ი. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

არტემი ოკოევი

მაღალი ტიტრის და სისუფთავის ბაქტერიოფაგის მიღების ტექნოლოგია და მიღებული ფაგის ფიზიკური თვისებები

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ბიოფიზიკის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვნაელები:

სრული პროფესორი თ.მძინარაშვილი

ბიოლოგიის დოქტორი ნ. შენგელია

თბილისი, 2013

I.Javakhishvili Tbilisi State University

Faculity of exaxt and natural sciences

Okoevi Artemi

Technology of obtaining high titer and purity bacteriophage and physical properties of obtained phages

Master's thesis is performed in order to going Biophysics masters's academic degree

Supervisors: T.Mdzinarishvili, Full Professor

N.Shengelia, Doctor of Biology

Tbilisi, 2013

ა ნ ო ტ ა ც ი ა

წარმოდგენილი ნაშრომი აღწერს ტექნოლოგიურ მიდგომას, რომლის საშუალებითაც შესაძლებელია მაღალი ტიტრის ბაქტერიოფაგის მიღება, მისი კონცენტრირება და გასუფთავება. ჩვენს მიერ მოდიფიცირებული იყო უჟანგავი ფოლადის ფრეზერის ტიპის ფერმენტორი, რითაც მისი გამოყენების საიმედოობა მნიშვნელოვნად იქნა გაუმჯობესებული. ექსპერიმენტისათვის შეირჩა E.coli C ბაქტერია, T7 ფაგი და ბაქტერიების გამრავლებისთვის საჭირო საკვები არე (კელემბერგერის ხსნარი). ფერმენტორში უზრუნველვყოფილი იყო ბაქტერიის გამრავლებისთვის საჭირო 37^0C ტემპერატურა და შეირჩა ბაქტერიის ტიტრის ისეთი მაქსიმალური მნიშვნელობა, რომლის დროსაც დაემატა T7 ფაგი. ასეთ პირობებში მოხდა T7 ბაქტერიოფაგის გამრავლება E.coli C ბაქტერიაზე და მიღებული იქნა ფაგის საკმაოდ მაღალი ტიტრი (ბიოლოგიური ტიტრი შეადგენდა 2.10^{10} ნაწ/მლ). მიღებული 10 ლიტრი ლიზატისაგან ანიონური გაცვლითი სვეტის (DEAE-ცელულოზა) გამოყენებით განხორციელდა ფაგის დაკონცენტრირება და გაწმენდა, შედეგად მიღებული იქნა საკმაოდ მაღალი ტიტრის და სისუფთავის T7 ფაგების კონცენტრატი. სპექტროფოტომეტრული მეთოდით შემოწმებული იქნა ფაგის ტიტრი და მისი სისუფთავის ხარისხი. ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ მღებული იქნა მაღალი ტიტრის და გაწმენდილი ბაქტერიოფაგების სუსპენზია.

A b s t r a c t

The work describes a technological approach which allows preparation of a high-titer bacteriophage lysates, concentration and purification. We have modified the type of stainless steel Frezer permentor, thereby the reliability of its use was significantly improved. E.coli C bacteria, T7 phage were selected for the experiment and kelemberger solutions were used for bacteria growth. The effective conditions were maintained for growth. The T7 phage growth was performed on E.coli C bacteria using discribed Permenter. The quite high titer of T7 phage lysate was obtaind by this method (biological titer - 2.10^{10} pfu/ml), which indicates that the best conditions were selected for phage growth. Using anionic exchange column the 10 liter lysate was concentrated and pretty high titer of phage with high purity was obtained – an important task was solved.

Our results show that the described technology for preparation of high titer phage stock is fast and effective.

სარჩევი

ნაწილი I 7
თავი 1. ბაქტერია ნაწლავის ჩხირი - *Escherichia coli*..... 7
1.2. ბაქტერიული უჯრედის აგებულება..... 9
თავი 2. ბაქტერიოფაგები 12
2.1 ბაქტერიოფაგების აღმოჩენა და მათი ზოგადი დახასიათება..... 12
2.2. ბაქტერიოფაგების ფიზიოლოგია. ბაქტერიული ვირუსების გავითარების ციკლი, ბაქტერიოფაგის და პატრონი უჯრედის ურთიერთქმედება..... 18
2.3ფაგის გამოყენება სხვადასხვა ინფექციური 24
დაავადებების მკურნალობისა და პრევენციისთვის. 24
ნაწილი II..... 30
ექსპერიმენტალური ნაწილი..... 30
თავი I 30
მასალები 30
თავი II..... 30
საკუთარი გამოკვლევები. 30
დასკვნები..... 37
ციტირებული ლიტერატურის სია..... 38

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

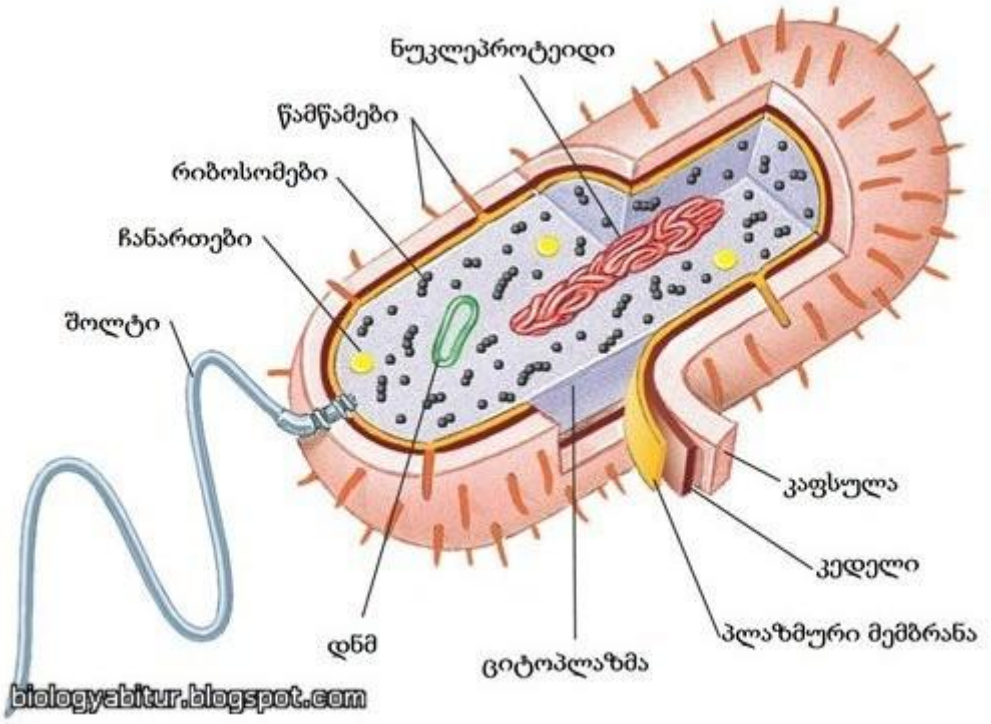
ნაშრომის აქტუალობა. მე-XX საუკუნის შუა წლებში მეცნიერებმა აღმოაჩინეს ანტიბიოტიკი. ეს იყო ეფექტური და სწრაფი მეთოდი ბაქტერიულ დაავადებებთან ბრძოლისას. დღევანდელ დღეს არ არსებობს ადამიანი, რომელსაც არ მიუღია ესა თუ ის ანტიბიოტიკი. ზუსტად ამის ბრალია რომ ანტიბიოტიკი ნელ-ნელა კარგავს თავის ეფექტურობას. ბაქტერიებმა უბრალოდ გამოიმუშავეს „იმუნიტეტი" ანტიბიოტიკის მიმართ. ანტიბიოტიკების კიდევ ერთი მინუსი ის იყო, რომ „ავ" ბაქტერიებთან ერტად ის „კარგ" ბაქტერიებსაც ანადგურებდა, რომლებიც ჩვენი ორგანიზმის სიცოცხლისუნარიანობისთვის ძალზედ მნიშვნელოვანი არიან [3]. თან ამდენი წამლის მიღება უარყოფითად მოქემდებს ჩვენს ორგანოებზე. დახმარებას თვით ბუნება გვიწევს: **ბაქტერიოფაგი** -არის ვირუსი რომელიც მხოლოდ და მხოლოდ ბაქტერიებს ანადგურებს. კონკრეტული ტიპის ბაქტერიოფაგი მხოლოდ კონკრეტულ ბაქტერიას ანადგურებს და სხვას არაფერს ავნებს. ბაქტერიოფაგის (ფაგის) ერთი მიღების შემდეგ, მისი მიღება აღარაა საჭირო, ის თვითონ მრავლდება. უახლესი მონაცემები ფაგები ანტიკარცენოგენული, ანტივირუსული და იმუნომოდულატორული ზემოქმედების შესახებ, რომელიც ემატება მათი ანტიბაქტერიული მოქმედების მრავალწლიან პრაქტიკულ გამოცდილებას, მოწმობს იმაზე, რომ კლინიკურ მედიცინაში ფაგების გამოყენების ახალი ერა იწყება.

<u>კვლევის მიზანია:</u> დღევანდელ დღეს ფარმაციაში ფაგები გვხვდება შედარებით დაბალი კონცენტრაციით 10^8 ფაგი/მლ. ჩვენ ვეცდებით მივიღოთ გაცილებით მაღალი კონცენტრაცია - 10^{12} ფაგი/მლ და გავანთავისუფლოთ ფაგი ყოველგვარი ორგანული მინარევებისგან.

ნაწილი I

ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი 1. ბაქტერია ნაწლავის ჩხირი - *Escherichia coli*



ნახ.1

1.1 ბაქტერიების ზოგადი დახასიათება

ეს უმცირესი, უპირატესად ერთუჯრედიანი ორგანიზმების ვრცელი ჯგუფია. მიეკუთვნებიან მცენარეულ სამყაროს. გარეგანი ფორმით ბაქტერიებს ყოფენ სამ ძირითად ჯგუფად: სფეროსებრი (კოკები), ჩხირისებრი ანუ

ცილინდრული (ბაქტერიები და ბაცილები) და დაკლაკნილი (ვიბრუინები, სპირილები და სარხოტები) .

კოკები-(ბერძ. **Kokkos**-თესლი). ჩვეულებრივ აქვთ სფეროს სწორი ფორმა. სხვადასხვა ფაქტირების გავლენით კოკები იღებენ ოვალურ, ელიფსურ და კონუსურ ფორმებს.

გაყოფის შემდეგ უჯრედების მდებარეობის მიხედვით კოკებს ყოფენ რამოდენიმე ჯგუფად

1) მონოკოკები (ბერძ. monos-ერთი) წარმოიქმნებიან მაშინ. როდესაც გაყოფის დასრულების სემდეგ კოკები არ რჩებიან ერთად არამედ იყოფიან ცალკეულ სფეროებად.

2) დიპლოკოკები-(diplos-ორმაგი)- ერთი ინდივიდის გაყოფის შემდეგ ორი კოკის შეჭიდვა.

3)ტეტრაკოკები-(ბერძ. tetra-ოთხი)- თანმიმდევრულად ორი ურთიერთპერპენდიკულარული მიმართულებით უჯრედის გაყოფის გამო ოთხ-ოთხად შეჭიდული კოკები.

4) სარცინები- (ბერძნ. sarcio-ვაკავშირებ)- კოკების გროვები პაკეტების სახით , რომლებიც შედგებიან 8-16 და მეტი უჯრედისაგან, როდესაც ისინი იყოფიან მუდმივად სამ ურთიერთპერპენდიკულარულ სიბრტყეში.

5) სტაფილოკოკები (ბერძ satphyle –მტევანი)- მდებარეობა ყურძნის მტევნების სახით, რომლებიც წარმოიქმნებიან სხვადასხვა მიმართულებით ინდივიდების გაყოფის წყალობით და უჯრედები გარკვეული დროით რჩებიან ერთად.

6) სტრეპტოკოკები-(ბერძნ. სტრეპტოს-ჯაჭვი)- გაყოფა ხორციელდება ყოველთვის ერთი მიმართულებით, ხოლო ახლად წარმოქმნილი უჯრედები არ სცილდებიან ერთმანეთს და ამიტომ წარმოიმნიან სხვადასხვა სიგრძის ჯაჭვებს.

ჩხირისებრი ბაქტერიები *Escherichia coli* - მათი უჯრედები შეიძლება იყოს მოკლე და გრძელი. უჯრედების ბოლოები არის ხოლმე წაკვეთილი, ოდნავ ჩაზნექილი, მომრგვალებული ან წაწვეტებული, ზოგჯერ მათზე აღინიშნება ამობერილობები, მიღებულია ამ ბაქტერიების გაყოფა ორ ჯგუფად: **ბაქტერიები და ბაცილები.** ბაქტერიები – ჩხირებია, რომლებიც წარმოქმნიან სპორებს.

თუ მათ შორის გვხვდება ჩხირების წყვილ-წყვილად შეერთებები, მაშინ მათ უწოდებენ **დიპლობაქტერიებს ან დიპლობაცილებს**. ჯაჭვების არსებობისას ისინი აღინიშნებიან როგორც **სტრეპტობაქტერიები ან სტრეპტობაცილები.**

როდესაც ჩხირის სიგრძე ოდნავ განსხვავდება სიგანისგან და ორივე განზომილებას შორის სხვაობა ხდება თითქმის შეუმჩნეველი , მაშინ ასეთ ჩხირებს უწოდებენ კოკობაქტერიებს.

დაკლაკნილი ბაქტერიები- მათ მიეკუთვნებიან ვირიონები, **სპირილები და სპიროხეტები. ვირიონები** წარმოადგენენ ოდნავ მოღუნულ უჯრედებს. **სპირილები** – გრძელი მოღუნული ჩხირებია ერთი ან რამოდენიმე ხვეულით.

სპიროხეტები- წვრილი, გრძელი ჩხირებია წვრილი ხვეულების დიდი რაოდენობით.

ბაქტერიების ზომა- მათი სიდიდე იზომება მიკრონებში, მიკრონი=- მილიმეტრის ერთი მეასედი ნაწილია. ბაქტერიების უმრავლესობის სიგრძე და კოკისებრთა დიამეტრიც მერყეობს 0.2დან 10 მიკრონამდე (მკ).

ბაქტერიებს შორის ზოგჯერ გვხვდება ფორმები უფრო მსხვილი უჯრედებით. გოგირდ ბაქტერიებში, რკინაბქტერიებში ისინი აღწევენ 50-60 მკ.

1.2. ბაქტერიული უჯრედის აგებულება.

ბაქტერიული უჯრედი შედგება უჯრედული გარსისაგან, ციტოპლაზიმისაგან, ბირთვული აპარატისგან და ციტოპლაზმური ჩანართებისაგან.(ნახ№1).

უჯრედის გარსი თხელია. მკაფიოდ მოხაზული შედარებით მკვრივი სტრუქტურისაა, სისქით 100 დან 600 A°-მდე, შეადგენს მშრალი მასის წონის დაახლოებით 20 %-ს.

უჯრედის გარსი შეიძლება გამოვავლინოთ სპეციალური შეფერილობის საშუალებით. შეუღებავი სახით ის შესამჩნევია მხოლოდ მსხვილ ბაქტერიულ ფორმებში. მაგალითად, რკინა ბაქტერიებში და გოგირდ ბაქტერიებში. სრული წარმოდგენა გარსის შესახებ შეიძლება მივიღოთ ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით. ამ მიკროსკოპის საშუალებით ჩვენ შეიძლება დავაკვირდეთ და გადავიღოთ მოლეკულები, ვირუსები ე.წ უწვრილესი კრისტალური ნაწილაკები.

გარსი აძლევს უჯრედს გარკვეულ ფორმას, არეგულირებს საკვები ელემენტების (შიგნით) შეღწევას, ცვლის პროდუქტების, ფერმენტებისა და სხვა ნივთიერებების (გარეთ) გამოყოფას.

გარსი იცავს უჯრედს გარემოს ზემოქმედებისაგან და ერთ დონეზე ანარჩუნებს მნიშვნელოვან უჯრედშიდა ოსმოსურ წნევას (3-6 ატმ). გარსის ქიმიური შედგენილობის თავისებურებების მიხედვით ყველა სახის ბაქტერიები ინარჩუნებენ არაერთნაირ დამოკიდებულებას შეღებვის ერთ-ერთი დიფერენციალური ხერხისადმი, რომელიც შემუშავებულ იქმა დანიელი მეცნიერის – გრამის მიერ. შეღებვის ამ ხერხის მიხედვით ბაქტერიები შეიძლება დაიყონ გრამდადებით- რომლებიც იღებებიან იისფრად და გრამუარყოფით ბაქტერიებად- რომლებიც იღებებიან ვარდისფრად. შეღებვის არსი იმაში მდგომარეობს რომ გრამდადებითი ბაქტერიების უჯრედის გარსის ზედაპირზე დიდი რაოდენობითაა მუკოპოლისაქარიდული და პოლიფოსფატნუკლეოტიდური კომპლექსი, რომელსაც გენციანვიოლეტის საღებავი და იოდი მტკიცედ უკავშირდებიან და ნელა იშლებიან სპირტით, რადგან ზემოთ მითითებული კომპლექსები მათ გაცილებით ნაკლები აქვთ და ისინი თავსდებიან უჯრედის სიღრმეში.

კაფსულა - ზოგიერთი სახის მიკროორგანიზმების გარსის ზედაპირზე არის კაფსულა. ერთ სახეობაში ის წარმოადგენს გასქელებულ გარსს, მეორე სახეობაში კი – ლორწოვან შრეს. ყველაზე ხშირად კაფსულა და უჯრედული გარსი –ცალკეული სტრუქტურული ელემენტებია.

კაფსულა- შედგება პოლისაქარიდებისაგან, გლუკოპროტეიდებისაგან. კაფსულა იცავს უჯრედს გარე გარემოს არასასურველი მოქმედებისაგან (გამოშრობა, ფაგოციტოზი და სხვა). ბაქტერიების მრავალ სახეობაში კაფსულა წარმოიქმნება საკვებ ნიადაგში ნახშირწყლების მაღალი და ცილების დაბალი შემცველობისას.

პლაზმური მემბრანა - უჯრედის გარსს მჭიდროდ ეკვრის ციტოპლაზმის გარეთა შრე - ცპლაზმური მემბრანა (პენოპლასტი). მას გააჩნია ისეთი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები, რომლებიც განასხვავებენ მას დანარჩენი ციტოპლაზმისგან. მემბრანის სისქე არ აღემატება 50-100 A ° . ის წარმოადგენს ინტენსიური ფიზიოლოგიური აქტივობის ადგილს, რადგან არის მრავალი ფერმენტის მატარებელი.

მემბრანა იცავს ციტოპლაზმას, გარდა ამისა , ის ინარჩუნებს მუდმივ უჯრედშიდა ოსმოსურ წნევას, აკავებს ციტოპლაზმაში საკვებ ნივთიერებებსა და მარილებს და ამავე დროს ხელს უწყობს ცვლის პროდუქტების გამოყოფას.

პლაზმურ მემბრანას გააჩნია შერჩევითი განვლადობა, რომელზეც დამოკიდებულია უჯრედის სიცოცხლე. ის შეადგენს მშრალი უჯრედის წონის 10%-ზე მეტს და შედგება ლიპიდებისაგან, პროტეინებია და ნახშირწყლებისაგან.

ციტოპლაზმა ბაქტერიებში წარმოადგენს კოლოიდების გამჭვირვალე წყლიან და ოდნავ ბლანტ ერთგვაროვან ნარევს. მასში შეიძლება სუსპენზირებულ იქნენ, აგრეთვე, პიგმენტები, სამარაგო საკვები ნივთიერებები და ცხიმები. ციტოპლაზმის ქიმიური შემადგენლობა წარმოადგენს ცილების, ნახშირწყლების , ლიპიდების, მინერალური ნივთიერებების, წყლისა და სხვა ორგანული ნაერთების რთულ ნარევს.. ის შეიცავს იგივე ამინომჟავებს, რასაც უმაღლესი მცენარეების ცილები.

ბაქტერიების ციტპლაზმაში მიმდინარეობს ნივთიერებათა ცვლის რთული პროცესები, შედეგად უჯრედის შიდა სტრუქტურა უწყვეტად ახლდება. ციტოპლაზმას გააჩნია წვრილგრანულარული სტრუქტურა.

ბაქტერიული უჯრედის ციტოპლაზმაში არის სხვადასხვა ჩანართები.

1) **მიტოქონდრიები**-წარმნაქმნებია წვრილი მარცვლების სახიტ, რომლებიც მდიდარია რიბონუკლეინმჟავით (რნმ), და რომელებიც შეიცავენ ჯანგვა-აღდგენით ფერმენტებს.

2) **რიბოსომები**-ცილითა და რიბონუკლეინის მჟავის (რნმ) მდიდარი წვრილი გრანულები. ისინი წარმოადგენენ ძირითად ადგილს, სადაც მიმდინარეობს ცილის ბიოსინთეზი.

3)**ვოლუცინი**-რიბონუკლეინის მჟავასთან არაორგანული მეტაფოსფატების კომპლექსია. მას თვლიან მიკრობების სათადარიგო საკვებ ნივთიერებას შიმშილობის დროს.

ამასთანავე, გვხვდება გრანულები, რომლებიც შეიცავენ გლიკოგენს, ცხიმს , გოგირდს, რკინას, რომელთაგან ერთი ნაწილი წარმოადგენს სამარაგო საკვებ მასალას, ხოლო მეორე ნაწილი კი – ცვლის პროდუქტებს.

ბირთვული აპარატი - ვეყრდნობით რა ელექტრონული მიკროსკოპის მონაცემებს, ჭეშმარიტი ბაქტერიების ბაქტერიული უჯრედის ბირთვული აპარატი განიხილება როგორც თავისებური ბუშტუკი, რომელიც მდებარეობს

ციტოპლაზმის ცენტრალურ ნაწილში და რომელშიც არის წვრილი მარცვლები ან ქრომატინული ძაფები.

ბირთვული ნივთიერება შედგება, ძირითადად, დეზოქსი რიბონუკლეო

პროტეიდებისაგან: მათი შემცველობა აღწევს ბაქტერიის მშრალი მასისი წონის 20-40%. კულტურის ზრდასთან ერთად იცვლება ბირთვული ნივთიერებებისა და დეზოქსირიბონუკლეოპროტეიდების რაოდენობა. ბაქტერიების ბირთვული აპარატი- უჯრედის მემკვიდრული თვისებების ძირითადი მატარებელია. ის აკონტროლებს ნივთიერებათა ცვლას.

თავი 2. ბაქტერიოფაგები

2.1 ბაქტერიოფაგების აღმოჩენა და მათი ზოგადი დახასიათება.

პოლირეზისტენტული მიკრობებით გამოწვეული ინფექციების სიმრავლემ და თანამედროვე მეთოდებით მათთან ბრძოლის სირთულემ აღიარება მოუტანა ისეთ სამკურნალო-პროფილაქტიკურ საშუალებას, როგორიცაა ბაქტერიოფაგი.

რუსი ბაქტერიოლოგი ნიკოლაი გამალეი იყო პირველი ვინც განახორციელა დაკვირვებები ანტიბაქტერიულ ფენომენზე (1898 წ.), რომელმაც შეამჩნია, რომ ციმბირის წყლულის გამომწვევი ბაცილების ფილტრატი იწვევდა ამ მიკროორგანიზმების ახალი კულტურის ლიზისს [6].

ბაქტერიული კულტურების სპონტანური ლიზისის ფენომენზე დაკვირვებები სხვა მეცნიერებსაც ჰქონდათ, მათ შორის, 1925 წ. ქართველმა მეცნიერმა გ. ელიავამ აღნიშნა ***Vibrio cholerae*** -ს ბაქტერიების თვითლიზისის მოვლენა. ამ თვალსაზრისი აღსანიშნავია ინგლისელი ბაქთერიოლოგის ფრედერიკ ტუორტის გამოკვლევები, რომელიც სწავლობდა ვირუსების ზრდას სხვადასხვა საკვებ ნიადაგზე. ექსპერიმენტის მიმდინარეობისას მისი ყურადრება მიიქცია სტაფილოკოკების კოლონიების უჩვეულო „მინისებრმა გარდაქმნამ“. ტუორტმა ღნიშნა, რომ ასეთი კოლონიები კარგავდა გადათესვის უნარს და მათი შეტანა ნორმალურ კოლონიებში იწვევდა უკანასკნელების გარდაქმნას, 1913 წ. ჟურნალ **The Lancet** -ში გამოქვეყნებულ სტატიაში ტუორტი მიუთითებდა, რომ კოლონიების „მინისებრი

გარდაქმნის“ გამომწვევი აგენტები შესაძლებელია ყოფილიყო უჯრედ-პროდუცენტის დამშლელი ფერმენტები ან აგენტები, რომლებიც აზიანებდა ბაქტერიებს [4]. ეს აღმოჩენა მეცნიერულად დასაბუთებული იქნა კანადელი ბაქტერიოლოგის ფელიქს ჰუბერტ დერელის მიერ, რომელიც მუშაობდა პარიზში, პასტერის ინსტიტუტში. მან 1917 წ. დეზენტერიი დაავადებული ავადმყოფის ნაწლავიდან გამოყო შიგელები, რომლებიც შეიცავდა ბაქტერიების ლიზისის უნარის მქონე პასიებად აგენტს და უწოდა მას „უჩინარი ბაქტერიული ანტაგონისტი“ ანუ „ბაქტერიოფაგი“, რაც „ბაქტერიის მშთანთქმელს“ ნიშნავს [1, 4, 5, 6].

დერელმა პირველმა შეაფასა სწორად ბაქტერიოფაგის ფენომენის ბიოლოგიური არსი. მან დაასკვნა, რომ ბაქტერიოფაგი წარმოადგენს ბაქტერიების ვირუსს, რომელიც მრავლდება ბაქტერიული უჯრედის შიგნით, რის შედეგადაც ხდება უჯრედის ლიზისი და გარემოში გამოდის კვლავ წარმოქმნილი ფაგების შთამომავლობა. ბაქტერიოფაგის ფენომენის აღმოჩენამ საფუძველი ჩაუყარა თანამედროვე მოლეკულური ბიოლოგიისა და გენენტიკის განვითარებას. კულტივირების სიმარტივემ, გენერაციის ხანმოკლე პერიოდმა, შთამომავლობის მაღალმა გამოსავალმა და მათი ზუსტი რაოდენობის განსაზღვრის შესაძლებლობამ ბაქტერიოფაგი ხელსაყრელ მოდელად აქცია გენების სტრუქტურის, მუტაგენეზის მოლეკულური მექანიზმების, გენეტიკური კოდის გაშიფვრისა და ორგანიზმების მემკვიდრეობით სტრუქტურაზე რადიაციის გავლენის შესაბამისად [3, 4, 5, 6, 7].

ბაქტერიოფაგის აღმოჩენა იქცა მნიშვნელოვან ეტაპად არა მარტო თეორიული დისციპლინისა, არამედ პრაქტიკული ჯანდაცვისა და ვეტერინარიის განვითარებისათვისაც.

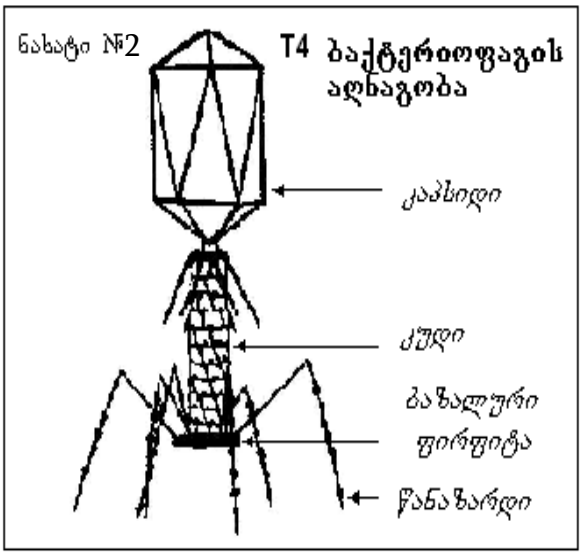
ბაქტერიების ვირუსები - ბაქტერიოფაგები წარმატებით გამოიყენება ფაგოდიაგნოსტიკის, ფაგოინდიკაციის, ფაგოთერაპიისა და ფაგოპროფილაქტიკისათვის [4, 6, 9]

ბაქტერიოფაგი ყველაზე ფართო ჯგუფია ვირუსებს შორის. მათი გავრცელების არეალი განსაკუთრებით მრავალფეროვანია: აღმოჩენილია 100-ზე მეტ ბაქტერიულ გვარში, გავრცელებულია ჰაერში, ნიადაგში, წყალში (განსაკუთრებით ჩამდინარე-საკანალიზაციო წყლებში).

ადამიანის ვირუსებთან შედარებით, ბაქტერიოფაგები უფრო გამძლეები არიან: ფაგების უმრავლესობა უძლებს მაღალ ტემპერატურებს (50-60 ^{0}C), კარგად იტანს

გამოშრობას, გაყინვას და დიდი ხნის განმავლობაში ინახება დაბალ ტემპერატურაზე. 0.5% სულემის ხსნარი, 1% ფენოლის ხსნარი არ ახდენს მათზე გავლენას. ფაგები მდგრადებია დეზინფექტანტების მიმართ (გამონაკლისია ფორმალინი). ულტრაიისფერი სხივები და მაიონიზირებელი რადიაცია იწვევს ბაქტერიოფაგების ინაქტივაციას, დაბალ დოზებში კი მუტაციებს [1, 4, 6, 8]

<u>ბაქტერიოფაგების მორფოლოგიური სტრუქტურა</u>: გარეგნულად ბაქტერიოფაგების უმრავლესობა მოგვსგონებს სპერმატოზოიდებს ან თავკომბალებს. მორფოლოგიურად შესწავლილია დაახლოებით 3500 იზოლატი. ფაგები მორფოლოგიურად არიან წანაზარდიანი (კუდიანი), კუბური, ძაფისებრივი (flamentous), ან პლეომორფული [11].

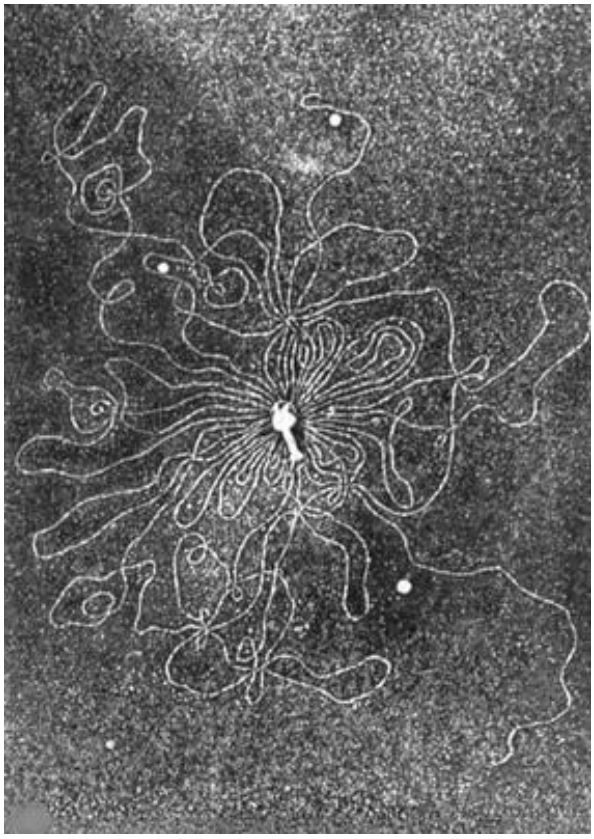


ბაქტერიოფაგების უმრავლესობა შედგება თავისაგან-კაფსიდისაგან, რომელიც შეიცავს ერთ ან ორძაფიან **დნმ**-ს ან **რნმ**-ს და კუდისაგან. ზოგიერთ ფაგს კუდი ძალიან პატარა აქვს. ფაგის ნაწილაკების ზომები მერყეობს 20 - 200 ნმ ფარგლებში. ფაგის კაფსიდის საშუალო ზომაა 60-100 ნმ, ხოლო კუდის - 100-200 ნმ.

ბაქტერიოფაგის მორფოლოგიური სტრუქტურა განსაკუთრებით სრულად დახასიათებულია E. Coli-ს და T-ფაგის წყვილების შესწავლის საფუძველზე (ნახ. 2) [1, 4].

T-ფაგების თავი - კაფსიდი წარმოდგენილია ჰომოგენური ცილოვანი მოლეკულებით, რომლებიც კონსრუირებულია იკოსაედრიული სიმეტრიით. მისი ზომები შეადგენს 100 ნმ, თავს აქვს კუბური სიმეტრია, საკმაოდ რიგიდულია და შედგება ცილოვანი გარსისა და მასში მოთავსებული დნმ-ური გენომისაგან. ფაგის თავში ცილებისა და დნმ-ს შემცველობა დაახლოებით თანაბარია. ფაგების გენომი წარმოდგენილია სპირალური ორძაფიანი დნმ-ით. თავის შემადგენლობაში

აგრეთვე შედის პოლპეპტიდი, რომელიც ძირითადად ასპარგინის და გლუტამინის მჟავებისაგან და ლიზინისაგან შედგება. ზოგიერთ ფაგებს კაფსოდოს შემადგენლობაში გააჩნია ე.წ. შინაგანი ცილა, რომელიც შეიცავს პოლიამინებს და რომელიც უზრუნველყოფს დნმ-ის მაკრომოლეკულის სუპერსპირალიზაციას [4]. უკანასკნელი მხოლოდ ასეთი სახით შესაძლებელია მოთავსდეს შედარებით მცირე მოცულობაში(ნახ. 3). ამ სურათში ნაჩვენებია ფაგი გამოთავისუფლებული ნუკლეინური მჟავით. ერთძაფიანი დნმ-ს და რნმ-ს შემცველი ფაგების რაოდენობა უმნიშვნელოა. ფაგების დნმ-ში აღმოჩენილი იყო უჩვეულო აზოტოვანი ფუძეები. უატისა და კონონის მიერ აღმოჩენილი იქნა, რომ T წყვილი ფაგების დნმ აზოტოვანი ფუძის ციტოზინის მაგივრად 5-ოქსომეთილციტოზინს შეიცავს, რაც საშუალებას იძლეოდა ბაქტერიული ვირუსის გენომი ბაქტერიული პატრონ-უჯრედისაგან დამოუკიდებლათ შეესწავლათ. *B.subtilis*- ის ფაგის დნმ შეიცავს აზოტოვან ფუძეს 5-მეთილურაცილს, რომელიც თიმინს ჩაანაცვლებს [6].



ნახ. 3

<u>T ფაგების წანაზარდი</u> (კუდი) სიგრძეში 100 ნმ-დე აღწევს. შეიცავს ღერძსდა კუმშვად შალითას, რომელიც უერთდება ფაგის საყელოს. ფაგის საყელო ღერძს გარს ეკვრის კაფსიდის ახლოს. შალითა წარმოქმნილია 120-140 ცილოვანი

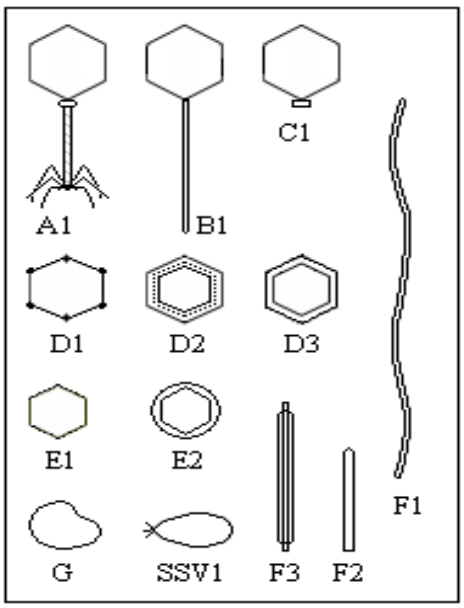
მოლეკულით. თითოეული მოლეკულა შეიცავს ერთ მოლეკულა ატფ-აზასა და Ca^{2+} იონებს.

<u>ანტიგენური თვისებები</u>: ბაქტერიოფაგები ავლენენ იმუნოგენურ თვისებებს. ისინი იწვევენ სპეციფიური ანტისხეულების სინთეზს (აღნიშნული ფენომენი პირველად არწერა ბორდემ და ჩუკამ 1921 წ.) [13]. ვირუსოსპეციფიური ანტისხეულები არ იძლევა ჯვარედიან რეაქციებს ფაგით ინფიცირებული ბაქტერიების ანტიგენებთან. თითოეული ვირუსი ნეიტრალიზაციის რეაქციებში ურთიერთმოქმედებს მხოლოდ ჰომოლოგიურ და სეროლოგირად მონათესავე ფაგების ანტიშრატთან.

ნეიტრალიზაციის გარდა იდენტიფიკაციისათვის იყენებენ აგლუნაციისა და პრეციპიტაციის რეაქციებს [4].

ბაქტერიოფაგების კლასიფიკაცია ემყარება ისეთი კრიტერიუმების შესწავლას, როგორიცაა გენომის სტრუქტურა, ანტიგენური მახასიათებლები, ბაქტერიული ვირუსის და მისი ნეგატიური კოლონიის მორფოლოგია, მოქმედების სპექტრი ფიზიკი-ქიმიური თვისებები, ქიმიური შემადგენლობა, ბიოლოგიური თავისებურებანი. ვირუსების ტაქსონომიის საერთაშორისო კომიტეტი აღიარებს ფაგების 12 ოჯახს და 12 გვარს [11]. ფაგების ოჯახების და გვარების დახასიათება მოცემულია ცხრილში №1.

ბაქტერიოფაგების ოჯახებისა და გვარების მორფოლოგია სქემატურად გამოსახებულია №4 ნახატზე.



ნახ. №4 ბაქტერიოფაგების ცალკეული გვარების წარმომადგენელთა მორფოლოგიის სქემატური გამოსახულებები:

A1 – Myoviridae ; B1 – Siphoviridae;

C1 – Podoviridae;

D1 – Microviridae; D2 – Corticoviridae; D3– Tectiviridae;

E1 – Leviviridae; E2 – Cystoviridae;

F1 – Inoviridae, genus Inovirus;

F2 - Inoviridae, genus Plectrovirus;

F3 – Lipothrixviridae; G – Plasmaviridae;

SSV1 – ჯგუფის

ბაქტერიოფაგების ოჯახების დახასიათება					
ფაგების რიგი	**ნუკლეინის მჟავა[1]**	**ოჯახი**	**გვარი**	**დახასითება**	**წარმომადგენელი**
წანაზარდიანი ფაგები	DNA, ds, L	Myoviridae	-	კონტრაქტული კუდი	T4, T2
		Siphoviridae	-	გრძელი, უკუმშვადი კუდი	λ
		Podoviridae	-	მოკლე კუდი	T7, P22
კუბური ფაგები	DNA, ss, C	Microviridae	Microvirus	ფართო კაფსომერი	Φ X174
			Spiromicrovirus	-	SV4
	DNA, ds, C, S	Corticoviridae	Corticovirus	კომპლექსური კაფსიდი	PM2
	DNA, ss, L	Tectiviridae	Tectivirus	ორმაგი კაფსიდი	PRD1
	RNA, ss, L	Leviviridae	Levivirus	-	MS2
			Allolevivirus	-	Qβ
	RNA, ds, L, M	Cystoviridae	Cystovirus	ლიპიდური კონვერტი	ϕ6
ძაფისებრივი ფაგები Filamentous	DNA, ss, C	Inoviridae	Inovirus	გრძელი ფილამენტი	fd
			Plectovirus	მოკლე ფილამენტი	L51
		Lipothrixviridae	Lipothrixvirus	ლიპოპროტეინული კონვერტი	TTV1
პლეომორფული ფაგები	DNA, ds, C, S	Plasmaviridae	Plasmavirus	უკაფსიდო	MVL2
	DNA, ds, C, S	SSV1 ჯგუფი	SSV1 ჯგუფი	ლიმონის ფორმის	SSV1

ცხრილი №1

[1] DNA, ds _ ორძაფიანი დნმ, DNA, ss _ ერთძაფიანი დნმ, L _ ხაზოვანი,C _ წრიული/ცირკულარული, M _ მულტიფრაგმენტული,
S _ სუპერსპირალიზებური.

2.2. ბაქტერიოფაგების ფიზიოლოგია. ბაქტერიული ვირუსების გავითარების ციკლი, ბაქტერიოფაგის და პატრონი უჯრედის ურთიერთქმედება

ბაქტერიოფაგის ურთიერთქმედება ბაქტერიულ უჯრედთან მკაცრად სპეციფიურია, ანუ ბაქტერიულ ვირუსებს აქვთ უნარი მოახდინონ ინფიცირება მხოლოდ გარკვეული სახეობის ბაქტერიებისა.

არსებობს ბაქტერიოფაგის განვითარების ორი ციკლი: 1. ლიზისური და 2. ზომიერი. ინფექციის საბოლოო რეზულტატის მიხედვით ფაგები იყოფა რამდენიმე ჯგუფად: 1.ჭეშმარიტად ვირულენტული ფაგები; 2. ზომიერი ფაგები; 3 ფაგები განვითარების უწყვეტი ციკლით; 4 ფაგები, რომლებიც შედიან ფსევდოლოზეგენურ ურთიერთობაში უჯრედთან [1, 3].

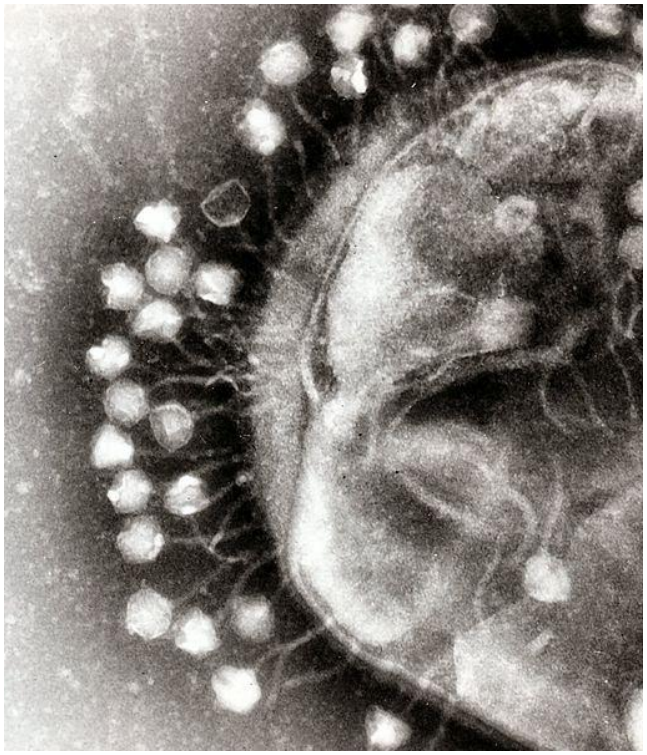
ბაქტერიული ვირუსების განვითარების ლიზისურ ციკლს სხვაგვარად უწოდებენ ვეგეტატიურ ან პროდუქტიულ ციკლს, რომლის დროსაც ინფექციური პროცესის შედეგი მხოლოდ ერთია - ბაქტერიული უჯრედის ლიზისი, ფაგის შთამომავლობის გამოთავისუფლებით. განვითარების ლიზისურ ციკლს ყოველთვის გადიან ჭეშმარიტად ვირულენტული ფაგები. ლიზისურ ციკლში გამოყოფენ შემდეგ სტადიებს: 1. ადსორბცია; 2. ფაგის ინექცია - ვირუსული დნმ-ის შეჭრა; 3. ფაგის რეპროდუქცია; 4. ვირუსის ახალი თაობის პოპულაციის გამოსვლა ბაქტერიული უჯრედიდან - გამოთავისუფლება [1, 4, 5, 6].

<u>ბაქტერიოფაგის ადსორბცია</u> პატრონ უჯრედზე ხორციელდება სფეციფიური ზედაპირული სტრუქტურების - რეცეპტორების საშუალებით, რომლებიც ძირითადად ლოკალიზებულია უჯრედის კედელში. რეცეპტორები ქიმიური შემადგენლობის მიხედვით განსხვავებულია. მაგალითად, ფაგები T2 და T6 ადსორბირდება რეცეპტორებზე, რომლებიც განლაგებულია უჯრედის კედლის ლიპოპროტეინულ შრეში, ხოლო ფაგები T3, T4 და T7 ადსორბირდება ლიპოსაქარიდულ რეცეპტორებზე [1, 4, 6]. ბაქტერიულ უჯრედებზე, რომლებიც მოკლებულია უჯრედულ კედელს (პროტოპლასტები,L-ფორმები), ბაქტერიოფაგები არ ადსორბირდება. ზოგიერთი ფაგი ადსორბირდება შოლტებზე, F-პილებზე, კაფსულაზე ან პლაზმურ მემბრანაზე. ზოგჯერ ინექციისათვის გამოიყენება უჯრედის ბუნებრივი ფორები, რომლებიც მონაწილეობს ბაქტერიული უჯრედის გარემოსთან ნივთიერებათა ცვლაში. მუტაციის დროს,

რომელსაც თან ახლავს ბაქტერიული რეცეპტორების ცვლილება, უჯრედი კარგავს ფაგის ადსორბციის უნარს და იძენს რეზიტენტულობას მათ მიმართ.

ბაქტერიოფაგის ადსორბცია პატრონ-უჯრედზე სპეციფიური რეცეპტორების გარდა დამოკიბულია გარემოს ფიზიკო-ქიმიურ თვისებებზე, ბაქტერიული უჯრედის ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე, ფაგის ბუნებაზე.

სხვადასხვა ფაგების ადსორბციისათვის საფეციფიური რეცეპტორების რიცხვი სხვადასხვაა. ბაქტერიული უჯრედის კედელზე შესაძლებელია 200-300 ვირუსული ნაწილაკის ადსორბირება, თუმცა უჯრედის ლიზისისათვის საკმარისია ერთი ვირიონის ადსორბცია (ნახ. 5) [1, 4].



ნახ. 5

<u>ფაგის ინექცია - ვირუსულლი დნმ-ს შეჭრა</u>. ფაგის ადსორბციის შემდეგ, უჯრედის კედლის შემადგენლობაში არსებული თუთიის იონები (Zn^{2+}) იწვევს ფაგის კუდის დისტალური ნაწილის ბოჭკოების გაგლეჯვას [2]. გამონთავისებული ბაზალური ფირფიტა კუდის დისტალურ ნაწილში მოთავსებული ფერმენტის ენდოლიზინის (ლიზოციმი) [4] გამოყოფით ახდენს ბაქტერიული უჯრედის კედლის მიმდებარე ფრაგმენტის ლიზირებას. ამავდროულად შალითაში გამოთავისუფლებული Ca^{2+} იონები იწვევს ატფ-აზას აქტივირებას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს შალითის

შეკუმშვას და უჯრედში ციტოპლაზმური მემბრანის გავლით კუდის ღერძის შეჭრას. ამის შემდგომ ადგილი აქვს უჯრედის ციტოპლაზმაში ვირუსული დნმ-ის მაკრომოლეკულის (20 ნმ) სწრაფ გადასვლას ძაფის ფორმის სახით (ელექტროსტატიკური ძალების გავლენით). აღსანიშნავია, რომ ბაქტერიულ ციტოპლაზმაში შედის მხოლოდ ფაგის ნუკლეინის მჟავა, ხოლო კაფსიდის ცილები რჩება გარეთ. ფაგი ϕX174-ის ერთძაფიანი დნმ, ასევე ძაფისებური ფაგების (fd) დნმ უჯრედში შედის კაფსიდის ცილასთან ერთად [6].

<u>ფაგის რეპროდუქცია</u> -ვირუსული ნუკლეინის მჟავებისა და კაფსიდის <u>ცილების სინ</u>თეზი. ბაქტერიულ უჯრედში შედის ფაგის დნმ და შემდეგ „ქრება“, გადადის ე.წ. ლატენტურ მდგომარეობაში. ამ დროს ფაგის ნაწილაკების არმოჩენა უჯრედში შეუძლებელია. დროის მინიმალური პერიოდი, რომელიც საჭიროა უჯრედში პირველი მომწიფებული ნაწილკის წარმოქმნისრვის (განსხვავებული სხვადასხვა ფაგებისათვის) ეწოდება ფარულ პერიოდად - ეკლიპსად [3, 4].

ბაქტერიული ვირუსის უჯრედშიდა განვითარება ხორციელდება თანმიმდევრული ექსპრესიით, თადვდაპირველად ადრელი, ხოლო შემდგომ გვიანი გენებისა. ვირუსი იწყებს უჯრედის გენეტიკურ მართვას; ფაგის დნმ-ი თრგუნაც უჯრედულ სინთეზურ პროცესებს და იწვევს ვირუსოსპეციფიური ნაწილაკების სინთეზის ინდუცირებას. ადგილი აქვს ფაგების ცილების სინტეზსა და ნუკლეინის მჟავების რეპლიკაციას. [4, 5, 6].

<u>ფაგის ცილების სინტეზი</u> - უჯრედული რნმ პოლიმერაზა ახდენს ვირუსული დნმ-ის ტრანკსრიფციას მ-რნმ-ში, რომელიც ბაქტერიული რიბოსომებით ტრანსლირდება ფაგის ადრეულ ცილებთან: ვირუსულ რნმ-პოლიმერაზად და ცილებად, რომლების სხვადასხვა მექანიზმების მეშვეობით თრგუნავს ბაქტრიული გენების ექსპრესიას. ვირუსული რნმ-პოლიმერაზა განაპირობებს ფაგის „გვიანი“ ცილების ტრანსკრიფციას (მაგალითად, გარსის ცილების და ენდოლიზინის), რომელიც აუცილებელია ფაგის შთამომავლობის მორფოგენეზისათვის (ზოგიერთი ბაქტერიული ვირუსო შლის პატრონ უჯრედის ქრომოსომებს ნუკლეოტიდებამდე, რათა გამოიყენს ისინი საკუთარი ნუკლეინის მჟავის სინტეზისათვის).

<u>ნუკლეინის მჟავების რეპლიკაცია</u> ხორციელდება კვლავ სინტეზირებული ვირუსულუ დნმ-პოლიმერაზას საშუალებით, რომელიც აწარმოებს ვირუსული ნუკლეინის მჟავების მრავლობით ასლებს.

ვირუსული დნმ-ის სპეციფიური აფინული უბნები იწვევს ფაგების თავების წინამორბედების თავმოყრის ინდუცირებას ნუკლეინის მჟავების აგრეგატების ირგვლივ. ფაგის ოჯახების უმრავლესობაში ამ სტადიაზე ხდება ნუკლეინის მჟავების შესვლა შექმნილ კაფსიდში და დნმ-ის შემცველი ფაგის თავების წარმოქმნა. დანარჩენ ფაგებში ნუკლეინის მჟავების გარშემო ხორციელდება კაფსიდის კონსტრუკცია. შევსებული თავები შემდგომ ურთიერთქმედებს კუდის ნაწილებთან - წარმოიქმნება ფუნქციონალური ფაგი. ახალი ფაგების თავმოყრას უჯრედში ეწოდება ფაგის მომწიფება. ფაგის ინექციიდან ფაგების ახალი შთამომავლობის გამოტავისუფლებამდე დროის ინტერვალს ეწოდება ლატენტური პერიოდი [1, 10]. ლატენტური პერიოდი დამოკიდებულია მასპინძლის ფიზიოლოგიაზე და მერყეობს 20 წთ-დან 30-40 სთ-დე [10].

ლატენტური პერიოდის დასრულების შემდგომ ადგილი აქვს ინფიცირებული ბაქტერიული უჯრედის ლიზისს და ფაგის შთამომავლობის, ახალი შვილეული პოპულაციების გამოთავისუფლებას.

<u>ფაგის შვილეული პოპულაციის გამონთავისუფლება.</u>

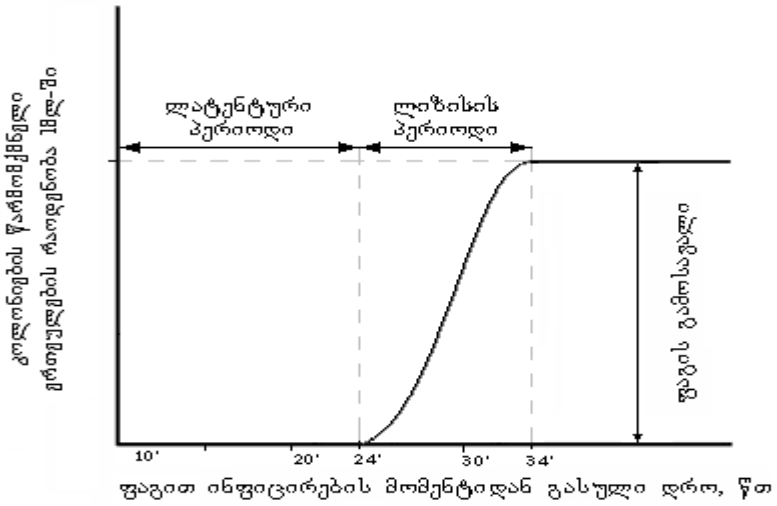
ფაგის შთამომავლობის წარმოქმნის შემდეგ (10-200 ნაწილაკი ერთი ინფიცირებული უჯრედიდან) ხდება პატრონ-უჯრედის ლიზისი და ვირუსის შვილეული პოპულაციის გამონთავისუფლება. ფაგის დაინფიცირებული ბაქტერიების ლიზისში მონაწილეობს სხვადასხვა ფაქტორი: ფაგის ლიზოციმი, უჯრედშიდა წნევის მომატება, აუტოლიზინები. როგორც ჩანს, ბაქტერიული ვირუსი იწვევს აუტოლიზინების წარმოქმნის სტულულაციას, რადგან ახდენს მექანიზმების ბლოკირებას, რომლებიც არეგულირებენ მათ სინთეზს. სხვადასხვა ფაგის შვილეულ პოპულაციებში ვირიონების რაოდენობა მეტ-ნაკლებად მუდმივია და იწოდება, როგორც ფაგის მოსავლიანობა, ანუ ფაგის გამოსავალი.

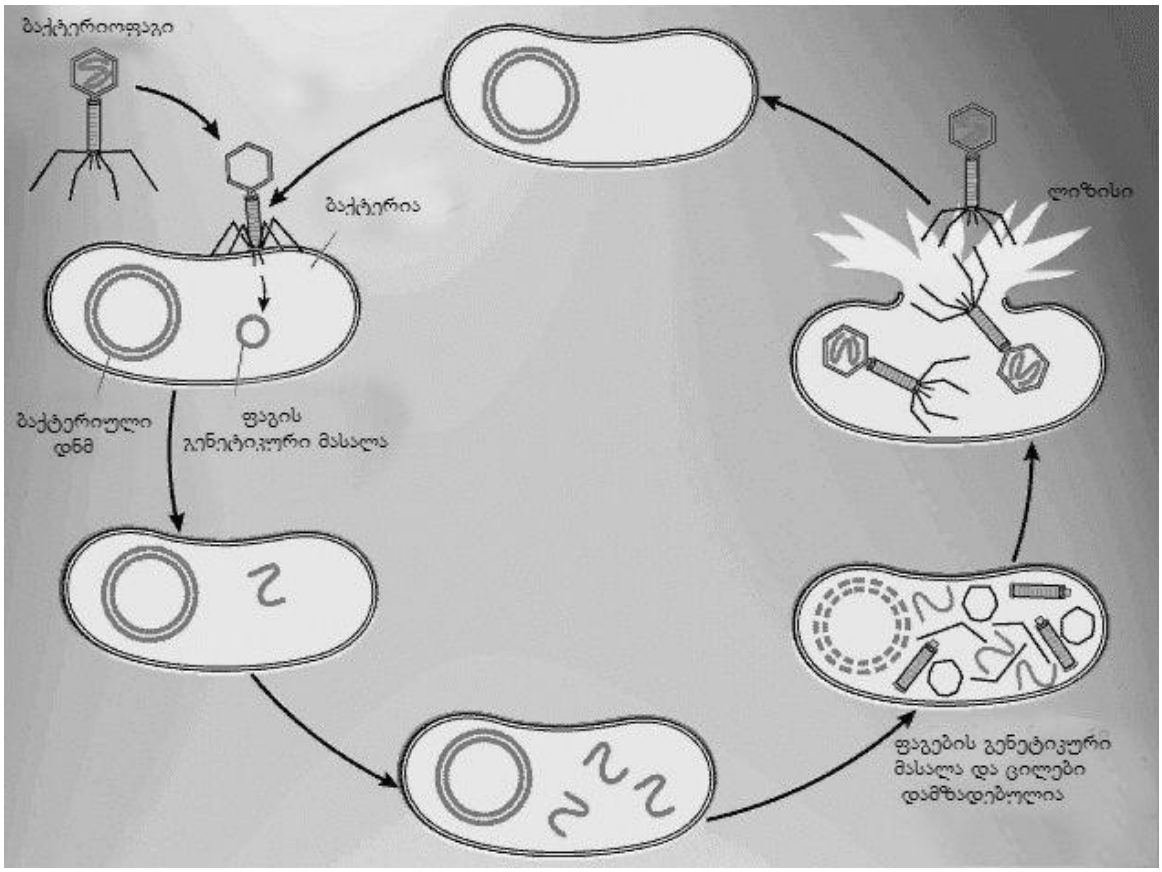
მყარ საკვებ ნიადაგზე, რომელზეც ბაქტერიული უჯრედები „გაზონის“ სახით არის გათესილი, ბაქტერიოფაგის გამრავლებას თან ახლავს ბაქტერიების ლიზისი და გამჭირვალე ზონების ე.წ. „სტერილური ლაქები“-ს ანუ ბაქტერიოფაგების „ნეგატიური კოლონიების“ წარმოქმნა. აღსანიშნავია, რომ სხვადასხვა ფაგების მკაცრად განსაზღვრული ზომებისა და ფორმის ნეგატიური კოლონიები ახასიათებს (მაგალითად, ვარსკვლავის ფორმის ნეგატირური კოლონიები დამახასიატებელია დიზენტირიის ფაგებისათვის).

ბაქტერიოფაგების განვითარების ლიზისური ციკლის შესწავლის თვალსაჩინო მაგალითია ელისისა და დელბრიუკის მიერ მოწოდებული ფაგის გამრავლების ერთჯერადი ციკლის ცდა. ერთჯერადი ციკლის შესწავლის მეთოდიკა საშუალებას იძლევა განისაზღვროს ბაქტერიული ვირუსის ორი მნიშვნელოვანი დამახასიათებელი : **1**. ფაგის უჯრედშიდა გამრავლების ლატენტური პერიოდი და **2**. ბაქტერიოფაგის გამოსავალი - ფაგის ნაწილაკების საშუალო „მოსავალი“ ერთ ინფიცირებული პატრონ-უჯრედიდან.

ფაგის გამრავლების ერთჯერადი ციკლის შესწავლის კლასიკური მაგალითს წარმოადგენს T4 ფაგის E.coli - ის უჯრედზე გამრავლების ერთჯერადი ციკლის მრუდი (იხ. გრაფიკი №1) და ასევე ნახ.№6 ნაჩვენებია ფაგის გამრავლების ციკლი.

გრაფიკი №1. T4 ფაგის გამრავლების ერთჯერადი ციკლის მრუდი





ნახ.№6

როგორც გრაფიკი №1 ჩანს, ფაგის უჯრედის ინფიცირებიდან 24 წთ-ის განმავლობაში ნეგატიური კოლონიების წარმოქმნელი ერთეულების რაოდენობა უცვლელი რჩება. ეს საწყისი დროის ინტერვალი, რომლის განმავლობაში არ ხდება ტიტრის ზრდა, იწოდება ლატენტურ პერიოდად. 24წთ-ის შემდგომ ნეგატიური კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულების რიცხვი კულტურაში იწყებს სწრაფ მატებას, რაც გრძელდება 10 წუთის განმავლობაში, რომლის შემდგომ ინფექციურობის მატება აღარ აღინიშნება. დროის ინტერვალი, რომლის განმავლობაში ადგილი აქვს ნეგატიური კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულების რიცხობრივ მატებას, ეწოდება ლიზისის პერიოდი. ფაგის საბოლოო ტიტრის საწყის ტიტრთან შეფარდებას ფაგის გამოსავალს უწოდებენ [5].

2.3ფაგის გამოყენება სხვადასხვა ინფექციური

დაავადებების მკურნალობისა და პრევენციისთვის.

მედიცინაში, სხვადასხვა ბაქტერიული ეტიოლოგიის ინფექციური დაავადებების პრევენციისა და მკურნალობის მიზნით ანტობიოტიკების ფართომასშტაბიანმა, მკაცრი მონიტორინგის გარეშე გამოყენება განაპირობა მულტირეზისტენტული ბაქტერიული შტამების წარმოშობა და მათი საყოველთაო გავრცელება, რაც ლოგიკური შედეგია მიკრობების გენვითარების ევოლუციური პროცესის. ამასთან დაკავშირებით, უკანასკნელ ათწლეულებში კვლავ გაცოცხლდა ფაგოთერაპიის, როგორც ანტიბიოტიკოტერაპიის ალტერნატიული საშუალების იდეა.

ფაგოთერაპია აღმოცენდა ბაქტერიოფაგების აღმოჩენისთანავე და წარმატებულად გამოიყონებოდა ზოგიერთ ქვეყანაში, მათ შორის საქართველოში. ანტიბიოტიკების ერის დადგომისთანავე ფაგოტერაპია დასავლეთში მივიწყებული იქნა, მაგრამ 1980–იანი წლებიდან სიცოცხლისთვის საშიში, ანტიბიოტიკრეზოსტენტული ბაქტერიული ინფექციების მატებამ და გავრცელებამ, ასევე მათი ახალი ფორმების წარმოქმნის შესაძლებლობამ ახლებურად გააშუქა ბაქტერიფაგების გამოყენების პერსპექტივა, როგორც აქნტიბიოტიკების ალტერმატიული საშუალებისა სხვადასხვა ბაქტერიული ინფეციების მკურნალობისა და პროფილაკტიკისათვის. დღეისათვის დასავლეთში ნამდვილი ბუმია ამ მიმართულებით, იქმნება ფაგოთერაპიული კომპანიები, ტარდება ბაქტერიოფაგების აქტიური რეკლამირება.

ფაგების მრავალწლიანმა შესწავლამ გამოავლინა რიგი მნიშვნელოვანი ფაქტორები, რომლებიც განსაზღვრავს მათ უპირატესობას ანტიბიოტიკებთან შედარებით. ბაქტერიული ვირუსები წარმოადგენს ბაქტერიების ბუნებრივ ანტიგონისტებს. ფაგის პრეპარატები უვნებელია, არ იწვევს ალერგიულ და სხვა სახის უკუჩვენებებს, არ არღვევს ნაწლავის ბიოკოცენოზს, პრეპარატებს არ გააჩნია ციტოტოქსიური მოქმედება, არ ახდენს გავლენას ორგანმიზმის მეტაბოლიზმზე,

არ ტვირთავს ორგანიზმს თავისი მეტაბოლიზმის პროდუქტების გაუვნებეყოფითა და გამოყოფით, რაც დამახასიათებელია ქიმიური ბუნების მქონე ანტიობაქტერილი პრეპარატებისათვის. ამასთამნავე აღსანიშნავია, რომ უკანასკნელი 30 წლის განმავლობაში ანტიბიოტიკების ახალი კლასის აღმოჩენას ადგილი არ ჰქონია. ფარმაცევტული კომპანიები ძირითადად აწარმოებს ანტიბიოტიკების უკვე ცნობილი კლასების სახეშეცვლილ ახალ პროდუქტებს. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემების თანახმად განვითარებულ ქვეყნებში ინფექციური დაავადებით მილიონობით ადამიანი იღუპება ყოველწლიურად. ამ სნეულებათა ეტიოლოგიაში წამყვანი როლი ეკუთვნის ანტიბიოტიკორეზისტენტულ მიკროორგანიზმებს. ამიტომ დღეისათვის მთელი მსოფლიოს მედიკოსების ყურადღებას იწვევს ბიოლოგიური, ეფექტური უვნებელი პრეპარატები- ბაქტერიოფაგები, როგორც ანტიბიოტიკის ალტერნატიული საშუალება.

ბაქტერიოფაგების "ბაქტერიების მშთანთმელის" აღმოჩენისთანავე 1917 წ. დერელის მიერ მოწოდებული იყო ჰიპოთეზა მათი ბაქტერიული დაავადებების სამკურნალოდ გამოყენების შესახებ. 1918 წ. დერელის მიერ გამოქვეყნებულ სტატიაში გამოთქმული იყო აზრი ბაქტერიოფაგების წარმატებული გამოყენების შესახებ დიზენტერიით დაავადებულ ავადმყოფებში და ბაქტერიოფაგებით გამოწვეული შემდგომი უმუნიტეტის განვითარების შესახებ.

1921წ. ბრაინოგმა და მეისინმა პირველად აღწერეს სტაფილოკოკური სტიოლოგიის კანის დაავდებების წარმატებული მკურნალობა სტაფილოკოკური ბაქტერიოფაგების გამოყენებით.

წლების განმავლობაში და დღემდე ბაქტერიოფაგის თერაპიული პრეპარატები წრამატებულად გამოიყენება ისეთი ბაქტერიული ინფექციების მკურნალობისა და პრევენციისათვის, როგორიცაა ზედაპირული და ღრმა დერმატოზები (დერმატიტები), ჭრილობათა და დამწვრობის შემდგომ განვითერბული ინფექციები, ნოზოკიმიალური ინექციები, ბატქტერიული სეფსიდები და სხვა.

არსებობს თერაპიული ბაქტერიოფაგების გამოყენების სხვადასხვა მეთოდები, რომელიც განისაზღვრება ინფექციური პროცესის სახიათით. რიგი მკვლევარების აზრით, თერაპიული ბაქტერიოფაგების გამოყენების სწორი მეთოდის შერჩევას

განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება ინფექციური დაავადებების ეფექტური მკურნალობისათვის.

ზედაპირული ინფექციების სამკურნალოდ ბაქტერიოფაგის პრეპარატები გამოიყენება ადგილობრივად-ხდება ინფიცირებული ჭრილობების ფაგებით დამუშავება, ფაგის სახვევებისა და კომპრესების გამოყენება. აბსცესების დროს ადგილი აქვთ შიგთავსის გამოსვლის შემდგომი დაზიანების კერაში ფაგის ფაგის შეყვანას და დრენაჟის დადგმას, ცნობილია ბაქტერიოფაგების გამოყენება სანთლების სახით. ფაგების კანქვეშა გამოყენების მეთოდს მიმართავენ ოსტეომელიტების, კანის ღრმა დაზიანებების დროს. კლინიცისტების აზრით, ფაგების ინტრავენური გამოყენება რეკომენდირებულია მხოლოდ სასიცოცხლო ჩვენების მიხედვით, სეფსისების დროს, იმის გათვალისწინებით რომ შესაძლებელია ტოკსიური შოკისა და შემდგომი ალერგიული რეაქციების განვითარება. განსაკუთრების აღსანიშნავია, ფაგების გამოყენების პერ-ორალური მეთოდი, რომელიც ხანგრძლივი დროის განმავლობაში წარმატებულად გამოიყენება ნაწლავური ინფექციების სამკურნალოდ. უკანასკნელ ხანებში, თითქმის საერთო აზრია, რომ პერ-ორალურად მიღებული ფაგები სწრაფად ხვდება სისხლსა და ორგანიზმის სხვადასხვა სითხეებში. აქედან გამომდინარე, ზოგიერთ შემთხვევაში შესაძლებელია მერილის დაპატენტებული მეთოდისათვის გვერდის ავლა, რომელიც ფაგების ხანგძლივი დროით სისხლსი ცირკულირებისათვის ითვალისწინებს ფაგების კაფსიდების მოდიფიკაციას. ფაგების პერ-ორალური მეთოდის გამოყენებისას საკმარისია სხვადასხვა თერაპიული ფაგების მუტაგენების სერიების გადარჩევა, რომლებმაც გაიარეს პაციენტის ორგანიზმში. კლინიცისტების დაკვირვებით ფაგის გამოყოენების ეს მეთოდი იმდენად ეფექტურია, რომ შესაძლებელია სასიცოცხლო ჩვენების მიხედვით ინტრავენური მეთოდის პერ-ორალური მეთოდით ჩანაცვლება.

ლიტერატურაში არსებობს მრავალი მონაცემი. რომლებიც ადასტურებს ბაქტერიოფაგების ეფექტურ გამოყენებას თერაპიული მიზნით, სხვადასხვა ეტიოლოგიის ბაქტერიული ინფექციების დროს.

1947წ. კოკინსმა აღწერა ჯარისკაცებში აიროვანი განგრენის სამკურნალოდ staphylococcus და streptococcus ანაერობული ფაგების წარმატებული გამოყენება. 767 შემთხვევიდან მხოლოდ 18.8% დამთავრდა ლეტალურად. საკონტროლო

ჯგუფში, სადაც არ იქნა გაოყენებული ბაქტერიოფაგები და გამოიყენებოდა ქიმიური სამკურნალო პრეპარატები, სივდილიანობამ შეადგინა 42.2%.

ბაქტერიოფაგები ეფექტურად გამოიყენებოდა ინტესტინალური ინფექციების სამკურნალოდ. ქრონიკული დიზენტერიით დაავადებული პაციენტის ფაგით მკურნალობის წარმატებული შედეგები შესწავლილ იქნა ვლასოვის და არტემენკოს მიერ. “ფაგი-ვაქცინა”-ს კომბინირებული პრეპარატის მშრალი აბებით მკურნალობის შემდეგ პაციენტების 86.7% სრულიად გამოჯანმრთელდა.

ჩირქოვან-ანთებითი დაავადებების სამკურნალოდ კომბინირებული ფაგების ეფექტური გამოყენების შესახებ მრავალი მონაცემი არსებობს. 1967-1972 წლებში სხვადასხვა ანთებითი პროცესოს (პერიტონიტის, ოსტეომიელიტი, ფილტვების აბსცესი, ბრონქოექტაზია და სხვა) გამომწვევი ანტიბიოტიკორეზოსტენტული შტამების მიმართ კომბინირებული ფაგების – დიფაგის (სტაფილო-პროტეუსი-კოლი-ფსევდომონა) კლინიკაში გამოყენების შედეგად სტაფილოკოკუყრი ინფექციები შემცირდა-97% -ით, პროტეუსთ გამოწვეული ინფექციები- 86 % -ით ხოლო სტრეპტოკოკური ინფექციები-98% -ით, რაც შეეხება შერეული ფორმის ინფექციებს ისინი საერთოდ აღარ აღინიშნებოდა ფაგოთერაპიის შემდეგ.
სლოპეკის და მისი თანაავტორების მონაცემებით ქრონიკული ჩირქოვანი ინფექციების დროს თერაპიული ბაქტერიოფაგების გამოყენების შედეგად პაციენტების გამოჯანმრთელება აღინიშნებოდა-93.5 %.

ე.ვ.არმაკოვი და თანაავტირები აღწერენ მწვავე და გახანგრძლივებული პნევმონიების ეფექტურ მკურნალობას სტაფილოკოკური, სტრეპტოკოკური, ნაწლავის და ლურჯ მწვანე ჩხირების , პროტეუსის სპეციფიური თერაპიული ბაქტერიოფაგების საშუალებით.

პროსკუროვის მონაცემების მიხედვით ქოლეცისტიტების, ენტეროკოლიტების, პერიტონიტების დამწვრობითი და ჭრილობათა ინფექციების დროს თერაპიული სტაფილოფაგის გამოყენებისას 148 ავადმყოფიდან გამოჯანმრთელება აღინიშნებოდა 81%-ში.

აღსანიშნავია, მრავლობითი ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მქონე P.aeruginosa-s სპეციფიური, პოლივალენტური ფსევდომონადური ფაგის სამკურნალო–პროფილაქტიკური პრეპარატის გამოყენება ქირურგიული ინფექციების დროს. ფსევდომონადური ფაგის თერაპიული ეფექტი 67.1% -88% შეადგენდა.

ლიტერატურულ წყაროებზე დაყრდნობით, პოლივალენტური სამკურნალო ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგი საკმაოდ წარმატებულად გამოიყენებოდა ტრამვატოლოგიაში. არსებობს კლინიკური მონაცემები, რომლებიც ადასტურებს თერაპიული ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგების ეფექტურ გამოყენებას დამწვრობითი ინფექციების დროს.

მრავლაწლიანი გამოკვლევების საფუძველზე დადგენილი იქნა, რომ დიზენტერიის ერთადერთ პროფილაქტიკურ საშუალებას წარმოადგენდა დიზენტერიის მშრალი ბაქტერიოფაგი. დიზენტერიის მშრალი ბაქტერიოფაგის პროფილაქტიკური მიზნით მასობრივი გამოყენებისას, დიზენტერიით დაავადების შემთხვევები შემცირდა 73,7 %-ით.

არსებობს მრავალი ლიტერატურული მონაცემი, რომელიც ადასტურებს მუცლის ტიფის გავრცელების კერებში ბაქტერიოფაგების ეფექტურ გამოყენებას პროფილაქტიკური მიზნით. 1965-1967 წლებში ჩატარებული ეპიდემიოლოგიური კვლევების მასალებზე დაყრდნობით დაავადებები აღინიშნებოდა მხოლოდ 0.67%-ით.

მნიშვნელოვანია. რომ რიგი ეპიდემიოლოგიური კვლევების პროცესში ბაქტერიოფაგები წარმოადგენს რა ეკოსისტემის განუყოფელ ნაწილს, ახდენს მარეგულირებელ გავლენა ბაქტერიების სახეობროივ და რაოდენობრივ შემადგენლობაზე ბიოცენოზში.

ბაქტერიოფაგების მაღალი სპეციფიურობა განსაზღვრავს მათ პრაქტიკულ გამოყენებას ბაქტერიების იდენტიფიკაციისათვის და მათი ინდიკაციისათვის გარემოში. ეპიდემიოლოგიური კვლევებისათვის ფართოდ გამოიყენებოდა ბაქტერიების ფაგოტიპირება მათი სახეობის შიდა დიფერენცირება ფაგოტიპის (ფაგოვარის) დასადგენად-ეს მეთოდი ინფექციის გამოწვევის ზუსტი დიაგნოსტიკის და ინფექციის წყაროს დადგენის შესაძლებლობას იძლევა.

ბაქტერიოფაგების თერაპიული პრეპარატების სამკურნალო-პროფილაქტიკური მიზნით ეფექტური გამოყენების მრავალწლიანი პრაქტიკული მონაცემების საფუძველზე, ლოგიკურია ის ინტერესი, რასაც მსოფლიო მედიკოსები იჩენენ ფაგოთერაპიის, როგორც ანტიბიოტიკოთერაპიის ალტერნატიული საშუალებების მიმართ. სხვადასხვა ეტიოლოგიის ინფექციური დაავადებების პროფილაქტიკისა და პრევენციისათვის.

დღეისათვის ძალზედ მნიშვნელოვანია პოლონელი მეცნიერების კვლევების შედეგები, რომლებიც ფაგების სამკურნალო თვისებების პარალელურად სწავლობენ ფაგი ეუკარიოტულ უჯრედებთან შესაძლო ურთიერთობებს, მათი ანტიკანცეროგენული თვისებების შესწავლისას, დადგენილი იქნა ფაგების მიერ მეტასტაზების დათრგუნვის უნარი ადგილობრივი სიმსივნეების დროს. პოლონელი მეცნიერების მიერ მიღებული იქნა T4 ფაგის მუტანტი-HAPI რომელსაც გააჩნია უნარი შებოჭოს სიმსივნური უჯრედები. ფაგის ეს მუტანტი იწვევს მელანომას მეტასტაზების შემცირებას 80%-ით.

არსებობს სარწმუნო მონაცემენი იმის შესახებ, რომ ფაგებს შეუძლია შეწყვიტოს პათოგენური ვირუსების მოქმედება. პოლონელი მეცნიერების მიერ ჩატარებული ექპერიმენტებით დადგენილი იქნა, რომ ფაგის ზოგიერთი ცილები ავლენს იმუნომოდულატორულ მოქმედებას. ფაგ T4-ს პროტეინ gp24-ში არსებულ ამინომჟავების თანმიმდევრობა [Lys- Gly-Arg] ასრულებს ლიგანდის როლს β-3-ინტერგინისათვის და პასუხიმგებელია ფაგის ურთიერთქმედებისა T ლიმფოციტებთან და თრომბოციტებთან. ასევე, Hoc პროტეინი (ვირუსის მაღალ იმუნოგენური გარეთა კაფსულა), რომელიც მოთავსებულია T4 ფაგის თავში, ხასიათდება იმუნომოდულატორული თვისებებით.

პოლონელი მეცნიერების მიერ ჩატარებული კვლევების თანახმად, ფაგები ავლენს იმუნოდეპრესიული მოქმედების უნარს, ახდენს რა ანტიგენის საპასუხოდ ანტისხეულების სინთეზის, T- უჯრედების აქტივაციის, ციტოტოქსინის სინთეზის ინჰიბირებას.

კვლევის ახალი მონაცემები მიუთითებს იმაზე, რომ ფაგები პათოგენური ბაქტერიების და ედოტოქსინების ზემოქმედების საპასუხოდ ახდენს ფაგოციტებიდან წყალბადის რეაქტიული სახეობის გამონთავისუფლების დათრგუნვას, რასაც ენიჭება კლინიკური მნიშვნელობა და ხსნის სეფსისების დროს ფაგით ეფექტურ მკურნალობას. კვლევების შედეგები განსაზღვრავს ენდოგენური ფაგების მიერ ორგანიზმის დაცვას შინაგანი და გარეგანი პათოგენებისაგან

ნაწილი II

ექსპერიმენტალური ნაწილი

თავი I

მასალები

1.1 ფერმენტორში ბაქტერიოფაგის გამრავლებისთვის დაგვჭირდება ბაქტერია E. Coli C ღამის კულტურა, გაზრდილი LB-ს თხევად ნიადაგზე, ფაგი T5, დისტილირებული წყალი, კელენბერგერის ხსნარი, ქრომოფორმის ხსნარი.

1.2 კალონკაზე გაწმენდისთვის დაგვჭირდება DEAE-cellulose, 0.5 M NaOH, 0.5 M NaCl, ეთანოლის სპირტი 96%, დისტილირებული წყალი.

თავი II.

საკუთარი გამოკვლევები.

I. **ფერმენტორი.** ფაგების გამრავლება როგორც ზემოთ ავგნიშნე ხორციელდება **ფერმენტორში**. ფერმეტორი წამოადგენს ცილინდრს, რომელშიც საკვებ არეში მრავლდება ბაქტერია და ფაგი. მასზე დაყენებულია გამაცხელებელი ელემენტები, რომლებიც შეერთებულია ტერმორეგულატორთან და ჩვენ შეგვიძლია ტემპერატურის მუდმივობის შენარჩუნება. ამის გარდა, ფერმენტორს მუდმივად მიეწოდება სტერილური ჰაერის ნაკადი ელექტრო ნასოსის მეშვეობით. ყველაზე მთავარი და ყველაზე ძნელი ფერმენტორთან მუშაობისას არის სტერილურობა!!! ეს ამოცანა აღმოჩნდა საკმაოდ რთული და მაგ მიზეზის გამო ჩვენ ჩაგვეშალა რამოდენიმე ცდა, რადგან ჰაერთან ერთად ფერმენტორში აღწევდნენ

არასასურველი მფრინავი ფაგები (T1, T3) და ჩვენ ფიზიკურად ვერ ვახერხებდით ბაკტერიების გაზრდას, დროზე ადრე გვეხოცებოდნენ. მაშ ასე იმის მერე რაც სათანადოდ გავასტერილედ ყველა ეს დანადგარი,

ნახ.7

შეგვიძლია შევუდგეთ საქმეს.

ექსპერიმენტის ჩატარებამდე ერთი დღით ადრე ვავსებთ ფერმენტორს 10 ლიტრი დისტილირებული წყლით და ვადუღებთ რომ გასტელირდეს. სანამ სტერილიზაცია ხდება, ვამზადებთ კელენბერგერის ხსნარს.

კელენბერგერის ხსნარები:

1 - ლიტრზე

I. ა) $NaHPO_4$ 70 გ

ბ) KH_2PO_4 30 გ

II. ა) NH_4Cl 10 გ

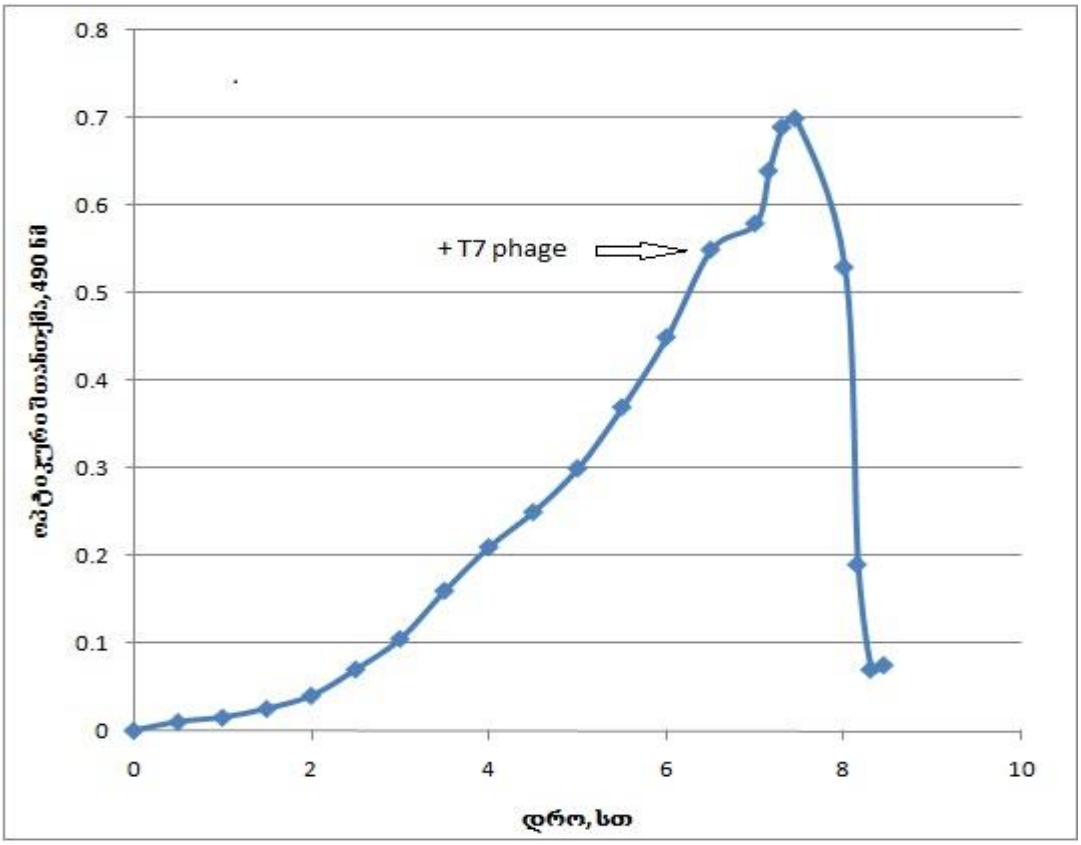
ბ) NaCl 5 გ

გ) $CaCl_2$ 0,2 გ

დ) $MgSO_4$ 0,25 გ

ე) გლუკოზა 40 გ

გაგვაჩნია კელენბერგერის ხსნარის ორი შემადგენელი, სადაც თვითოეულის მოცულობა შეადგენს 1 ლიტრს. ეს ხსნარიც აუცილებლად უნდა გასტერილდეს ავტოკლავში. შემდეგ ვთესავთ ბაკტერიას E.coli-ის (ღამის კულტურა), და წინასწარ გვაქვს ფაგი T7 3მლ , რომლის ტიტრიცაა 10^{10} ფაგი/მლ. მაშ ასე ფაგს ვათავსებთ მაცივარში და ბაკტერია იზრდება მთელი ღამის განმავლობაში თერმოსტატში. მეორე დილით ვრთავთ ფემენრორს, 10 ლიტრიდან, ჩამოვასხავთ ორ ლიტრს და ვამატებთ 2 ლიტრ კელენბერგერის ხსნარს. ველოდებით სანამ გაცხელდება 37^0C. როდესაც მივა საჭირო ტემპერატურაზე, ფერმენტორიდან ვიღებთ ანათვალს და ვათავსებთ ფეკ-ში (ფოტოელეკტრომეტრი). ამ ანათვალს ვასწორებთ ნულზე. შემდეგ ვამათებთ ბაქტერიის ღამის კულტურას (წინასწარ ვრწმუნდებით რომ ბაქტერია გაიზარდა, მღვრიე უნდა იყოს ბულიონი) ფერმენტორში. ნახევარი საათის მერე ვიღებთ ანათვალს (მეორე კიუვეტში ვასხავთ, პირველში ხსნარი გვისხია, რომელიც ნულზეა გასწორებული) და ვაკვირდებით თუ რამდენი შეიცვალა სინათლის შთანთქმა. ყოველ ნახევარ საათში ვიღებთ ანათვალს. როდესაც ნიმუშის შთანთქმა გახდება ~ 0.6 OD, ვამატებთ ფაგს და შემდეგ უკვე ყოველ 15 წუთში ვიღებთ ანათვალს. შემდექ იწყება ბაქტერიის ლიზისი და ოტიკური შთანთქმა მკვეთრად ეცემა.



გრაფიკი №2

როდესაც შთანთქმა მივიდა თავის მინიმუმამდე, გავთიშეთ ფერმენტორი და ჩამოვასხით საკვლევი მასალა ჭურჭელში სადაც წინასწარ დავამატეთ ქლოროფორმი, ის ანადგურებს დარჩენილ ბაქტერიებს (შლის უჯრედულ მემბრანას). შემდეგ ვაცენტრიფუგირებთ საკვლევ მასალას და გვრჩება 8 ლიტრი. ამის მერე შევამოწმეთ რა ტიტრის ფაგი გვქონდა და მივიღეთ $2X10^{10}$ ფაგი/მლ.

II. DEAE-ცელულოზა ამის შემდეგ უნდა გამოვყოთ ფაგი ამ სისტემიდან. ამისთვის ვიყენებთ **DEAE-ცელულოზა** -ას. DEAE-cellulose – თავისი ფუნქციონალური ჯგუფის წყალობით - დიეთილამინოეთილრური ნაშთი- სუსტი ანიოგამცვლელის თვისებებს ატარებს.

<u>DEAE-ცელულოზა -ის მომზადება.</u> DEAE-cellulose-ას ვამუშავებთ შემდეგნაირად:

1) საჭირო რაოდენობის DEAE-ცელულოზა 15 წთ განმავლობაში ირევა ხუთმაგი რაოდენობის 0.5 მ NaOH და ვტოვებტ რომ დაილექოს. შემდეგ ვახდენთ დეკანტაციას.

2) რამოდენიმე ჯერ DEAE-ცელულოზა ირეცხება დისტილირებულ წყალში სანამ pH არ გახდება 8-9. დრო რომ მოვიგოთ უკეთესი იქნება მოვახდინოთ ცენტრიფუგირება.
3) გამორეცხილი DEAE-ცელულოზა ირევა სამმაგ რაოდენობასთან 96% ეთანოლის სპირთთან, ილექება, და ნალექის ზედა სითხე ვუკეტებთ დეკანტაციას.
4) შემდეგ ისევ ვამუშავებთ 0.5 მ NaOH
5) ცელულოზას ვამუშავებთ დისტილირებული წყლით ნეიტრალურ რეაქციამდე ცენტრიფუგირების საშუალებით.

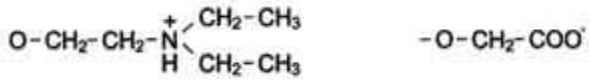
ეგეთი გზით დამუშავებული DEAE-ცელულოზა შეგვიძლია შევინახოთ წყლოვან სუსპენზიის სახით 4^0C. ოთახის ტემპერატურაზე შენახვა სასურველი არ არის, მიკრობული ინფიცირების გამო.

როცა DEAE-ცელულოზა სათანადოდ მზად არის, მას ვათავსებთ კალონკაში და მერე მასზე ვატარებთ ფერმენტორიდან მიღებულ ლიზატს. ოპტიმალური სიჩქარე არის 20-30 მლ/სთ.

ესეიგი რატომ ვიყენებთ მაინც და მაინც DEAE-ცელულოზა? როგორც ვიცით ბაქტერიოფაგის კაპსიდი შედგება ცილებისგან. მაგიტო არის რომ ფაგის თავი უარყოფითად არის დამუხტული, DEAE-ცელულოზა-ას ფუნქციონალური ჯგუფი კი პირიქით, დადებითათაა დამუხტული. მაგიტომ ხდება რო DEAE-ცელულოზა-ზე გვრჩება მხოლოდ ფაგები და დანარჩენი ყველაფერი გადის კალონკიდან.

სურ. №8

სურათ №8-ზე ნაჩვენებია ფაგის გაწმენდა DEAE-ცელულოზა-ზე სვეტში.



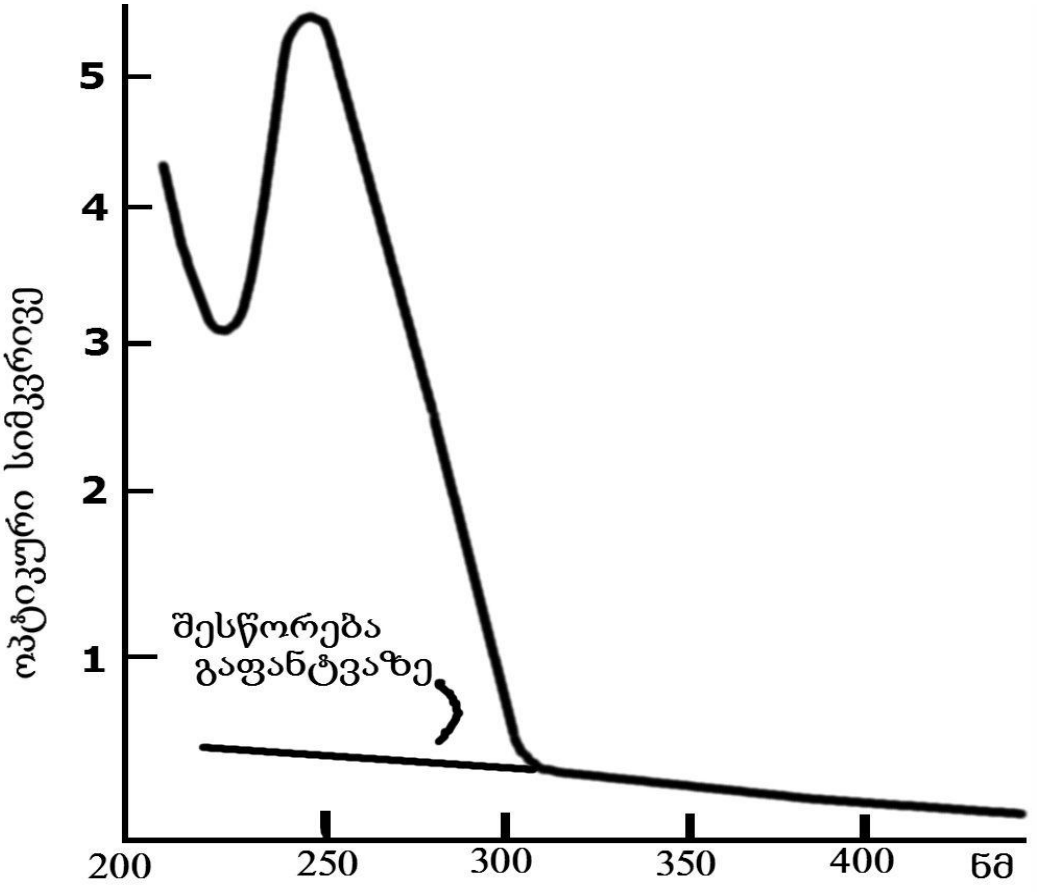
სურ. №9

სურ. №9 ნაჩვენებია ცელულოზას აქტიური ჯგუფები რომლებიც იკავებენ ფაგის კაპსიდის ცილებს. იმის შემდეგ რაც კალონკაზე გავატარებ მთელ ხსნარს, უნდა მოვახდინოთ ფაგის ელუირება. ეს მოხერხდა NaCI-ის დამატებით კალონკაში. CI-ის იონები უერთდება ცელულოზაც ფუნქციონალურ ჯგუფს და განდევნის ფაგის ცილის კარბოკსილურ ჯგუფს. ასე ფაგი ჩამოირეცხება ცელულოზიდან.

საბოლოოდ ვიღებთ ფაგის ხსნარს, რომლის მოცულობაც 100მლ-ია. გატიტვრის შემდეგ ვიგებთ რო ფაგის რაოდენობა $8X10^{12}$ ფაგი/მლ გაიზარდა.

III. ეხლა უნდა დავადგინოთ რამდენად სუფთაა ჩვენი მიღებული ფაგი. ამისთვის ვიყენებთ სპექტროფოტომეტრიას. სპექტროფოტომეტრის საშუალებით ვიღებთ მხოლოდ ფაგისთვის დამახასიათებელ სპეკტრს, როგორიც ნაჩვენებია

ნახ.№8-ზე



ნახ.№8

დასკვნები

1. წარმოდგენილი ტექნოლოგიური მიდგომა საშუალებას იძლევა მიღებული იყოს ბაქტერიოფაგი მაღალი ტიტრით.

2. გაკეთდა მოდიფიცირება ფრეზერის ტიპის უჟანგავი ფოლადის ფერმენტორისა, რომლის საშუალებითაც მოხდა საკმაოდ მაღალი ტიტრის T7 ფაგის მიღება დიდი რაოდენობით (10 ლიტრი - $2*10^{10}$ ნაწ/მლ), რაც მიუთითებს ფერმენტორის ეფექტურობაზე.

3. ანიონური (DEAE-ცელულოზა) გაცვლითი სვეტის გამოყენებით დაკონცენტრირდა ფერმენტორით მიღებული $2*10^{10}$ ნაწ/მლ ტიტრის ფაგის ლიზატი 100 მლ-მდე და მიღებული იქნა $8*10^{12}$ნაწ/მლ ტიტრის T7 ფაგი სუფთა სახით. მისი სისუფთავე შემოწმებული იქნა ულტრაიისფერი სპექტროფოტომეტრის გამოყენებით.

ციტირებული ლიტერატურის სია

1. **Адамс М.** (1961) Бактериофаги. «Изд. Иностранной литературы», Москва
2. **Гачечиладзе К.К., Кретова А.Ф., Беспалова А.С., Тихоненко А.С.** (1980) Особенности антигенного строения фага ФИ-1 в сравнении с некоторыми фагами Т-четной группы. Молекулярная биология, т.14, Вып.2.
3. **Крылов В.Н.** (2001) Фаготерапия с точки зрения генетики бактериофага: надежды, перспективы, проблемы безопасности, организация. Генетика, т.37, №7, с.869-887
4. **Покровский В.Н., Поздеев О.К.** (1998) Медицинская микробиология, «Геотар», Моск
5. **Стент Г.** (1965) Молекулярная биология вирусов бактерий. «Мир», Москва.
6. **Тимаков В.Д., Левашев В.С., Борисов Л.Б.** (1983) Микробиология, «Медицина», Москва.
7. **Тихоненко А.С.** (1968) Ультраструктура вирусов бактерии, Москва, «Наука»
8. **Ackerman H.W.** (1992) Bacteriophages. Enciclopedia of microbiology,. v.1. p.201-211.
9. **Ackerman H.W. and Dubow M.S.** (1987) Viruses of procaryotes, v.1, p.1-16.
10. **Ackerman H.W. and Dubow M.S.** (1987) Viruses of procaryotes, v.2, p.174, CRC Press, Boca Ration, FL.
11. **Ackerman H.W. and Bertiaume Laurenr.** (1995) Atlas of viruses diagrams. CRC Press, Boca Ration, New York, London, Tokyo.
12. **Barrow P.A, Soothill I.S.** (1997) Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assesment of potential. Trends Microbiol. 7:268-271
13. **Bordet J., Ciuca M.** (1921) Determinisme de l'autolise microbienne transmissible, CR.Soc.Biol. 84, 276.
14. **Carlton R.M.** (1999) Phage therapy: Past history and future prospects. J. Arch.Immunol.Ther.Exper. 47, 267-274.
15. **Gorski A., Hirszfeld L.** (2000) Phage therapy – adventages over antibiotics? The Lancet, 356, 1418
16. **Kutter E.** (1997) Evergreen St college, Olympia, WA, 98505 – Nov.15, Phage therapy. Bacteriophages as antibiotics.
17. **Sulakvelidze A. Alavidze Z., Geleen Morris.** (2001) Bacteriophage Therapy. J.Antimicrobial agant and chemotherapy. (ASM) v.45, N3, p.649-659..