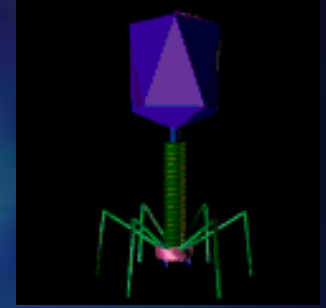


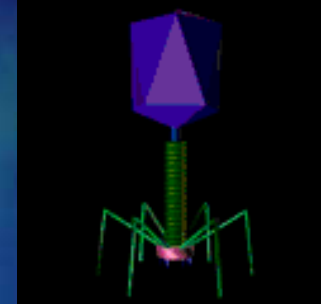
Bakteriyofajlar

Bakteriyofaj



- Bakterilerde direnç gelişiminde
- Virülens faktörlerinin aktarılmasında
- Antijenik konversiyonda

Bakteriyofaj



- Filtreleri geçebilirler.
- Profilaksi ve sağaltımda
- Hastalık etkenlerinin tanımlanmasında (anthrax, salmonellozis, brusellozis, ...)
- Rekombinant DNA teknolojisinde vektör

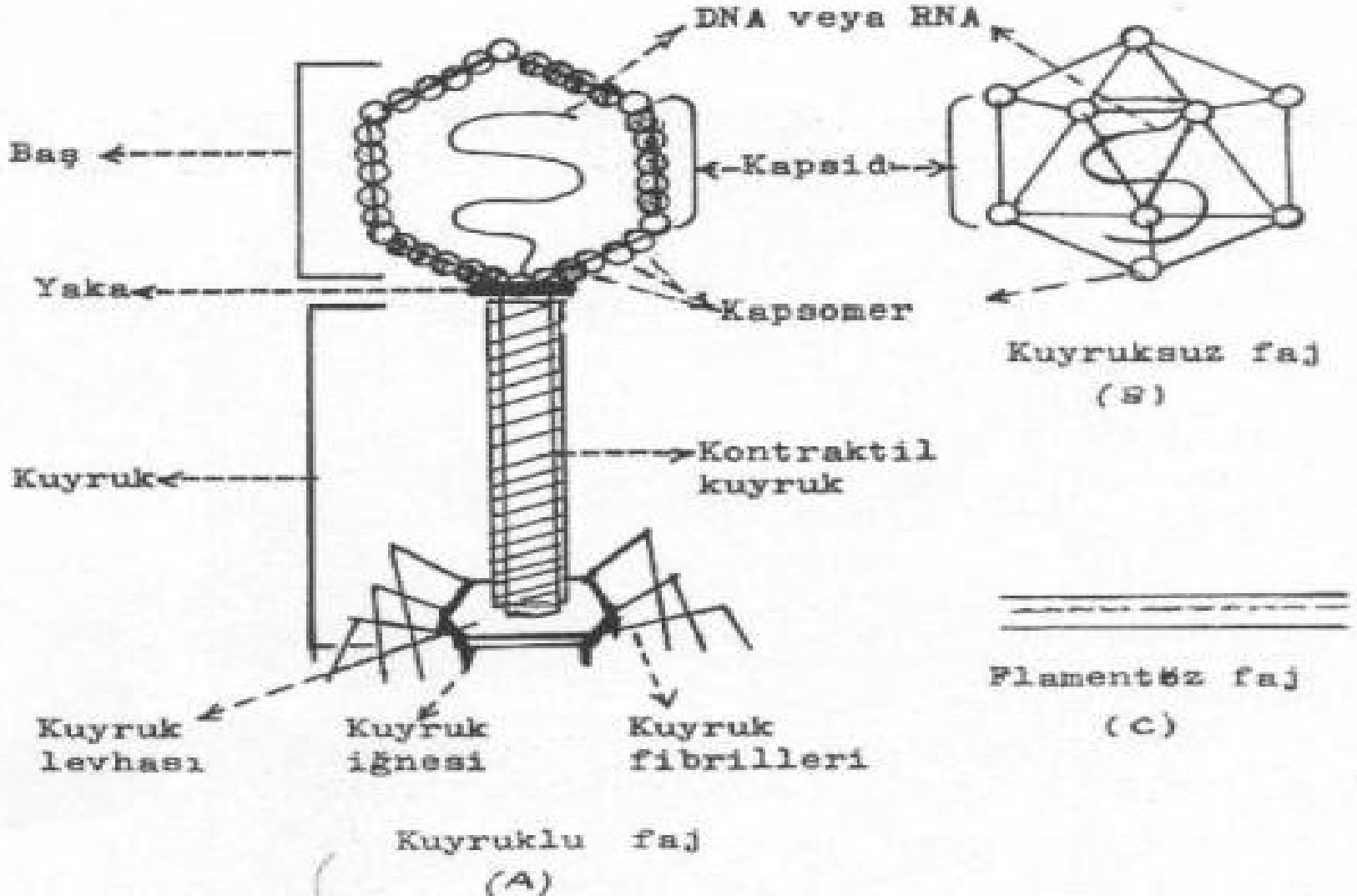
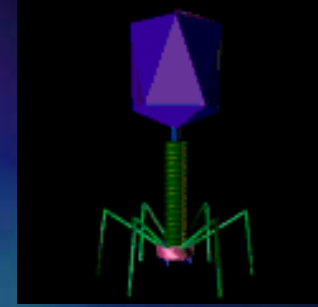
Bakteriyofaj

- *B. anthracis* kolonilerini, diğer antraks benzeri basillere (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. megatorium* vb) ait kolonilerden ayırmada kendine özgü **gama faji** bulunmaktadır. Bu faj *B. anthracis* kolonileri üzerinde erimeler ve plaklar meydana getirir.

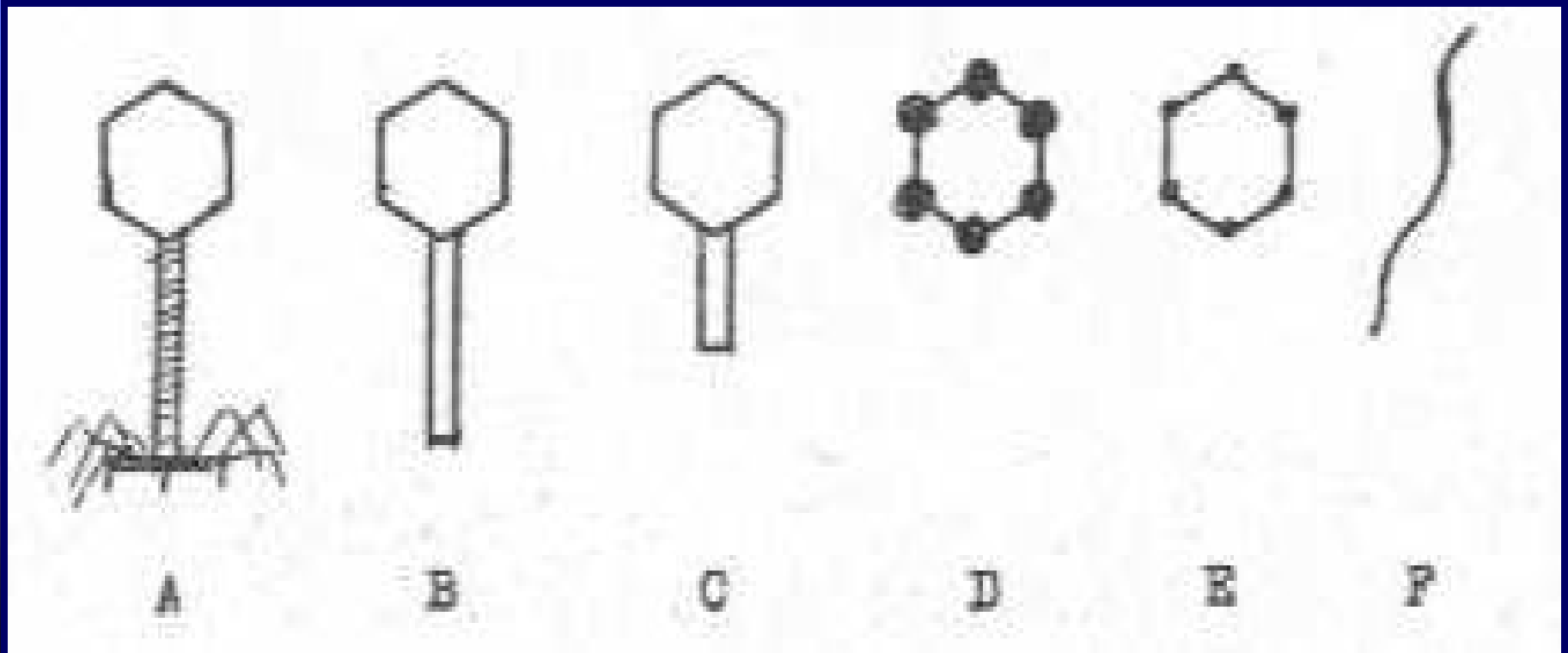
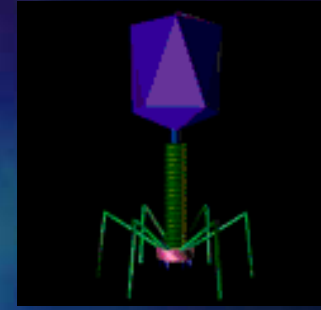
Bakteriyofaj

- Brucella genusuna ait türlerin tiplendirilmesinde bakteriyofaj duyarlılığının belirlenmesi önemli bir kriterdir.
- Üç tip fajdan yararlanılmaktadır.
- Tibilisi, Weybridge ve Berkeley fajları
- R formundaki Brucella organizmaları bu fajlarla lize olmazlar.

Morfoloji



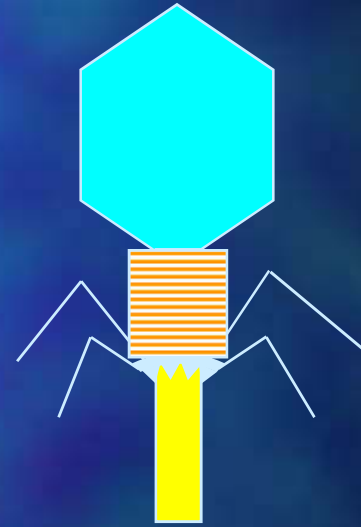
Bradley Klasifikasyonu



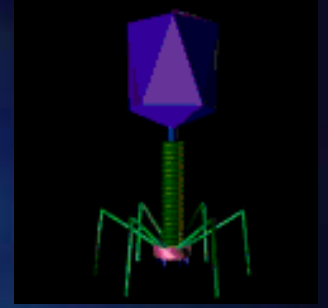
Fajların Bradley klasifikasyonuna göre morfolojik özellikleri

Fajlarla konakçı hücrelerin infeksiyonu

- **Adsorpsiyon**
 - T4 için LPS
- Yapışma geriye dönüşü olmayan şekilde (irreversible)
- Kılıf kontraksiyonu
- Nükleik asit girişi
- DNA alımı



Fajların Üremeleri



Fajların, kendi konakçılarında veya duyarlı bakterilerde üremeleri ve infeksiyon oluşturmaları başlıca 4 aşamada gerçekleştirilir.

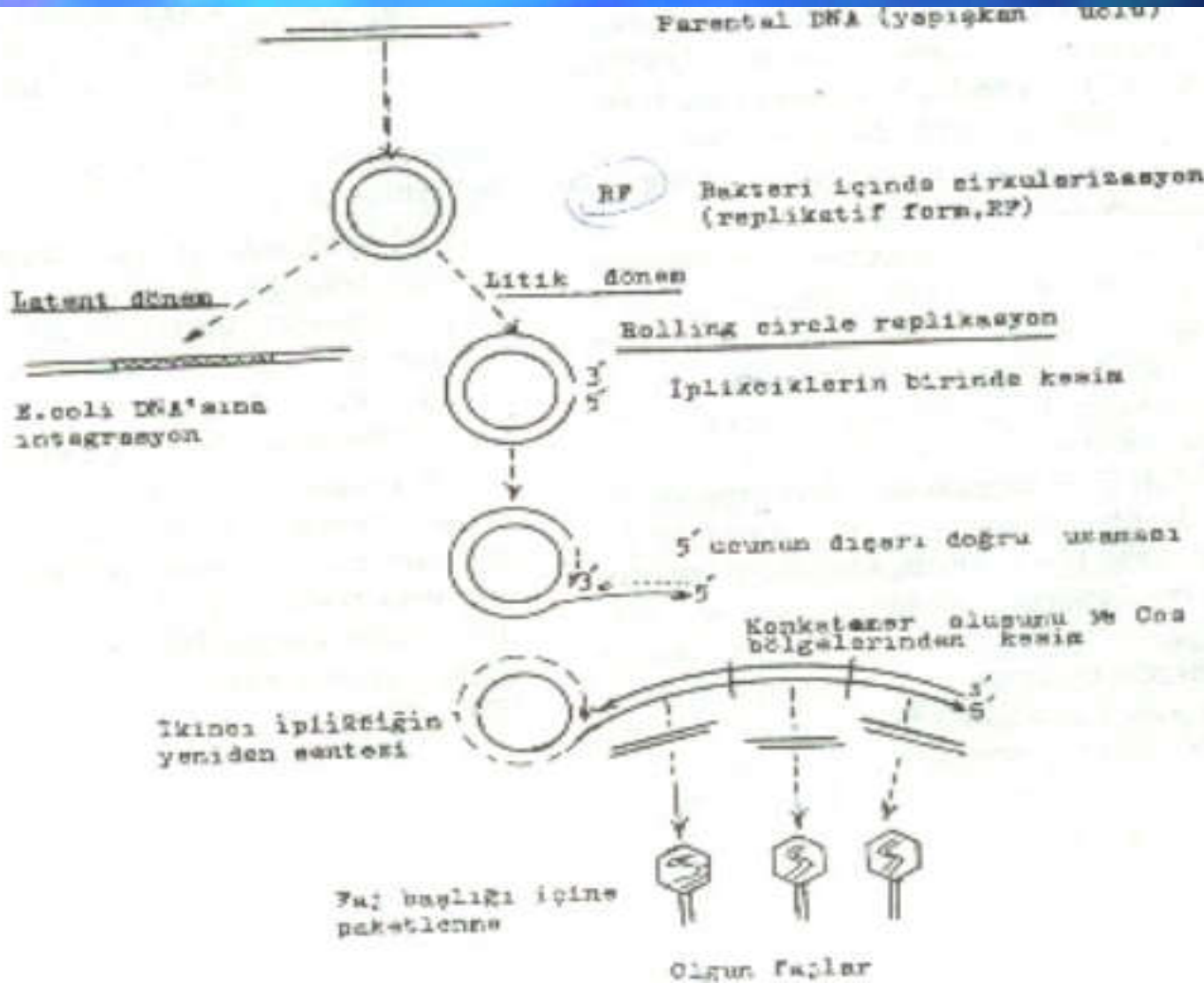
1) Adsorbsiyon

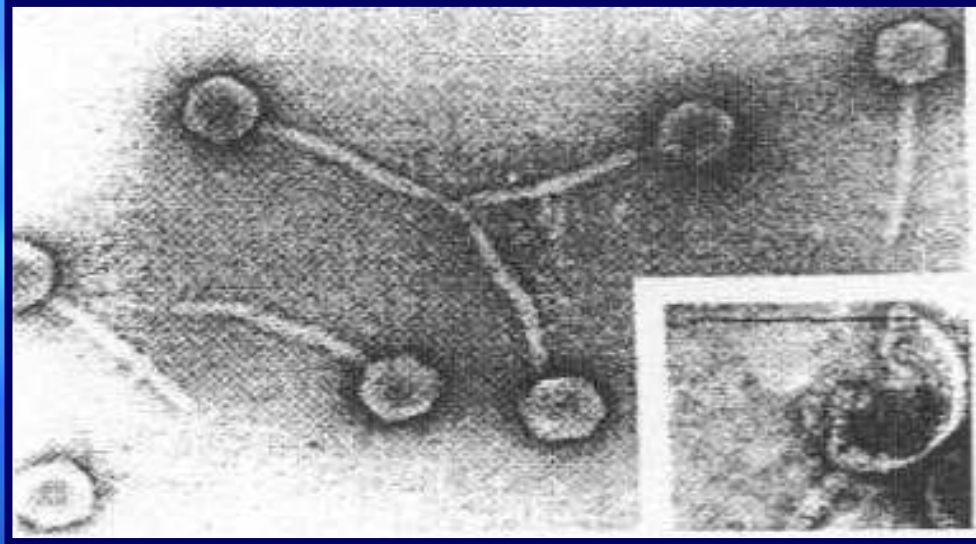
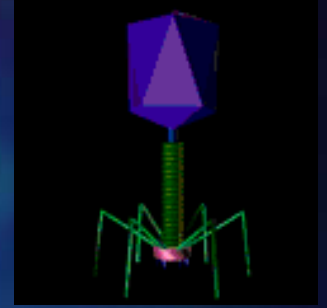
2) Penetrasyon

3) Latent dönem: eklips ve olgun virus partiküllerinin montajı

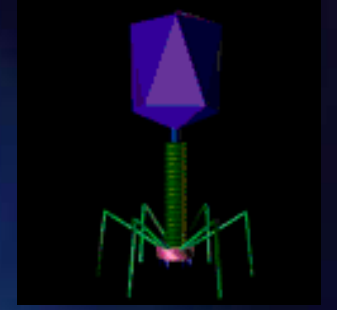
4) Lizis ve dışarı çıkış

dsDNA molekülünde replikasyon





Lambda fajının elektron mikroskopik görünümü



Lizis ve dışarı çıkış

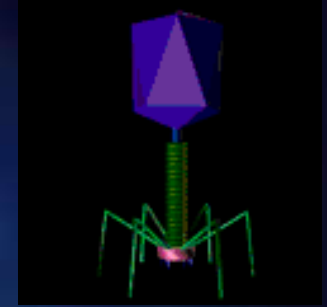
Bakteri hücresi içerisinde çoğalan fajlar bakteriyi parçalar (lizis) ve dışarı çıkar.

Olgun fajlar hücrede üredikten sonra hücre duvarından dışarı çıkarlar. Bakterilerde hiç bir değişiklik olmaz ve normal yaşamlarına devam ederler (**persistent infeksiyon**).

Lizojenik formlarda ise faj DNA'sı bakteri genomu ile, genellikle, birleşmiştir (**latent infeksiyon**).

Faj İnfeksiyon Tipleri

1) Litik infeksiyon:



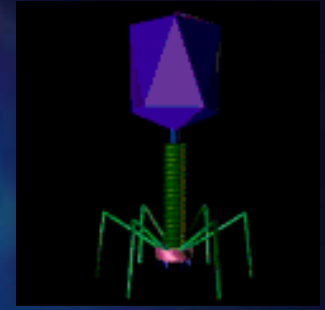
Bazı virulent fajlar (T2, T4, T7, ØX174, MS2, vs) bakterilerin katı besiyerindeki kolonilerinde üreyerek, **odaklar (plaklar)** meydana getirirler. Bunlar, fajların bakterileri parçalayarak oluşturdukları **litik odaklar veya dejenerasyon odaklarıdır**. Bu odaklar, **bir infeksiyöz faj partikülü** veya genellikle, **bir infeksiyöz ünite (plak oluşturan birçok infeksiyöz faj partikülü)** tarafından meydana getirilirler.

Litik infeksiyon

Plakların sayılması ile, orijinal suspansiyondaki plak oluşturan infeksiyöz faj partikül sayısını veya infeksiyöz üniteyi (plaque forming unite, pfu) hesaplamak mümkündür. Böylece, fajın titrasyonu yapılabilir.

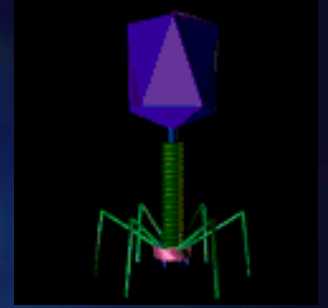
Fajlar sıvı ortamlarda üretilen bakterilerde de çoğalabilirler. Ancak, burada plaklar yerine, kültürde bir açılma berraklaşma (lisis) meydana gelir.

2) Nonlitik infeksiyon:



Fajlar hücreler içinde üremesine ve dışarı çıkmalarına karşın, konakçının beslenme ve çoğalmasında herhangi bir bozukluk gözlenmez (**temperate fajlar**).

Ancak, konakçısının her bölünmesinde faj da replike olarak bir kopyası kardeş hücreye aktarılır. Örn, P1 fajı gibi. Bu tür fajlar konakçısında herhangi bir zararlı etkiye yol açmazlar (**persistent infeksiyon**).



3) Lizojenik form (latent infeksiyon):

Konakçının içine girdikten sonra faj DNA'sı konakçının genomu ile birleşir ve onun bir devamı haline gelir (**profaj**).

Genomun her replikasyonunda faj DNA'sı da birlikte replike olarak kardeş hücreye transfer edilir (lambda faji gibi). Böyle bakteride lizojeni meydana gelir (**lizojenik bakteri**).

Lizojenik infeksiyonun moleküler mekanizması

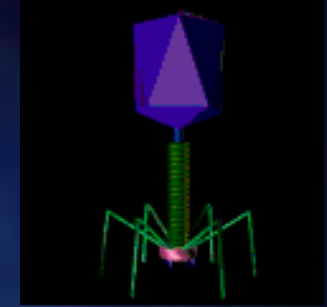
- RNA polimerazın bu promotorlara bağlanamaması dolayısıyla transkripsiyon önlenir.
- Ortamda represör proteinler olduğunda lizojeni devam eder.
- Bakteri lizojenik olduğunda homolog faj süperinfeksiyon oluşturamaz.

Litik infeksiyonun moleküler mekanizması

- Lizojenik bakteri UV ışınları ve mitomycin C ile muamele edildiğinde faj DNA'sında zedelenmeler olur.
- recA proteaz geni aktive olur.
- Proteolitik enzim sentezlenir.
- cI geninin represör proteinlerini inaktive eder. Supresör etki kalkar.

Litik infeksiyonun moleküler mekanizması

- Bakterinin lizisinde rol alan Cro gen ürünü proteinler sentezlenir.
- Bu durum lambda fajını aktive ederek, *E. coli*'de lokalize olduğu biyotin ve galaktoz genleri arasından ayrılmasına yol açar.
- Virulent faj özelliği taşıyarak replike olur.
- Bakteri lize olur ve dışarı çıkarlar.
- Başka bir gal- bakteriyi infekte ettiğinde onu gal+ hale getirebilir (özel transdüksiyon)



Antijenik (Lizojenik) Konversiyon

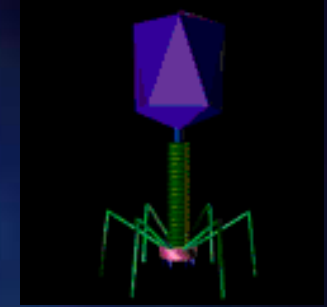
Bakterilerin profajlar yardımıyla bazı antijenik özellikler kazanmasına antijenik veya (lizojenik) konversiyon adı verilir. **Salmonellalarda antijenik farklılıklar.**

Bu fajlar, bakterilerde somatik antijenlerde bazı değişmeler oluşturmaktadırlar.

Lizojenik hücreler vejetatif bir çoğalma olmadan bazı durumlarda kendi profajını kaybederek iyileşebilirler. Böyle bakteriler, fajlara karşı tekrar duyarlı duruma gelir ve tekrar lizojenik bir hale dönüşebilirler.

Antijenik (Lizojenik) Konversiyon

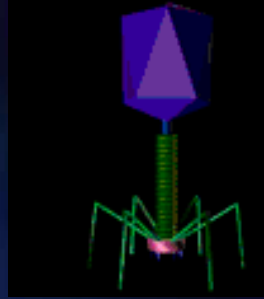
Salmonellalar **epsilon faji** ile infekte edildiklerinde bakterinin yüzey LPS componentlerinde (özellikle, bu componentin şeker molekülünde) değişmeler meydana gelir. Böylece konakçının antijenik özelliği ve ayrıca hücre yüzeyindeki reseptörlerde de farklılaşmalar oluşur ve diğer fajların infeksiyonu da önlenir



Bakteriyofajların Buldukları Yerler

Bakterilerin bulunduğu her yerde rastlanabilir. sindirim sisteminde, dışkıda, lağım sularında, derelerde, göllerde, gübreli topraklarda, deniz sularında fajlar bulunur. Ayrıca profaj bulunan lizojenik bakterilerden izole edilir.

Bakteriyofaj izolasyonu



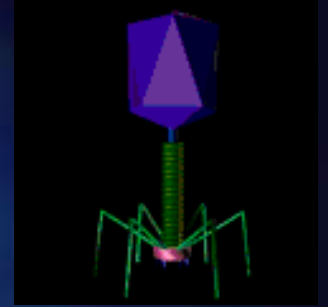
Önce gaita veya gaitalı sıvıdan 5 g. veya 5 ml alınarak 50 ml uygun bir sıvı üretim ortamına ilave edilir ve homojenize edilir.

Bundan sonra kültür sıvısı kuvvetlice santrifüje edilir ve hemen arkasından üst sıvı, milipor (0.2 μm) filtrelerinden süzülür.

Bakteriyofaj izolasyonu

Lizojenik suşlardan faj izolasyonu için özel yöntemler vardır. Bunlar arasında en yaygın kullanılanı, lizojenik suş süspansiyonunun **UV-ışınlarına maruz bırakma** tekniğidir. Işınlamadan sonra ekilen lizojenik suşun kolonilerinde plakların oluşumu aranır.

Faj partikül titrasyonu ve tip tayini:



Bu işlem, bakterilerde koloni sayma yöntemi gibi uygulanır.

Faj süspansiyonu 2 katlı sulandırılır. En son 3-4 sulandırmadan, katı besi yerine, homojen yayılmış mikrop üzerine, 0.01 ml ekilir.

Sonra 24 saat inkübe edilir ve katı besi yerinde üreyen mikroorganizmalar üzerinde oluşan plaklar sayılarak, orijinal süspansiyondaki infeksiyöz faj partikül sayısı veya infeksiyöz ünite, plak formasyon ünitesi (pfu) genel yöntemlere göre bulunur.

Transdüksiyon

- Genetik materyalin verici bir bakteriden alıcı bir bakteriye fajlar aracılığıyla aktarılmasıdır.
- Gram negatif bakteriler (Salmonella, E. coli, Shigella, Proteus, Vibrio, P. aeruginosa vs.)
- Gram pozitif bakteriler (stafilokok ve basiller)

Transdüksiyon

Virü lent veya vejetatif fajlar

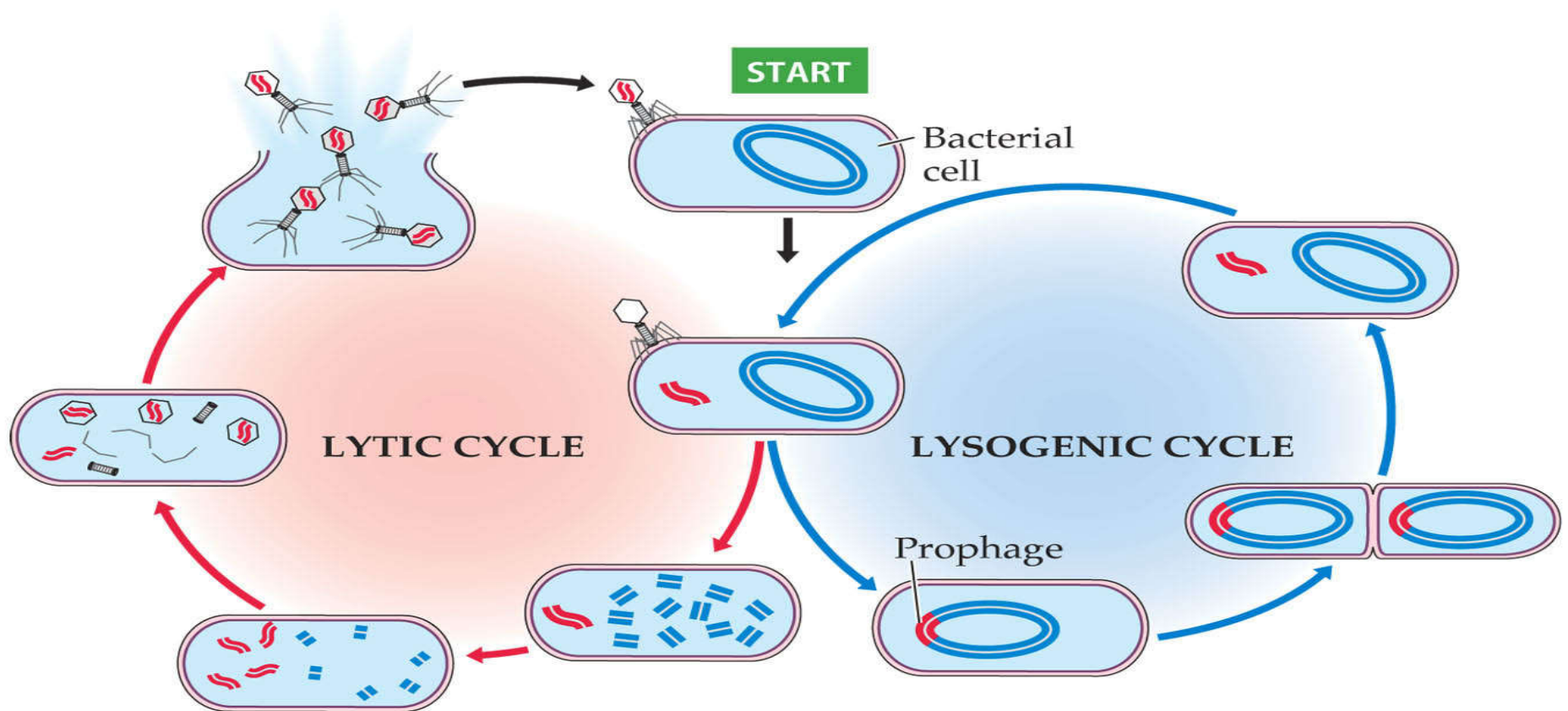
Konakçı hü cresine girdikten sonra orada replike olur ve bakteriyi parçalar

Temperate fajlar

Fajlar infekte ettiği hü creyi lize etmeyebilir

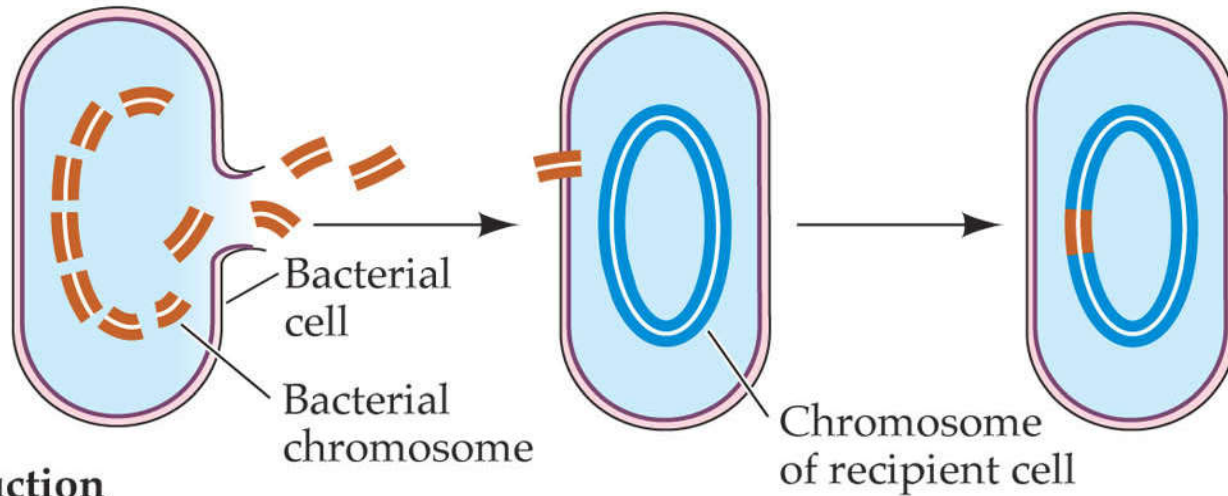
Profaj, lizojenik hü creler

Bakteriyofajın litik ve lizojenik siklusu



Transformasyon ve Transdüksiyon

(a) Transformation



(b) Transduction

