель мозаичной болезни назывался Д. И. Ивановским «фильтрующимися бактериями».

- Пять лет спустя, при изучении заболеваний крупного рогатого скота, а именно — ящура, был выделен аналогичный фильтрующийся микроорганизм.
- А в 1898 году, при воспроизведении опытов Д. Ивановского голландский ботаник М. Бейеринк, назвал такие микроорганизмы «фильтрующимися вирусами». В сокращённом виде, название **вирус** и стало обозначать данную группу микроорганизмов.
- В 1901 г. было обнаружено первое вирусное заболевание человека — жёлтая лихорадка. Это открытие было сделано американским военным хирургом У. Ридом и его коллегами.
- В 1911 г. Фрэнсис Раус доказал вирусную природу рака — саркомы Рауса (лишь в 1966 г, спустя 55 лет, ему была вручена за это открытие Нобелевская премия по физиологии и медицине).

История вирусологии

- 1885 Э. Шамберман, Э. Ру и Л. Пастер разработали вакцину против бешенства.
- 1898 Ф. Лефлер, П. Фрош – вирус ящура.
- 1907 - вирус натуральной оспы.
- 1909 – вирус полиомиелита.
- 1911 П. Раус – вирус саркомы кур.
- 1917 д'Эрелль – бактериофаг.
- 1933 А. Вудраф, Э. Гудпасчер – культивирование вируса в куриных эмбрионах.
- 1937 Л. Зильбер – вирус клещевого энцефалита.
- 1953 А. Львов – встраивание ДНК фага в геном бактерии.
- Л. Зильбер – вирусно-генетическая теория рака.
- 1983 Л. Монтанье и Р. Галло – выделили ВИЧ.

Что такое вирус?



А. Львов

**Вирусы – это неживые
организмы**

Лурия

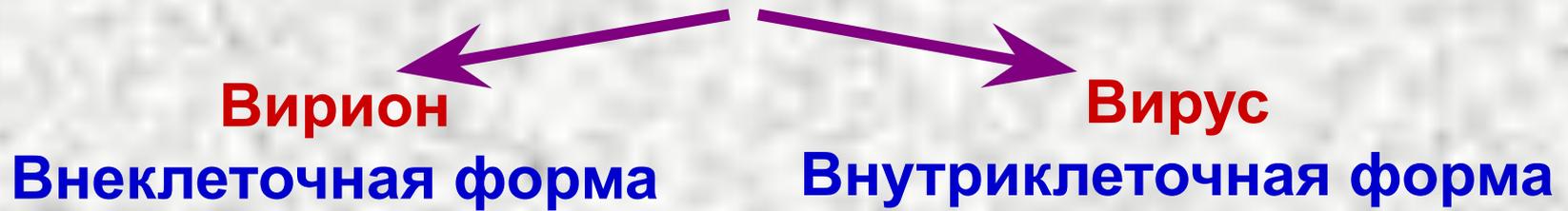
**Вирусы – это живые
сверхорганизмы**

**Вирусы (Царство *Vira*) – неклеточные
формы жизни**

Вирусы обладают уникальными свойствами

- **Неклеточное строение.**
- **Содержат только один тип нуклеиновых кислот (или ДНК или РНК).**
- **Не способны самостоятельно синтезировать белок.**
- **Внутриклеточные молекулярные паразиты.**
- Вирусы не размножаются путем бинарного деления, а только репродуцируются в клетке хозяина.
- **Особый способ размножения – дизъюнктивный**
- Устойчивы к антибиотикам.
- Чувствительны к интерферону.
- Очень малые размеры (нм)

Формы вируса



Форма вирионов может быть различной :

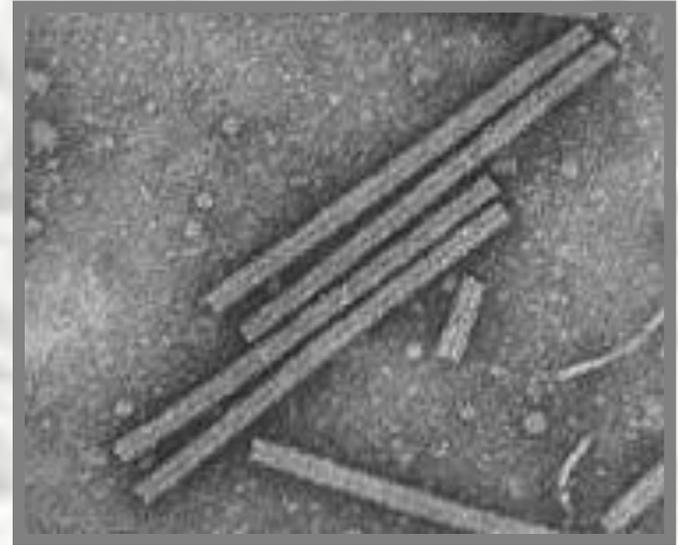
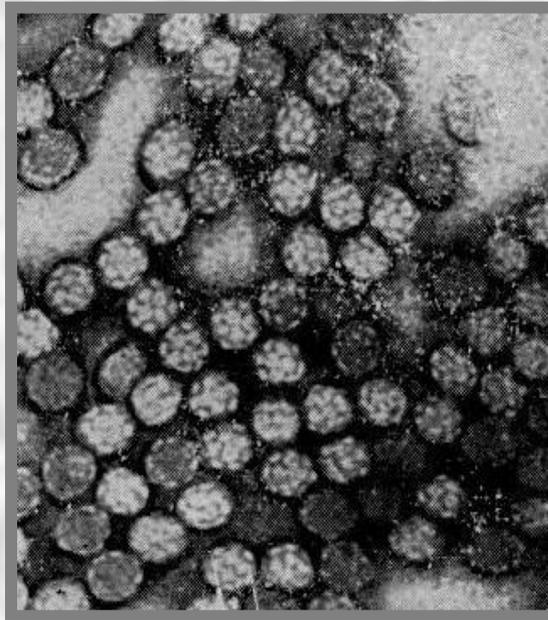
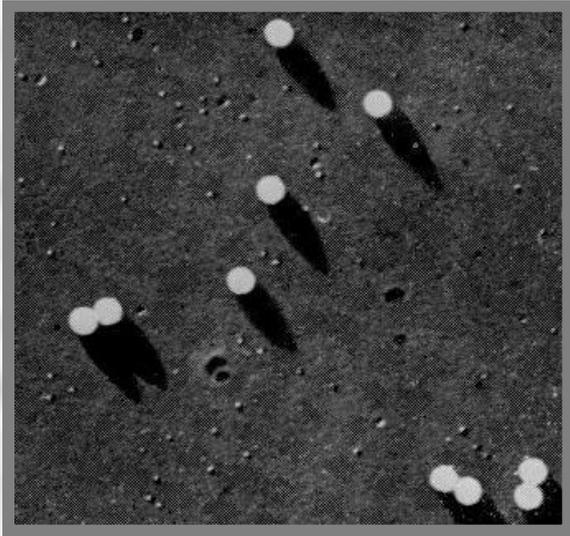
- палочковидной (вирус табачной мозаики),
- пулевидной (вирус бешенства),
- сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ),
- в виде сперматозоида (многие бактериофаги).

Классификация по размеру:

- **Мелкие (17-25 нм)**
 - **Полиомиелит**
- **Средние (80-120 нм)**
 - **Грипп**
- **Крупные (300-400 нм)**
 - **Оспа**

Методы обнаружения вирусов

- **Электронная микроскопия.**



- **Ультрацентрифугирование.**
- **Ультрафильтрация.**

Строение вирусов

- Различают **просто** устроенные (например, вирус полиомиелита) и **сложно** устроенные (например, вирусы гриппа, кори) вирусы.
- У просто устроенных вирусов нуклеиновая кислота связана с белковой оболочкой, называемой капсидом (от лат. capsula — футляр).
- Капсид состоит из повторяющихся морфологических субъединиц — капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсид, взаимодействуя друг с другом, образуют нуклеокапсид.

- У **сложно** устроенных вирусов капсид окружен дополнительной липопротеидной оболочкой — суперкапсидом (производное мембранных структур клетки-хозяина), имеющей «шипы».
- Капсид и суперкапсид защищают вирионы от влияния окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие (адсорбцию) с клетками, определяют антигенные и иммуногенные свойства вирионов. Внутренние структуры вирусов называются сердцевинной.

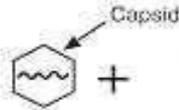
РНК-содержащие

Picornavirus



C = 32
22-30 nm

Astrovirus



C = 32?
30-35 nm

Calicivirus



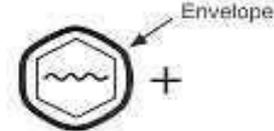
C = 32 (holes)
35-39 nm

Flavivirus



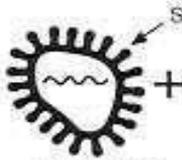
Icosahedral
45-50 nm

Togavirus



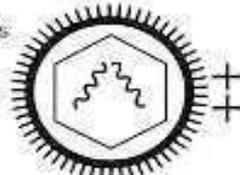
Icosahedral
70 nm

Coronavirus



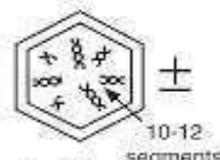
Pleomorphic
120-160 nm

Retrovirus



Icosahedral
90-120 nm

Reovirus



C = 132
60-80 nm

Bunyavirus



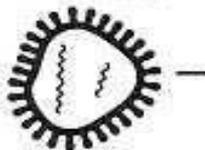
90-120 nm

Orthomyxovirus



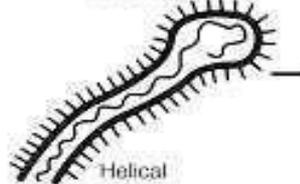
Helical, Pleomorphic
80-120 nm

Arenavirus



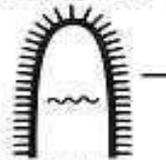
Pleomorphic
110-130 nm

Filovirus



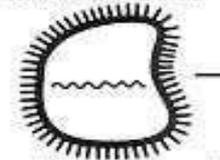
Helical
80x800-2500 nm

Rhabdovirus



Helical
60x180 nm

Paramyxovirus



Helical, Pleomorphic
150-300 nm

ДНК-содержащие

Circovirus



Icosahedral
17-22 nm

Parvovirus



C = 12
18-26 nm

Hepadnavirus



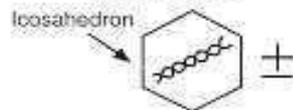
C = 180 Icosahedral
40-48 nm

Papovavirus



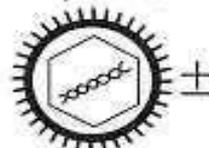
C = 72
45/55 nm

Adenovirus



C = 252
75-80 nm

Herpesvirus



C = 162
150-200 nm

Poxvirus



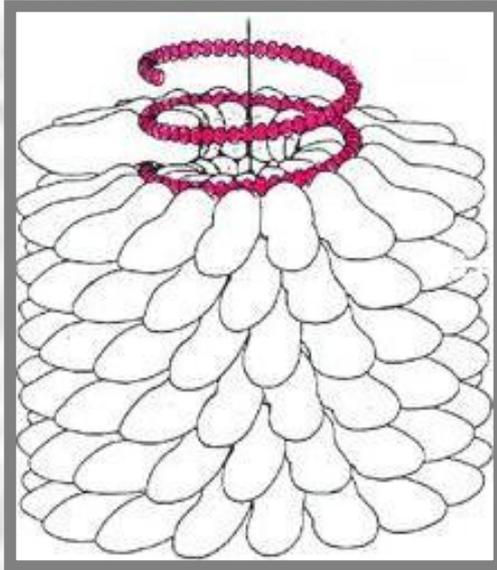
Complex
240x300 nm

Типы симметрии

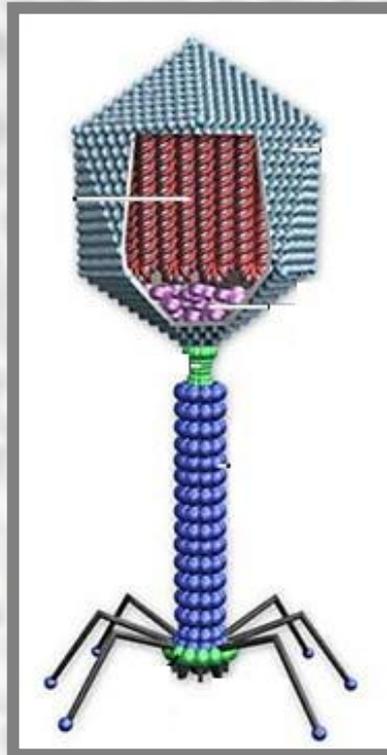
- Для вирионов характерен **спиральный, кубический и сложный тип симметрии капсида.**
- Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида, кубический тип симметрии — образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту.

Симметрия капсида

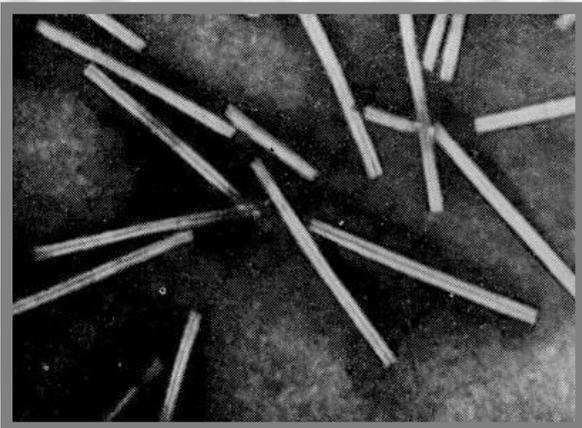
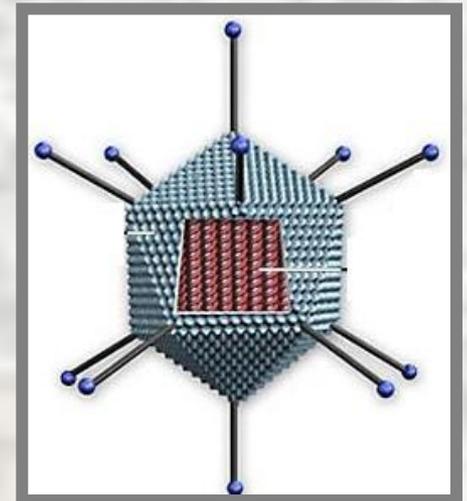
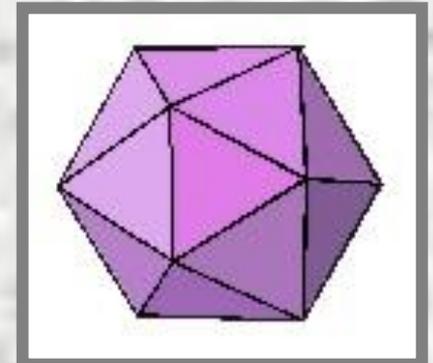
Спиральная



Смешанная



Кубическая
(Икосаэдрическая)



Геном вируса

- Вирусы имеют уникальный геном, так как содержат либо ДНК, либо РНК. Поэтому различают ДНК-содержащие и РНК-содержащие вирусы. Они обычно гаплоидны, т.е. имеют один набор генов.
- Геном вирусов представлен различными видами нуклеиновых кислот: **двунитчатыми, однонитчатыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными.**
- Среди РНК-содержащих вирусов различают вирусы с положительным (**плюс-нить РНК**) геномом. Плюс-нить РНК этих вирусов выполняет наследственную функцию и функцию информационной РНК (иРНК). Имеются также РНК-содержащие вирусы с отрицательным (**минус-нить РНК**) геномом. Минус-нить РНК этих вирусов выполняет только наследственную функцию.

Классификация вирусов

- В вирусологии используют следующие таксономические категории: **семейство** (название оканчивается на viridae), **подсемейство** (название оканчивается на virinae), **род** (название оканчивается на virus).
- Однако названия родов и особенно подсемейств сформулированы не для всех вирусов. Вид вируса биномиального названия, как у бактерий, не получил.

В основу классификации вирусов положены

следующие категории:

- **тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), ее структура, количество нитей (одна или две), особенности воспроизводства вирусного генома;**
- **размер и морфология вирионов, количество капсомеров**
- **тип симметрии; наличие суперкапсида;**
- **чувствительность к эфиру и дезоксихолату;**
- **место размножения в клетке;**
- **антигенные свойства и пр.**

- Вирусы поражают позвоночных и беспозвоночных животных, а также растения и бактерии.
- Являясь основными возбудителями инфекционных заболеваний человека, вирусы также участвуют в процессах канцерогенеза, могут передаваться различными путями, в том числе через плаценту (вирус краснухи, цитомегаловирус и др.), поражая плод человека. Они могут приводить к постинфекционным осложнениям — развитию миокардитов, панкреатитов, иммунодефицитов и др.

- Кроме обычных вирусов, известны и так называемые неканонические вирусы — **прионы** — белковые инфекционные частицы, являющиеся агентами белковой природы, имеющие вид фибрилл размером 10—20х100—200 нм.
- Прионы, по-видимому, являются одновременно индукторами и продуктами автономного гена человека или животного и вызывают у них энцефалопатии в условиях медленной вирусной инфекции (болезни Крейтцфельдта—Якоба, Куру и др.).

Прионы – инфекционные белковые частицы очень маленького размера и молекулярной массы, устойчивые к инаktivации факторами, влияющими на нуклеиновые кислоты (температура, формальдегид).

Клеточная форма нормального прионного протеина - PrP^c
Инфекционная форма - PrP^{Sc}

Другими необычными агентами, близкими к вирусам, являются вириды. **Вириды** – небольшие молекулы кольцевой, суперспирализованной РНК, не содержащие белка, вызывающие заболевания у растений весьма близкие внехромосомным генетическим элементам бактерий (плазмидам).

Типы взаимодействия вируса с клеткой

Известны три типа взаимодействия вируса с клеткой:

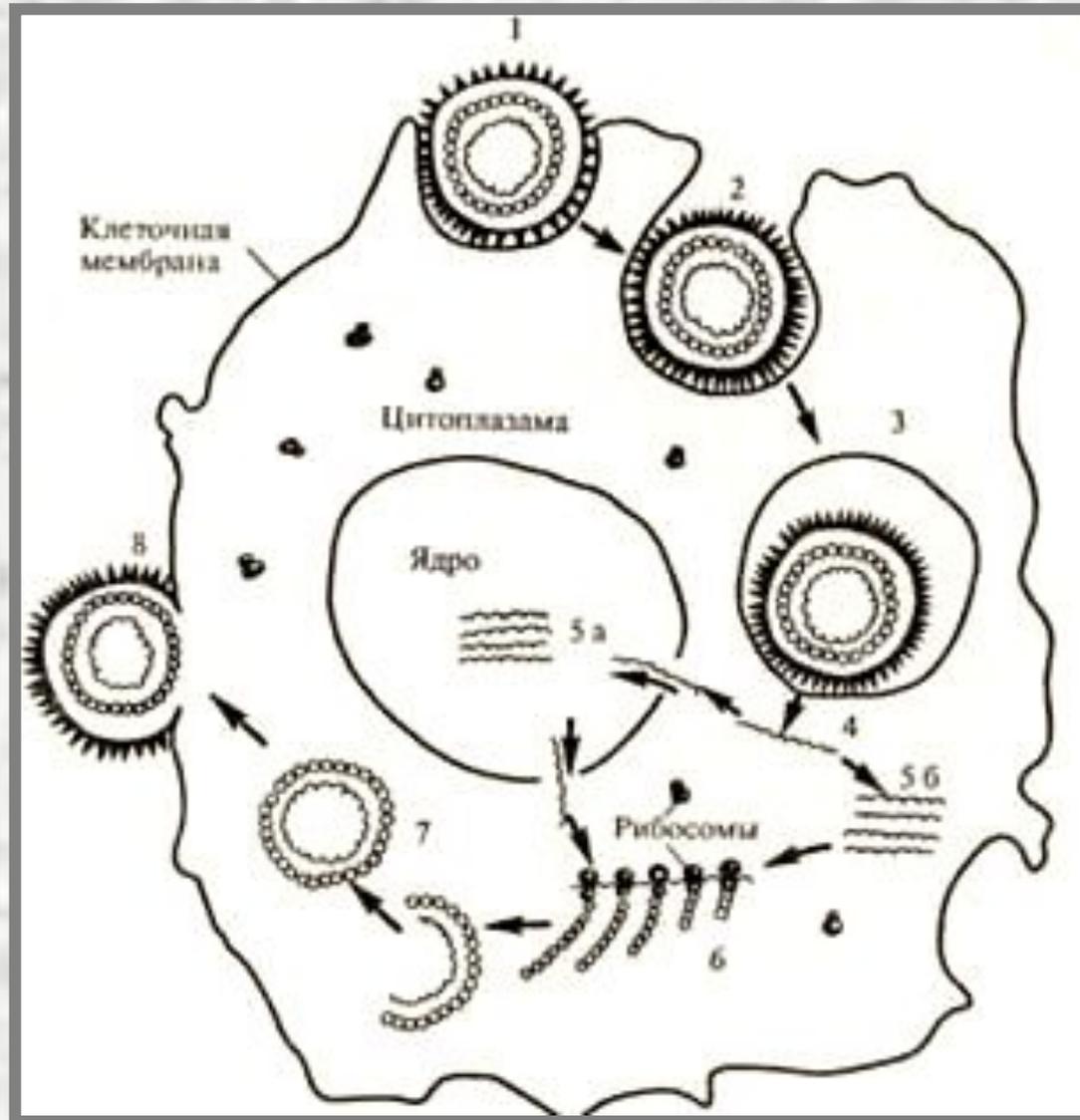
- **продуктивный тип**, завершающийся образованием вирусного потомства;
- **абортивный тип**, не завершающийся образованием новых вирусных частиц, поскольку инфекционный процесс прерывается на одном из этапов;
- **интегративный тип**, или вирогения, характеризующийся встраиванием вирусной ДНК в хромосому клетки-хозяина.

Продуктивный тип взаимодействия (репродукция вирусов)

Репродукция вирусов (от англ. reproduce — воспроизводить) осуществляется в несколько стадий, последовательно сменяющих друг друга:

- 1.Адсорбция вируса на поверхности клетки**
- 2.Проникновение внутрь**
- 3.«Раздевание» вирионов**
- 4.Синтез компонентов вириона**
- 5.Сборка вириона**
- 6.Выход вириона из клетки**

Репродукция вирусов



1.Адсорбция.

- Взаимодействие вируса с клеткой начинается с процесса адсорбции, т. е. прикрепления вирусов к поверхности клетки. Это высокоспецифический процесс. Вирус адсорбируется на определенных участках клеточной мембраны — так называемых рецепторах.
- Клеточные рецепторы могут иметь разную химическую природу, представляя собой белки, углеводные компоненты белков и липидов, липиды. Число специфических рецепторов на поверхности одной клетки колеблется от 10^4 до 10^5 . Следовательно, на клетке могут адсорбироваться десятки и даже сотни вирусных частиц.

- Поверхностные структуры вируса, «узнающие» специфические клеточные рецепторы и взаимодействующие с ними, называются **прикрепительными** белками.
- Обычно эту функцию выполняет один из поверхностных белков капсида или суперкапсида. Соответствие (комплементарность) клеточных рецепторов вирусным прикрепительным белкам имеет значение для возникновения инфекционного процесса в клетке. Способность вирусов избирательно поражать определенные клетки органов и тканей организма называют тропизмом вирусов (от греч. tropos — направление).

2. Проникновение в клетку.

- Существует два способа проникновения вирусов животных в клетку: **виropексис** и **слияние** вирусной оболочки с клеточной мембраной.
- При виropексисе после адсорбции вирусов происходят инвагинация (впячивание) участка клеточной мембраны и образование внутриклеточной вакуоли, которая содержит вирусную частицу. Вакуоль с вирусом может транспортироваться в любом направлении в разные участки цитоплазмы или ядро клетки.
- Процесс слияния осуществляется одним из поверхностных вирусных белков капсидной или суперкапсидной оболочки.

3. «Раздевание».

- Процесс «раздевания» заключается в удалении защитных вирусных оболочек и освобождении внутреннего компонента вируса, способного вызвать инфекционный процесс.
- «Раздевание» вирусов происходит постепенно, в несколько этапов, в определенных участках цитоплазмы или ядра клетки, для чего клетка использует набор специальных ферментов.
- В случае проникновения вируса путем слияния вирусной оболочки с клеточной мембраной процесс проникновения вируса в клетку сочетается с первым этапом его «раздевания». Конечными продуктами «раздевания» являются сердцевина, нуклеокапсид или нуклеиновая кислота вируса.

4. Биосинтез компонентов вируса.

- Проникшая в клетку вирусная нуклеиновая кислота несет генетическую информацию, которая успешно конкурирует с генетической информацией клетки.
- Она дезорганизует работу клеточных систем, подавляет собственный метаболизм клетки и заставляет ее синтезировать новые вирусные белки и нуклеиновые кислоты, идущие на построение вирусного потомства.

- Реализация генетической информации вируса осуществляется в соответствии с хорошо известными из биологии процессами **транскрипции** (от лат. transcriptio — переписывание, т.е. синтез информационных РНК — иРНК, комплементарных матричным ДНК или РНК), **трансляции** (от лат. translatio — передача, т. е. синтез белков на рибосомах клетки с участием иРНК) и **репликации** (от лат. replicatio — повторение, т. е. синтез молекул нуклеиновой кислоты, гомологичных геному).
- Поскольку генетический аппарат вирусов достаточно разнообразен, то передача наследственной информации в отношении синтеза иРНК различна.

- Основные схемы реализации вирусной генетической информации могут быть представлены следующим образом:
- для ДНК-содержащих вирусов: ДНК вируса \rightarrow и РНК \rightarrow белок вируса;
- для РНК-содержащих минус-нитевых вирусов: РНК вируса \rightarrow иРНК \rightarrow белок вируса;
- для РНК-содержащих плюс-нитевых вирусов: РНК вируса \rightarrow белок вируса;
- для РНК-содержащих ретровирусов: РНК вируса \rightarrow комплементарная ДНК \rightarrow иРНК \rightarrow белок вируса.
- Для синтеза иРНК одни вирусы используют клеточные ферменты, другие — собственный набор ферментов (полимераз).

- Вирусная нуклеиновая кислота кодирует синтез двух классов белков: неструктурных белков-ферментов, которые обслуживают процесс репродукции вирусов на разных его этапах, и структурных белков, которые войдут в состав вирусных частиц потомства.
- Синтез компонентов вируса (белков и нуклеиновых кислот) разобщен во времени и пространстве, т. е. протекает в разных структурах ядра и цитоплазмы клетки. Вот почему этот уникальный способ размножения вирусов называется **ДИСЪЮНКТИВНЫМ** (от лат. disjunctus — разобщенный).

5.Формирование (сборка) вирусов.

- Синтезированные вирусные нуклеиновые кислоты и белки обладают способностью специфически «узнавать» друг друга и при достаточной их концентрации самопроизвольно соединяются в результате гидрофобных, солевых и водородных связей.

- Существуют следующие общие принципы сборки вирусов, имеющих разную структуру:
- Сборка **просто** устроенных вирусов заключается во взаимодействии молекул вирусных нуклеиновых кислот с капсидными белками и образовании нуклеокапсидов (например, вирусы полиомиелита). У **сложно** устроенных вирусов сначала формируются нуклеокапсиды, с которыми взаимодействуют белки суперкапсидных оболочек (например, вирусы гриппа);
- формирование вирусов происходит не во внутриклеточной жидкости, а на ядерных или цитоплазматических мембранах клетки;
- **Сложно** организованные вирусы в процессе формирования включают в свой состав компоненты клетки-хозяина (липиды, углеводы).

6. Выход вирусов из клетки.

Различают два основных типа выхода вирусного потомства из клетки.

- **Первый тип — взрывной** — характеризуется одновременным выходом большого количества вирусов. При этом клетка быстро погибает. Такой способ выхода характерен для вирусов, не имеющих суперкапсидной оболочки.
- **Второй тип — почкование.** Он присущ вирусам, имеющим суперкапсидную оболочку. На заключительном этапе сборки нуклеокапсиды сложно устроенных вирусов фиксируются на клеточной плазматической мембране, модифицированной вирусными белками, и постепенно выпячивают ее.
- В результате выпячивания образуется «почка», содержащая нуклеокапсид. Затем «почка» отделяется от клетки.

- **Таким образом,** внешняя оболочка этих вирусов формируется в процессе их выхода из клетки. При таком механизме клетка может продолжительное время продуцировать вирус, сохраняя в той или иной мере свои основные функции.
- Время, необходимое для осуществления полного цикла репродукции вирусов, варьирует от 5—6 ч (вирусы гриппа, натуральной оспы и др.) до нескольких суток (вирусы кори, аденовирусы и др.). Образовавшиеся вирусы способны инфицировать новые клетки и проходить в них указанный выше цикл репродукции.

Интегративный тип взаимодействия (виrogenия)

- Интегративный тип взаимодействия (виrogenия) характеризуется встраиванием (интеграцией) нуклеиновой кислоты вируса в хромосому клетки. При этом вирусный геном реплицируется и функционирует как составная часть клеточного генома.
- Интеграция вирусного генетического материала с ДНК клетки характерна для определенных групп вирусов: бактериофагов, опухолеродных (онкогенных) вирусов, некоторых инфекционных вирусов (вирус гепатита В, аденовирус, ВИЧ). Для интеграции с хромосомой клетки необходима кольцевая форма двунитчатой вирусной ДНК.

- У **ДНК**-содержащих вирусов (вирус гепатита В) их ДНК обладает свойством встраиваться в геном клетки при участии ряда ферментов.
- У некоторых РНК-содержащих вирусов (ВИЧ, онкогенные вирусы) процесс интеграции более сложный и является обязательным в цикле их репродукции. У этих вирусов сначала на матрице РНК с помощью вирусспецифического фермента обратной транскриптазы (ревертазы) синтезируется ДНК-копия (кДНК), которая затем встраивается в ДНК клетки.

- ДНК вируса, находящаяся в составе хромосомы клетки, называется **ДНК-провирусом**. При делении клетки, сохраняющей свои нормальные функции, ДНК-провирус переходит в геном дочерних клеток, т.е. состояние вирогения наследуется.
- ДНК-провирус несет дополнительную генетическую информацию, в результате чего клетки приобретают ряд новых свойств.
- Так, интеграция может явиться причиной возникновения ряда аутоиммунных и хронических заболеваний, разнообразных опухолей. Под воздействием ряда физических и химических факторов ДНК-провирус может исключаться из клеточной хромосомы и переходить в автономное состояние, что ведет к репродукции вируса.

Причины возникновения абортивного типа взаимодействия вирусов с клеткой

- **Заражение чувствительных клеток дефектными вирусами или дефектными вирионами;**
- **Заражение стандартным вирусом генетически резистентных к нему клеток;**
- **Заражение стандартным вирусом чувствительных клеток в непермиссивных условиях.**

Культивирование и индикация вирусов

- Культивирование вирусов человека и животных проводят с целью лабораторной диагностики вирусных инфекций, для изучения вопросов патогенеза и иммунитета, получения диагностических и вакцинных препаратов, применяют в научно-исследовательской работе.
- Поскольку вирусы являются абсолютными паразитами, их культивируют или на уровне организма, или на уровне живых клеток, выращиваемых вне организма в искусственных условиях.
- В качестве биологических моделей для культивирования используют:
 - **лабораторных животных,**
 - **развивающиеся куриные эмбрионы**
 - **культуры клеток.**

Лабораторные животные

- Лабораторные животные (белые мыши, хлопковые крысы, кролики, хомяки, обезьяны и др.) в начальный период развития вирусологии были единственной экспериментальной биологической моделью, которую использовали для размножения и изучения свойств вирусов.
- На основании развития типичных признаков заболевания и патоморфологических изменений органов животных можно судить о репродукции вирусов, т. е. проводить индикацию вирусов. В настоящее время применение этой модели для диагностики ограничено из-за невосприимчивости животных ко многим вирусам человека.

Куриные эмбрионы

- Куриные эмбрионы предложены в качестве экспериментальной модели для культивирования вирусов в середине 30-х годов Ф. Бернетом.
- К достоинствам модели относятся возможность накопления вирусов в больших количествах, стерильность объекта, отсутствие скрытых вирусных инфекций, простота техники работы.
- Для культивирования вирусов исследуемый материал вводят в различные полости и ткани куриного зародыша.

Индикация вирусов в курином эмбрионе

- **Индикацию** вирусов осуществляют по характеру специфических поражений оболочек и тела эмбриона, а также феномену гемагглютинации — склеиванию эритроцитов.
- Явление гемагглютинации впервые было обнаружено в 1941 г. при культивировании в куриных эмбрионах вирусов гриппа. Позднее было установлено, что гемагглютинирующими свойствами обладают многие вирусы. На основе этого феномена была разработана техника реакции гемагглютинации (РГА) вне организма (*in vitro*), которая широко применяется для лабораторной диагностики вирусных инфекций.
- Неограниченные возможности появились у вирусологов после открытия метода выращивания культур клеток.

Метод культур клеток

- Метод культур клеток — выращивание различных клеток и тканей вне организма на искусственных питательных средах — разработан в 50-х годах Дж. Эндерсом и сотр.
- Подавляющее большинство вирусов способно размножаться на культурах клеток. Для приготовления культур клеток используют самые разнообразные ткани человека, животных и птиц.
- Большое распространение получили культуры клеток из эмбриональных и опухолевых (злокачественно перерожденных) тканей, обладающих по сравнению с нормальной тканью взрослого организма более активной способностью к росту и размножению.

Культивирование вирусов

Виды культур клеток в зависимости от числа жизнеспособных генераций:

- **Неперевиваемые клетки** первично-трипсинизированные (способны размножиться однократно)
- **Полуперевиваемые клетки** (способны размножиться в течение 40—50 пассажей)
- **Перевиваемые** способны перевиваться в лабораторных условиях в течение неопределенно длительного срока (**раковые клетки или нормальные клетки зародыша**).

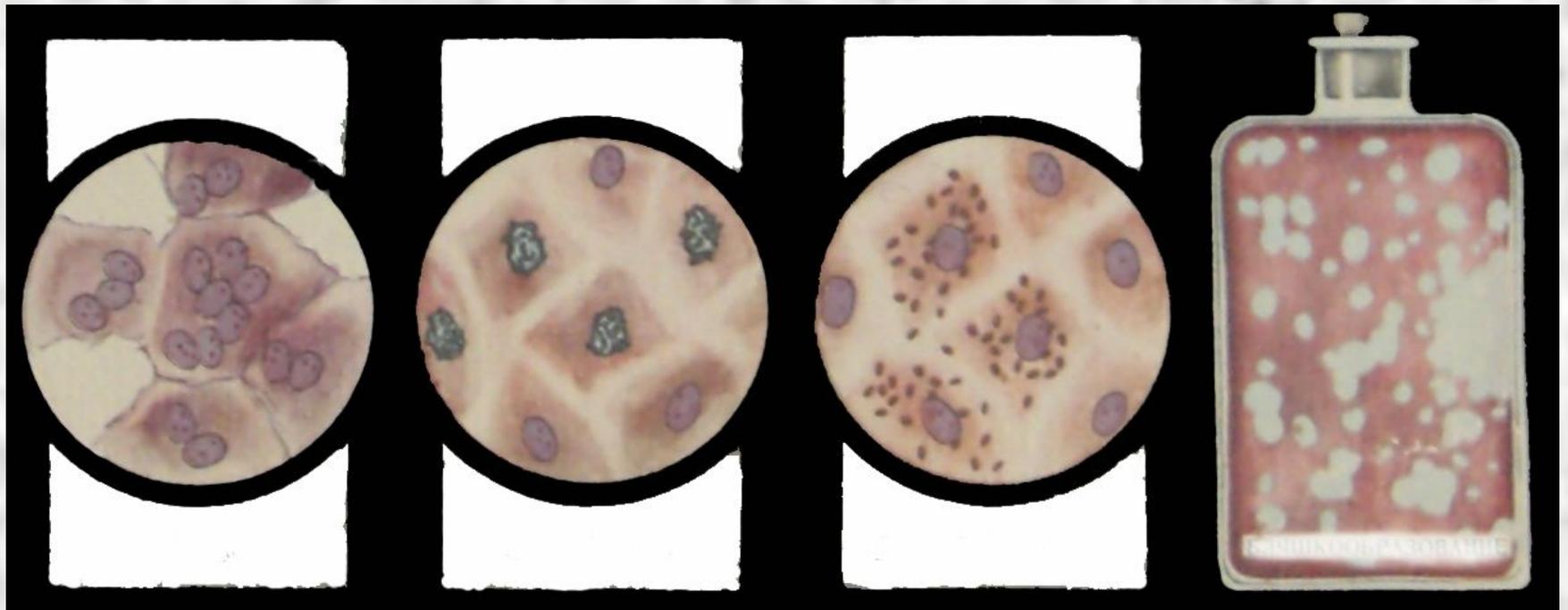
О размножении вирусов в культуре клеток свидетельствуют следующие признаки:

- Цитопатическое действие;
- Образование в клетках включений;
- Образование бляшек;
- Феномен гемадсорбции;
- «цветная» реакция.
- **Цитопатическое действие** (ЦПД) — видимые под микроскопом морфологические изменения клеток вплоть до их гибели, возникающие в результате повреждающего действия вирусов.
- Характер ЦПД, вызванного разными вирусами, неодинаков.

- **Включения** представляют собой скопления вирусных частиц, вирусных белков или клеточного материала, которые можно обнаружить в ядре или цитоплазме клеток при специальных методах окраски.
- **Бляшки, или «негативные колонии» вирусов**, — участки разрушенных вирусами клеток; их можно обнаружить при культивировании вирусов на однослойных клеточных культурах, покрытых тонким слоем агара.
- Бляшки, образуемые разными вирусами, отличаются по величине, форме, времени появления, поэтому феномен бляшко-образования используют для дифференциации вирусов.

- **Реакция гемадсорбции** — способность клеточных культур, зараженных вирусом, адсорбировать на своей поверхности эритроциты. Механизмы реакций гемадсорбции и гемагглютинации сходны. Многие вирусы обладают гемадсорбирующими свойствами.
- **«Цветная» реакция** основана на разнице в цвете индикатора питательной среды, используемой для культур клеток. При росте клеток, не пораженных вирусом, накапливаются продукты метаболизма, что приводит к изменению цвета индикатора питательной среды. При репродукции вирусов в культуре нарушается нормальный метаболизм клеток и среда сохраняет первоначальный цвет.

Индикация вирусов



Бактериофаги – вирусы бактерий

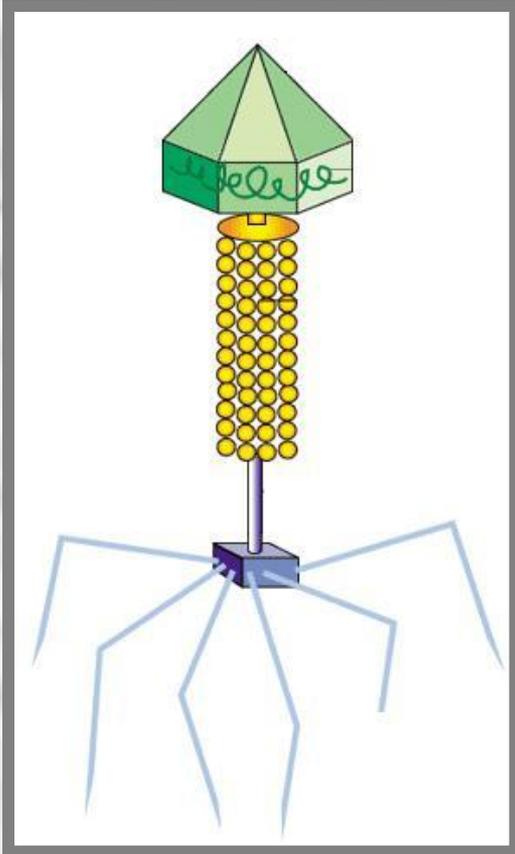
- **Бактериофаги** (от «бактерия» и греч. phagos — пожиратель) — вирусы бактерий, обладающие способностью специфически проникать в бактериальные клетки, репродуцироваться в них и вызывать их растворение (лизис).
- История открытия бактериофагов связана с именем канадского исследователя **Ф. д'Эрелля (1917)**, который обнаружил эффект лизиса бактерий, выделенных из испражнений больного дизентерией. Такие явления наблюдали и другие микробиологи [**Гамалея Н. Ф., 1898; Туорт Ф., 1915**], но лишь Ф. д'Эрелль, предположив, что имеет дело с вирусом, выделил этот «литический фактор» с помощью бактериальных фильтров и назвал его бактериофагом.

- В дальнейшем выяснилось, что бактериофаги широко распространены в природе. Их обнаружили в воде, почве, пищевых продуктах, различных выделениях из организма людей и животных, т.е. там, где встречаются бактерии.
- В настоящее время эти вирусы выявлены у большинства бактерий, как болезнетворных, так и неболезнетворных, а также ряда других микроорганизмов (например, грибов). Поэтому в широком смысле их стали называть просто фагами.

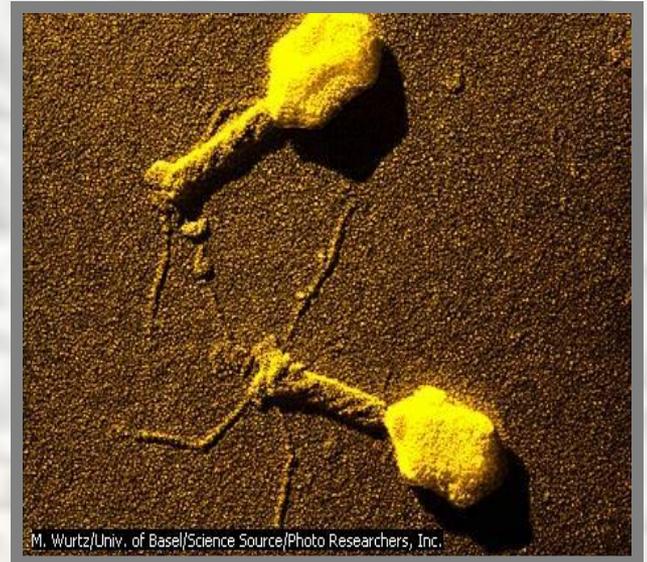
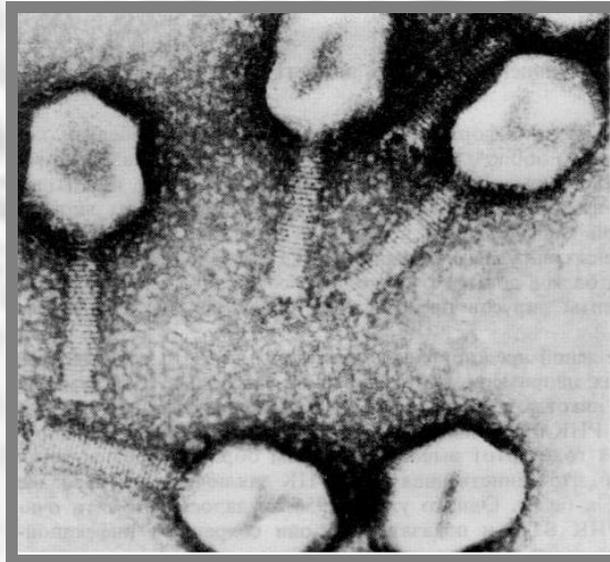
Морфология.

- Фаги различаются по форме, структурной организации, типу нуклеиновой кислоты и характеру взаимодействия с микробной клеткой.
- Большинство фагов под электронным микроскопом имеют форму **головастика или сперматозоида**, некоторые — кубическую и нитевидную формы. Размеры фагов колеблются от 20 до 800 нм у нитевидных фагов.
 - Наиболее полно изучены крупные бактериофаги, имеющие форму сперматозоида. Они состоят из вытянутой икосаэдрической **головки** размером 65—100 нм и **хвостового отростка** длиной более 100 нм. Внутри хвостового отростка имеется полый цилиндрический стержень, сообщающийся отверстием с головкой, снаружи — чехол, способный к сокращению наподобие мышцы. Хвостовой отросток заканчивается шестиугольной **базальной пластинкой** с короткими шипами, от которых отходят нитевидные структуры — **фибриллы**.

Бактериофаги – вирусы бактерий



20-200 нм



Химический состав.

- Фаги состоят из двух основных химических компонентов — **нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и белка**. У фагов, имеющих форму сперматозоида, двунитчатая ДНК плотно упакована в виде спирали внутри головки.
- Белки входят в состав оболочки (капсида), окружающей нуклеиновую кислоту, и во все структурные элементы хвостового отростка. Структурные белки фага различаются по составу полипептидов и представлены в виде множества идентичных субъединиц, уложенных по спиральному или кубическому типу симметрии.
- Кроме структурных белков, у некоторых фагов обнаружены внутренние (геномные) белки, связанные с нуклеиновой кислотой, и белки-ферменты (лизоцим, АТФ-аза), участвующие во взаимодействии фага с клеткой.

Резистентность.

- Фаги более устойчивы к действию химических и физических факторов, чем бактерии. Ряд дезинфицирующих веществ (фенол, этиловый спирт, эфир и хлороформ) не оказывают существенного влияния на фаги.
- Высокочувствительны фаги к формалину и кислотам. Инактивация большинства фагов наступает при температуре 65—70 °С. Длительное время они сохраняются при высушивании в запаянных ампулах, замораживании при температуре 185 °С в глицерине.

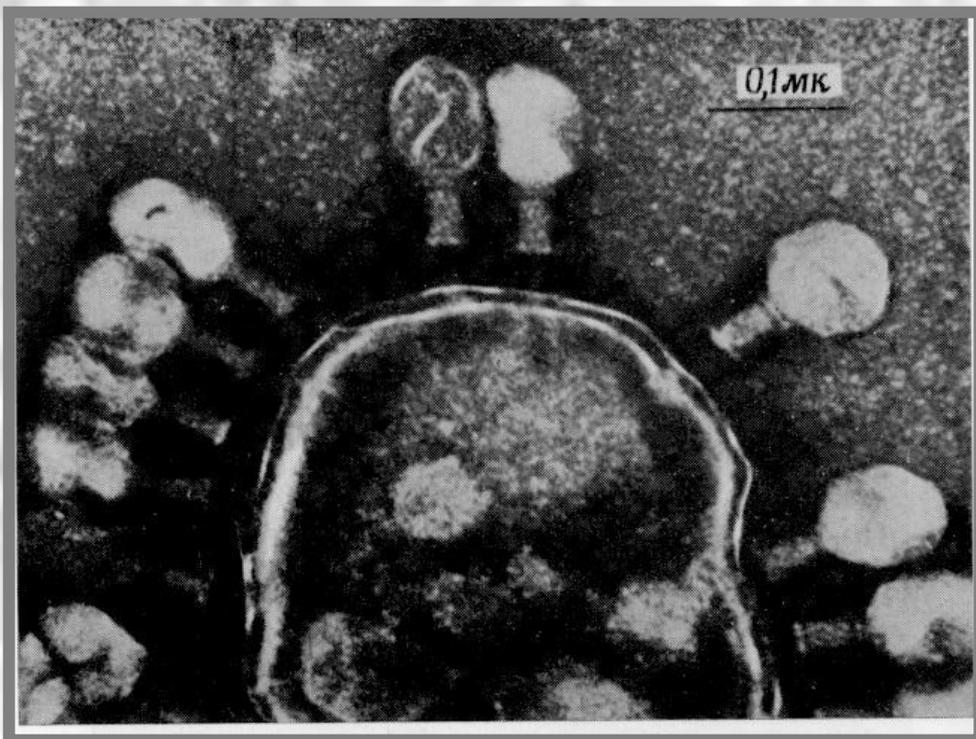
Взаимодействие фага с бактериальной клеткой

По механизму взаимодействия различают **вирулентные и умеренные фаги**

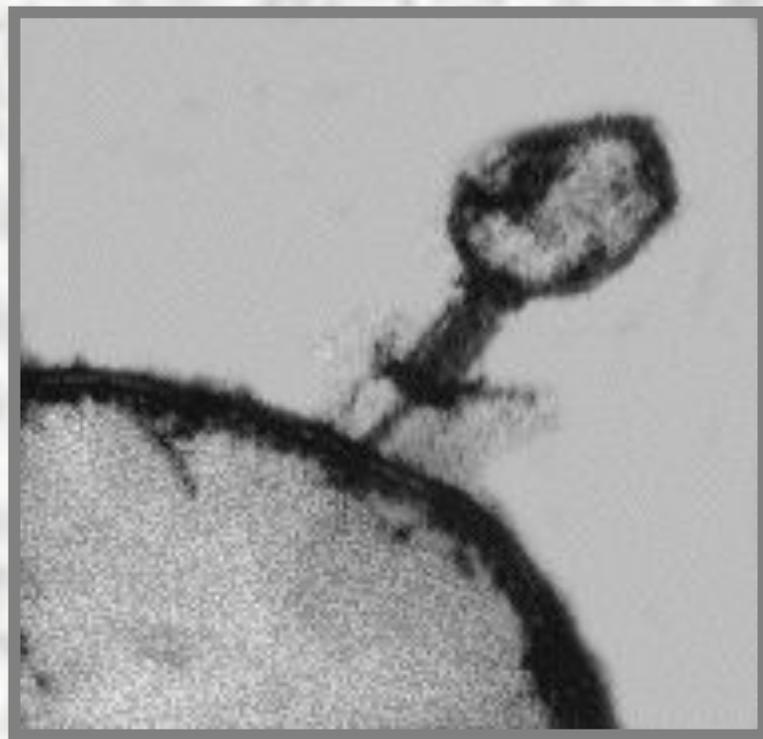
- **Вирулентные фаги**, проникнув в бактериальную клетку, автономно репродуцируются в ней и вызывают лизис бактерий.
- Процесс взаимодействия вирулентного фага с бактерией протекает в виде нескольких стадий и схож с процессом взаимодействия вирусов человека с клеткой хозяина.
- После биосинтеза фаговых компонентов и их самосборки в бактериальной клетке накапливается до 200 новых фаговых частиц. Под действием фагового лизоцима и внутриклеточного осмотического давления происходит разрушение клеточной стенки, выход фагового потомства в окружающую среду и лизис бактерии.

Один литический цикл (от момента адсорбции фагов до их выхода из клетки) продолжается 30—40 мин. Процесс бактериофагии проходит несколько циклов, пока не будут лизированы все чувствительные к данному фагу бактерии.

- **Адсорбция**



- **Внедрение**



- **Синтез ДНК и белка**
- **Формирование**

- **Умеренные фаги** не лизируют клетки, а вступают в симбиоз, в результате чего ДНК фага встраивается в хромосому бактерии. В таком случае геномом фага называют **профаг**.
- **Профаг**, ставший частью хромосомы клетки, при ее размножении реплицируется синхронно с геном бактерии, не вызывая ее лизиса, и передается по наследству от клетки к клетке неограниченному числу потомков. Биологическое явление симбиоза микробной клетки с умеренным фагом (профагом) называется **лизогенией**, а культура бактерий, содержащая профаг, получила название **лизогенной**.

- Это название (от греч. lysis — разложение, genea — происхождение) отражает способность профага самопроизвольно или под действием ряда физических и химических факторов исключаться из хромосомы клетки и переходить в цитоплазму, т. е. вести себя как вирулентный фаг, лизирующий бактерии.
- Лизогенные культуры по своим основным свойствам не отличаются от исходных, но они невосприимчивы к повторному заражению гомологичным или близкородственным фагом и, кроме того, приобретают дополнительные свойства, которые находятся под контролем генов профага.

- Изменение свойств микроорганизмов под влиянием профага получило название **фаговой конверсии**. Последняя имеет место у многих видов микроорганизмов и касается различных их свойств: культуральных, биохимических, токсигенных, антигенных, чувствительности к антибиотикам и др. Кроме того, переходя из интегрированного состояния в вирулентную форму, умеренный фаг может захватить часть хромосомы клетки и при лизисе последней переносит эту часть хромосомы в другую клетку. Если микробная клетка станет лизогенной, она приобретает новые свойства.
- Таким образом, умеренные фаги являются мощным фактором изменчивости микроорганизмов.

Применение бактериофагов

Применение фагов основано на их строгой специфичности действия

Диагностика (фаготипирование).

- С помощью известных (диагностических) фагов проводят идентификацию выделенных культур микроорганизмов.
- Фаготипирование имеет большое эпидемиологическое значение, так как позволяет установить источник и пути распространения инфекции;
- С помощью тест-культуры можно определить неизвестный фаг в исследуемом материале, что указывает на присутствие в нем соответствующих возбудителей.

- **Лечение и профилактика.**
- Производят брюшнотифозный, дизентерийный, синегнойный, стафилококковый фаги и комбинированные препараты. Способы введения в организм: местно, энтерально или парентерально.
- **Биотехнология.**
- Умеренные фаги используют **в генетической инженерии** и биотехнологии в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК.