

# Terapia fagowa – nadzieje i obawy

**\*Paweł Kowalczyk<sup>1</sup>, Karol Chalimoniuk<sup>2</sup>, Agnieszka Danielak<sup>2</sup>, Dorota Dziedziela<sup>2</sup>, Paulina Jankowska<sup>2</sup>, Marzena Kowalska<sup>2</sup>, Joanna Laskowska<sup>2</sup>, Marzena Rachocka<sup>2</sup>, Jarosław Szczepaniak<sup>2</sup>, Tomasz Walter<sup>2</sup>, Paulina Strzyga<sup>2</sup>, Justyna Szymańska<sup>2</sup>, Mariusz Słomka<sup>2</sup>, Katarzyna Zawadka<sup>2</sup>, Martyna Staszewska<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa  
P. o. Kierownika Zakładu: dr hab. Barbara Łotocka

<sup>2</sup>Koło Biologii Molekularnej, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa  
Opiekun Koła: dr Paweł Kowalczyk

---

## PHAGE THERAPY – HOPES AND FEARS

---

### Summary

After the first treatment of bacterial infections bacteriophages specific to them was applied by a doctor Felisa d'Herelle in 1919 for the treatment of bacterial dysentery. In the 20 years between the wars and after the war, was very popular in the countries of the former Soviet Union, in addition to standard treatment with antibiotics. At present, the European Union is experiencing slow phage therapy „renaissance” and begins to be regarded as one of the safer ways to treat bacterial diseases that are resistant to a certain antibiotic. Within the European Union there are currently the only facility specializing in research on therapeutic applications of bacteriophages since 1952, which is the center of phage therapy NZOZ working at the Institute of Immunology and Experimental Therapy them. Louis Hirschfeld in. The Institute has modern methods for the isolation of bacteriophages for the preparation of phage preparations used in experimental treatments (antibiotic-resistant bacterial infections by bacteriophages) in accordance with the Declaration of Helsinki. The indications for the use of phage therapy may be a bacterial infection of the whole organism, both exterior coatings such as skin and internal organs such as the bones and joints. Phage therapy is used only when all conventional methods of treatment of infections (infections) battery failed. One of the qualifying factors necessary to carry out the execution of phage therapy at the Centre – phage typing. If the result is positive, this means that you can prepare phage preparation. They may be used either orally or rectally. Phage preparations prepared with support from phage collection of the Institute of Laboratory bacteriophage which are sensitive to phages selected bacteria of cocci (*coccus*), such as *Staphylococcus*, *Enterococcus*, and gram-negative bacteria belonging to the family *Enterobacteriaceae*, e.g. *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter*, sticks gastrointestinal tract: *Klebsiella*, *Shigella*, *Serratia*, *Salmonella*, proteobakterii family that can cause opportunistic infections: *Proteus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter* and *Bulkholderia*.

Key words: phage therapy, antibiotics, bacteria strains

---

### WSTĘP

Dużym problemem współczesnej medycyny jest rosnąca oporność bakterii na antybiotyki – w tym na wankomycynę, zwaną antybiotykiem ostatniej szansy. Za alternatywę dla antybiotyków można uznać terapię fagową/bakteriofagową. Dzięki metodom nowoczesnych badań odkryto, że wiele toksyn wytwarzanych przez patogenne bakterie może być kodowanych w genomach fagowych. Zjawisko to nosi nazwę terapii (kuracji) fagowej. Czynnikiem odróżniającymi bakteriofagi od antybiotyków są m.in.: swoistość działania, samopowielanie się, a także brak efektów ubocznych (1). Stosując fagi (tzw. „pożeracze bakterii”), można wyeliminować wiele infekcji bakteryjnych, które stanowią alternatywę dla antybiotyków i mogą być stosowane do leczenia zakażeń antybiotykoopornymi szczepami bakterii, choć nie są one uznane oficjalnie jako leki (1). Kuracja fagowa nie

spełnia bowiem odpowiednich wymogów, m.in. podwójnie ślepej próby, która polega na tym, że zarówno pacjent, jak i lekarz nie wiedzą, czy podany został prawdziwy lek, czy placebo. Bakteriofagi są podawane w postaci płynu do picia, ponieważ bez problemu przechodzą przez ścianę jelit (2). W organizmie pacjenta atakują komórki bakteryjne, w których się namnażają i prowadzą do ich lizy. Za swoistość i za zjadliwość fagów wobec bakterii odpowiadają białka wchodzące w skład cząstki fagowej – adhezyny, rozpoznające receptory na komórkach gospodarzy oraz enzymy degradujące określone struktury ściany komórkowej lub otoczki bakterii. Za przekazanie wirusowego genomu do wnętrza komórki bakteryjnej, a tym samym za infekcję i namnażanie fagów potomnych są odpowiedzialne inne białka kapsydu wirusa. Uwolnione cząstki fagowe są zdolne do atakowania kolejnych komórek bakteryjnych (3).

Przebieg terapii fagowej można obserwować za pomocą symulacji komputerowych opartych na równaniach matematycznych (1). Mechanizm terapii fagowej przebiega następująco: najpierw cząstki fagowe wiążą się ze specjalnymi receptorami komórki bakteryjnej, po czym następuje proces wnikięcia genomu fagowego do wnętrza komórki gospodarza. Od momentu adsorpcji bakteriofaga do komórki bakteryjnej mówimy o okresie latencji, który trwa aż do lizy komórki. Czas latencji jest różny i zależy od rodzaju faga i warunków środowiskowych oraz szczepu bakterii. Liczba uwalnianych bakteriofagów określana jest jako wielkość wyrzutu ich namnożenia. Z bakteriofagami łączy się także pojęcie fazy życia utajonego, tzw. eklipsy. Mianem „eklipsy” nazywamy okres, w którym wytworzone są kopie wegetatywnych bakteriofagów. W tym czasie następuje wiele procesów, które mają wpływ na ostateczny kształt fagów potomnych (3). Fagi lityczne, które są pasożytami bakterii, mogą się namnażać tylko w żywych i wrażliwych na danego bakteriofaga bakteriach, dlatego też terapia fagowa jako celowa metoda niszczenia chorobotwórczych bakterii budzi obecnie tak duże zainteresowanie. Podawane doustnie nie niszczą naturalnej flory bakteryjnej przewodu pokarmowego. Fagi mają silne działanie bakteriobójcze *in vitro* i *in vivo* przeciwko bakteriom Gram+ i Gram- (4). Liczne badania wykazują większą skuteczność pojedynczej dawki faga niż powtarzalność czterech dawek różnych antybiotyków w mysim modelu infekcji. Przyczyną tego jest namnażanie się fagów, a więc zwiększanie ich ilości w miejscu infekcji. Ma to duże znaczenie w infekcjach zlokalizowanych w tkankach słabo ukrwionych, gdzie antybiotykoterapia nie przynosi pożądanych rezultatów. Fagi jako lek mają unikatową cechę samoistnego zwiększania ilości podczas trwania infekcji, a po zabiciu wszystkich bakterii patogennych bakteriofagi zostają naturalnie usunięte z organizmu, gdyż nie są w stanie rozwijać się w komórkach eukariotycznych. Ogromną zaletą bakteriofagów jest fakt, że w przypadku nabycia przez bakterie oporności, np. dzięki mutacjom, fagi też wprowadzają zmiany w swoim genomie, dostosowując go do gospodarza. W przypadkach innych terapii nie spotykamy się z tą cechą. Fagi stosuje się w dawce 103 cząstki wirionów, a podane doustnie mogą przenikać do krwi i w bardzo szybkim tempie dotrzeć do narządów wewnętrznych, tj. wątroba, nerki, śledziona, przenikają też do otrzewnej i mają zdolność do pokonywania bariery krew-mózg. Przez co fagoterapia wykazuje wysoką skuteczność (ponad 90%) w przypadkach leczenia takich infekcji, jak zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie kości po złamaniu, zapalenie kości i szpiku, przewlekłe ropne przetoki, zakażenie układu moczowego, zapalenie powiek, ropowica ucha środkowego, spojówek, ropnie skóry, ropnie gruczołu piersiowego i trądzik martwicy. Istotny jest fakt, że aż w 87 z 98 przypadków posocznicy osiągnięto pozytywny efekt terapeutyczny. Fagami leczono (doustnie i miejscowo, średnio przez 4 tyg.) 7 pacjentów po zabiegach na otwartym sercu i dużych naczyniach z ostrym ropnym zapaleniem osierdzia, wywołanym przez *Staphylococcus* (5 przypadków), albo mieszaną infekcją *Staphylococcus* i *Pseudomonas* lub *Escherichia* (2 przypadki), u których antybiotykoterapia była nieskuteczna. Fagoterapia jest bezpieczna i skuteczna przy stosowaniu u dzieci, a nawet

u noworodków (5, 6). Ukierunkowane działanie fagoterapii powoduje, że jest „łagodniejsza” od terapii antybiotykowej, lecz wymusza dokładne sprawdzenie *in vitro* szczepu wywołującego daną infekcję oraz dobranie właściwego faga (typowanie fagowe). Aby zwiększyć skuteczność terapii, często podaje się tzw. koktajl fagowy (7), czyli mieszaninę kilku różnych fagów.

#### TERAPIA FAGOWA – ZASTOSOWANIE W MEDYCYNIE

Wykorzystywanie bakteriofagów do leczenia zakażeń bakteryjnych nie jest obecnie tak popularne jak w latach wcześniejszych. Najwięcej publikacji na temat wykorzystywania wirusów bakteryjnych w medycynie pochodzi z Europy Wschodniej oraz z byłego Związku Socjalistycznych Republik Radzieckich. Pierwsze doniesienia o terapeutycznym zastosowaniu fagów pochodzą z Paryża. Podano tam fagi czterem pacjentom chorym na czerwonkę bakteryjną, po czym wszyscy wyzdrowieli. Przypadek ten opisał w 1925 r. Sinclair Lewis w swojej powieści pt. „Doktor Arrowsmith” (7).

Z publikacji polskich najbardziej szczegółowe badania nad skutecznością terapii fagowej opisują Ślopek i wsp. W swoich raportach opisali oni leczenie przy pomocy fagów zakażeń wywołanych przez kilka patogenów bakteryjnych oraz wyniki tych badań. Badania tej grupy naukowców przeprowadzone były na grupie 550 pacjentów w przedziale wiekowym od 1 tygodnia do 86 lat z posocznicą bakteryjną. U większości z tych pacjentów (w 518 przypadkach) leczenie antybiotykami nie przynosiło sukcesów. Czynniki etiologicznymi były gronkowce *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*. Do każdego czynnika etiologicznego dobrano odpowiedniego faga i podawano chorym na trzy sposoby: doustnie, jako opatrunek na rany oraz w zawieszynie stosowanej do nakrapiania do oka, ucha środkowego lub błon śluzowych nosa. Leczenie trwało od 1 do 16 tygodni z 92% sukcesem (8). Inne przypadki leczenia chorób za pomocą terapii fagowej opisane w Polsce i w ZSRR przedstawia tabela 1.

W dzisiejszych czasach niepokojące zjawisko wielolekooporności bakterii sprawiło, że firmy farmaceutyczne oraz ośrodki badawcze ponownie zainteresowały się bakteriofagami w kontekście zwalczania infekcji bakteryjnych (9). W latach 80. XX w. na świecie były tylko dwa główne ośrodki zajmujące się terapią fagową. Pierwszy to Instytut Bakteriofagów w Tiblisi, w którym badano skuteczność fagów wobec zakażeń wywołanych przez m.in.: *Escherichia Coli*, *Pseudomonas*, *Shigella*, a także *Proteus*. Drugim ośrodkiem był Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, gdzie leczono takie schorzenia, jak: czerwonka, ropne zapalenia ucha środkowego, zapalenia płuc, zapalenia opon mózgowych, zapalenia opłucnej, zakażenia układu moczowego. W Instytucie w Tiblisi naukowcom udało się stworzyć dwa kluczowe preparaty: PhageBioderm stosowany przy infekcji ran powierzchniowych oraz Intestiphage stosowany w bakteryjnych infekcjach przewodu pokarmowego. Są to tzw. „koktajle fagowe” będące mieszaniną nawet 23 różnych bakteriofagów. Dzięki nieustannym pracom nad bakteriofagami udało się rozwiązać problem szybkiego usuwania bakteriofagów z organizmu człowieka. Po podaniu myszom dzikiego faga i serii pasażu na myszach udało się tak

Tabela 1. Przykłady wykorzystania terapii fagowej w leczeniu chorób na terenie Polski i byłego ZSRR (2).

Badacze	Zakażenia	Czynnik etiologiczny	Uwagi
Babalova i wsp.	Czerwonka bakteryjna	<i>Shigella</i>	Fagi <i>Shigella</i> były z powodzeniem stosowane w profilaktyce czerwonki bakteryjnej.
Bogovazova i wsp.	Zakażenia skóry i błony śluzowej nosa	<i>K. ozarnae</i> , <i>rhinoscleromatis</i> K. i <i>K. pneumoniae</i>	Przystosowane fagi były skuteczne w leczeniu zakażeń <i>Klebsiella</i> u wszystkich 109 pacjentów.
Cislo i wsp.	Ropne zakażenia skóry	<i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> i <i>E. coli</i>	31 pacjentów mających przewlekłe zakażenie skóry leczono doustnie i miejscowo fagami. Sukces leczenia wyniósł 74%.
Kochetkova i wsp.	Zakażenia ran pooperacyjnych u pacjentów z nowotworami	<i>Aureus</i> i <i>Pseudomonas</i>	Spośród 131 pacjentów z infekcjami po zabiegu chirurgicznym 65 z nich leczono fagami, reszta otrzymywała antybiotyki. Leczenie fagami udało w 82% przypadków, a antybiotykami było skuteczne w 61% przypadków.
Meladze i wsp.	Infekcje płuc i opłucnej	<i>Staphylococcus</i>	Fagi zastosowano w leczeniu 223 pacjentów, wyniki porównano ze 117 przypadkami, u których zastosowano antybiotyki. Skuteczność zaobserwowano u 82% pacjentów w grupie leczonej fagami oraz u 64% pacjentów w grupie leczonej antybiotykami.
Perepanova i wsp.	Zapalne układu moczowo-płciowego	<i>Aureus</i> , <i>E. coli</i> i <i>Proteus</i>	Przystosowane fagi stosowane w leczeniu ostrych i przewlekłych stanów zapalnych układu moczowo-płciowego u 46 pacjentów. Skuteczność leczenia fagami wyniosła 92%.
Sakandelidze	Uczulenia (nieżyt nosa, zapalenie gardła, zapalenie skóry i zapalenie spojówek)	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> , enterokoki i <i>P. aeruginosa</i>	Łącznie 1380 pacjentów z alergiami, leczono ich fagami (360 pacjentów), antybiotykami (404 pacjentów) lub połączeniem fagów i antybiotyków (576 pacjentów). Poprawę kliniczną obserwowano odpowiednio u 86, 48 i 83% przypadków.
Ślopek i wsp.	Infekcje przewodu pokarmowego, skóry, głowy i szyi	<i>Aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Salmonella</i> i <i>Klebsiella</i>	Łącznie 550 pacjentów leczonych fagami. Ogólny sukcesu leczenia fagami – 92%.
Stroj i wsp.	Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych	<i>K. pneumoniae</i>	Leczenie fagami doustnie w leczeniu zapalenia opon mózgowych u noworodków przyniosło sukces (powiodło się).

zmodyfikować białka kapsydu bakteriofaga, aby otrzymać fagii o znacznie wydłużonym okresie utrzymywania się w organizmie gospodarza. Niektórzy badacze opiniują o usunięciu tej metody w związku z kontrowersjami dotyczącymi stosowania fagów lizogennych, do których zaliczane są również stosowane przy pasażowaniu łagodnie fagi  $\lambda$  z rodziny *Styloviridae* (10). Metody inżynierii genetycznej oraz znajomość sekwencji genomu bakteriofaga pozwalają na dokonanie manipulacji prowadzących do zwiększenia skuteczności antybakteryjnej fagów oraz modyfikacji ich specyficzności, tak jak w przypadku faga M13, który pierwotnie wykazywał skuteczność w stosunku do *E. coli*, a po modyfikacjach genetycznych stosowano go również w zakażeniach wywoływanych przez *Helicobacter pylori* (10) oraz w szczepach *Corynebacterium diphtheriae*, która jest tlenową pałeczką gram-dodatnią, a jej patogenność spowodowana jest egzotoksyną błoniczą. O tym, że nie wszystkie szczepy *C. diphtheriae* są chorobotwórcze, poinformował w 1951 roku Freeman. Odkrył on, że tylko szczepy zainfekowane przez faga beta niosącego ze sobą gen *tox+* są zdolne do produkcji toksyny błoniczej wywołującej ostrą chorobę zakaźną – błonicę. Wiele badań

przeprowadzanych w ubiegłym stuleciu nad korelacją pomiędzy *Corynebacterium diphtheriae* a fagami potwierdziło, że większość toksycznych szczepów maczugowca błoniczy jest związana z sekwencjami DNA faga beta. Podczas badań nad toksycznością maczugowca błoniczy przeprowadzono również badania na nielizogennych szczepach bakterii, do których użyto genu *tox+* faga beta i *tox-* faga gamma. Badania te wykazały, że poszczególne szczepy zawierają gen *tox+* albo *tox-*. Istnieje także szansa, że znajdzie korelację pomiędzy lizogennym nietoksycznym szczepem *Corynebacterium diphtheriae* a fagiem z genem *tox+*, wtedy to szczep ten ma zdolność do rozpoznawania toksyny i eliminowania genu *tox+* profaga, w wyniku czego następuje utrata zdolności do produkcji toksyny błoniczej (18).

#### BAKTERIOFAG M13

M13 jest specyficznym, nitkowatym bakteriofagiem *E. coli* o długości 1  $\mu\text{m}$  i średnicy nie mniejszej niż 10 nm. Cząsteczka faga składa się z jednoniciowego DNA (ang. *single stranded DNA* – ssDNA) otoczonego białkowym płaszczem. Nić ssDNA ma długość 6,4 kb i zawiera w sobie



jedenaście genów. Genom bakteriofaga M13 zawiera 11 genów. Pięć genów koduje białka płaszczka, podczas gdy inne geny niezbędne są do replikacji i montażu wirusa. Replikacja faga M13 jest inicjowana przez związanie białka P3 do pilusa F na powierzchni komórki *E. coli*, następnie DNA wirusowe jest wstrzykiwane do komórki gospodarza. Wewnątrz komórki jednoniciowy DNA jest przekształcany do postaci podwójnej nici, która w kolejnych etapach cyklu życiowego jest dalej kopiowana i wykorzystywana do produkcji wszystkich białek faga. Ostatecznie dwuniciowy DNA jest również używany jako „szablon” do produkcji nowego jednoniciowego DNA. W ten sposób składniki nowych cząstek fagowych gromadzone są wewnątrz komórki gospodarza. Białka płaszczka osadzone są w wewnętrznej błonie N-końcowym aminokwasem w peryplazmie i C-końcowym aminokwasem w cytoplazmie. Inne białka faga biorą udział w tworzeniu kompleksu porowego, obejmującego wewnętrzną i zewnętrzną błonę, dzięki któremu nowo powstałe fagi wydostają się na zewnątrz komórki gospodarza. Proces namnażania się faga w komórce bakteryjnej polega na układaniu jednego białka P8 za drugim, tak aż do tysiąca białek. Dostawienie na końcu wcześniej zmutowanych cząsteczek białek P6 i P3 kończy proces „montażu bakteriofaga”. W tym momencie bakteriofagi uwalniane są do środowiska zewnętrznego (12). Namnażanie się bakteriofaga M13 w komórce gospodarza jest procesem Nielitycznym, co oznacza, że nie dochodzi do lizy komórki po uwolnieniu fagów. Bakteria jest w stanie nadal rosnąć, dzielić się, choć w zmniejszonym tempie. Na uwagę zasługuje również białko P3 z płaszczka faga M13. Białko P3 jest największym i najbardziej złożonym białkiem płaszczka zawierającym trzy domeny (D1, D2, D3), które biorą udział w rozpoznawaniu i zakażeniu komórek gospodarza (12). Zainteresowanie naukowców wzbudził w szczególności właśnie fag M13 ze względu na to, że infekuje wyłącznie bakterie i jest bezpieczny dla ludzi. Jego pałeczkowaty kształt i łatwość w produkcji również przyczyniły się do wybrania go jako obiektu badań nad przewodnictwem prądu. Zakłada się, iż bakteriofagi być może w przyszłości będą mogły zasilać telefony komórkowe. Naukowcy z University of California w Berkeley w wyniku wielu prób i błędów uzyskali prąd z bakteriofaga M13. Inżynierowie w swoich badaniach wykorzystali zjawisko piezoelektryczne, prościej mówiąc przetwarzania energii mechanicznej w energię chemiczną. W wyniku procesów mechanicznych są w stanie wytworzyć ładunki, które nie są toksyczne. Stosowane w dzisiejszych czasach urządzenia niestety zawierają wiele toksycznych metali ciężkich i innych szkodliwych substancji. W celu zwiększenia zdolności bakteriofaga do wytwarzania energii grupa naukowców prowadzona przez Seung-Wuk Lee zmodyfikowała skład aminokwasowy płaszczka faga M13 w ten sposób, że włączyli oni cztery ujemnie naładowane reszty kwasu glutaminowego. Aby efekt piezoelektryczny był silniejszy, nałożono wiele warstw fagów jedna na drugą. Wystarczyło to do wyświetlenia na ciekłokrystalicznym ekranie cyfry 1 (13-15).

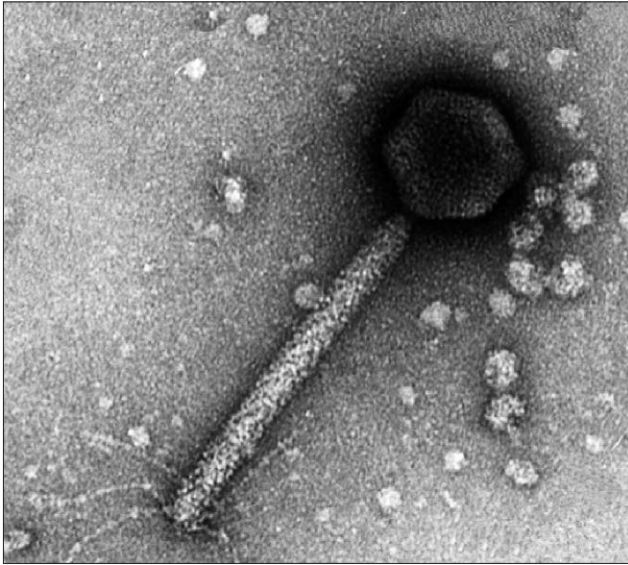
#### BAKTERIOFAG P1

P1 jest bakteriofagiem *Escherichia coli* i innych bakterii jelitowych. Po inokulacji bakteriofagiem DNA komórki

bakteryjnej wirusowe DNA ulega cyrkulizacji. W komórce bakteryjnej bakteriofag P1 występuje w postaci stabilnego, niskokopiowego plazmidu. Geny kodujące białka zajmują łącznie 92% genomu i są zorganizowane w 45 operonach, z których cztery są decydującymi o mechanizmie infekcji litycznej bądź lizogenicznej. 38 operonów bierze udział w litycznym mechanizmie. Geny lityczne tego faga podzielono na wczesne i późne (16). Wirion bakteriofaga składa się z ikosahedralnej głowy przymocowanej do wierzchołka ogona składającego się z sześciu zapętłonych włókien ogona. Zmienna część włókien ogonowych określa specyfikę adsorpcji faga P1 w stosunku do różnych gospodarzy. Cząsteczki infekcyjne P1 zawierają dwuniciowe, liniowe, cyklicznie przesuwalne cząsteczki kodowane przez fragment od 10 do 15 kb DNA faga. Po wstrzyknięciu do komórki gospodarza wirusowego DNA podlega recykulizacji poprzez rekombinację pomiędzy sekwencjami odpowiadającymi za lityczną lub lizogeniczną drogę infekcji. Wybór cyklu jest silnie uzależniony od czynników środowiskowych oraz systemu immunologicznego gospodarza, w tym represora C1. Geny faga P1, który wyraża cykl lityczny, kodują tworzenie się cząstek fagowych typu *headful* (15). Replikacja bakteriofaga P1 odbywa się w trybie teta-replikacji. Około godzinę po infekcji komórki są wypełnione konkatamerami z DNA fagów, które zbudowane są z takich samych odcinków połączonych ze sobą na zasadzie głowa-ogon (ryc. 1).

#### FAG $\lambda$

Fag  $\lambda$  to bakteriofag zakażający bakterie *Escherichia coli*. Charakteryzuje się specyficznością tylko do pewnych szczepów bakterii z grupy *coli*. Jako wirus, zbudowany jest z kwasu nukleinowego otoczonego białkowym kapsydem oraz posiada kurczliwy ogon. Genom ma długość 48,5 kb i zawarty jest w dwuniciowej, liniowej cząsteczce DNA. Kapsyd ma symetrię ikosahedralną, natomiast ogon zbudowany jest z cienkiej i elastycznej białkowej rurki, zakończonej częścią stożkową. Cykl namnażania opisywanego faga rozpoczyna się adsorpcją do komórki bakterii. Wirus, po rozpoznaniu odpowiedniej komórki bakteryjnej, wiąże się do jej struktur powierzchniowych za pomocą białka *J*, znajdującego się w kurczliwym ogonie wirusa. Białko to wiąże się z białkiem *LamB* na powierzchni błony komórkowej bakterii. Następnym etapem jest penetracja DNA faga do komórki bakterii. Wiązanie pomiędzy infekowaną komórką bakteryjną a bakteriofagiem staje się trwałe i wówczas cząsteczka DNA jest wstrzykiwana do wnętrza cytoplazmy komórki gospodarza. Pomocne w tym celu jest także białko błonowe *PstM*, które ułatwia penetrację (znajduje się ono po wewnętrznej stronie błony komórki gospodarza) (17). Genom wirusowy w komórce gospodarza może ulec strawieniu przez egzonukleazy, które wymagają obecności wolnego końca cząsteczki dsDNA. Zapobieganie tej sytuacji odbywa się poprzez cyrkulizację liniowej cząsteczki DNA. Niezbędne w tym celu jest występowanie w strukturze kwasu nukleinowego faga  $\lambda$  specyficznego regionu *cos*. Jest to sekwencja o długości 22 bp. Jest ona asymetrycznie rozcinana: jedno cięcie następuje w lewym końcu genomu, natomiast drugie w prawym jego końcu. Enzym ligaza, wytwarzany



Ryc. 1. Budowa faga P.

Źródło: [http://www.thebacteriophages.org/chapters/0240\\_figure\\_001.htm](http://www.thebacteriophages.org/chapters/0240_figure_001.htm).

przez komórkę gospodarza, powoduje zlepianie się końców nici DNA, co zmienia jego strukturę na kuliście zamkniętą. Ustabilizowana cząsteczka kwasu nukleinowego ulega następnie transkrypcji. Polimeraza RNA komórki gospodarza współdziała z promotorami i w konsekwencji powstają krótkie transkrypty mRNA, które następnie w procesie translacji tłumaczone są na język nukleotydowy. Odpowiednie sekwencje nukleotydów kodują konkretne białka genomu potomnego. U faga  $\lambda$  może występować zarówno rozwój lityczny, jak i lizogeniczny. Wybór szlaku zależy od białek *Ci* i *Cro* oraz ich wiązania do regionów kontroli promotorów. Gdy związane jest białko *Ci*, następuje represja genów szlaku litycznego i do skutku dochodzi szlak lizogeniczny. Natomiast gdy związane jest białko *Cro*, sytuacja jest odwrotna, czego skutkiem jest następowanie szlaku litycznego (17, 18). Replikacja kolistych, dwuniciowych cząsteczek DNA faga następuje w sposób dwukierunkowy, podobnie jak w przypadku replikacji genomu *E. coli*. Konstrukcja kapsydu potomnego wirionu zależy od białek strukturalnych pierwotnego wirionu oraz od białek gospodarza, wykorzystywanych przy montowaniu kapsydów wirionów potomnych. Aby dojrzałe fagi potomne mogły opuścić komórkę gospodarza, niezbędne są białka *R* i *S*. Białka te są endolizynami, które degradują peptydoglikan zawarty w ścianach komórkowych bakterii, co pozwala na wydostanie się bakteriofaga z komórki gospodarza (18).

## PODSUMOWANIE

Pomimo badań i dobrych efektów terapia fagowa jest nadal prowadzona jako forma terapii doświadczalnej, lecz w niedalekiej przyszłości ma szansę stać się wiodącą formą terapii antybakteryjnej. □

## Piśmiennictwo

1. Tanji Y, Shimada T, Fukudomi H et al.: Therapeutic Use of Phage Cocktail for Controlling *Escherichia coli* O157:H7 in Gastrointestinal Tract of Mice. *Journal Of Bioscience And Bioengineering* 2005; 100(3): 280-287.
2. Biswas B, Adhya S, Washart P et al.: Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun* 2002; 70: 204-210.
3. Bennett AR, Davis FG, Vlahodimou S et al.: The use of bacteriophage-based systems for the separation and concentration of *Salmonella*. *J Appl Microbiol* 1997; 83: 259-265.
4. Brzozowska E, Bazan J, Gamian A: Funkcje białek bakteriofagowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2011; 65: 167-176.
5. Dixon B: New dawn for phage therapy. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 186.
6. Międzybrodzki R, Borysowski J, Fortuna W et al.: Terapia fagowa jako alternatywa w leczeniu zakażeń wywołanych przez bakterie antybiotykooporne. *Kardiologia i Torakochirurgia Polska* 2006; 3(2): 201-205.
7. Gregoracci GB: The biology of bacteriophages. [In:] Węgrzyn G (red.): *Modern bacteriophage biology and biotechnology*. Research Signpost, Trivandrum, India 2006.
8. Kowalski J: Bakteriofagi i możliwości ich zastosowania w diagnostyce i terapii chorób przyzębia – przegląd literatury. *Nowa Stomatologia* 2003; 3: 155-156.
9. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Glenn Morris J: Bacteriophage Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(3): 649-659.
10. Łysiak K: Bakteriofagi jako alternatywa dla antybiotyków – możliwości praktycznego ich zastosowania w chirurgii stomatologicznej. *Przegląd piśmiennictwa. Dent Med Probl* 2004; 41(4): 761-768.
11. Holmes RK: Biology and Molecular Epidemiology of Diphtheria Toxin and the *tox* Gene. *The Journal of Infectious Diseases* 2000; 181: 156-167.
12. Campbell AM: Bacteriophages. [In:] Neidhardt FC (ed.): *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology*. 2nd ed., DC: ASM Press, Washington 1996, 2325-2338.
13. Zaman, G, Smetsers A, Kaan A et al.: Regulation of expression of the genome of bacteriophage M13. Gene V protein regulated translation of the mRNAs encoded by genes I, II, V and X. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; 1089: 183-192.
14. Georgieva Y, Konthor Z: Design and Screening of M13 Phage Display cDNA Libraries. *Molecules* 2011; 16: 1667-1681; doi:10.3390/molecules16021667.
15. Sidhu SS: Engineering M13 for phage display. Department of Protein Engineering, Genentech, Inc. 1 DNA Way, South San Francisco 2001, CA 94080, USA; *Biomolecular Engineering* (18): 57-63.
16. Łobocka MB, Rose DJ, Plunkett G et al.: Genome of Bacteriophage P1. *Journal of bacteriology* 2004 Nov; 186(21): 7032-7068.
17. Ziefla A, Dąbrowska B, Górski A: Symulacje komputerowe terapii fagowej. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 2003; 12(1): 105-109.
18. Brzozowska E, Bazan J, Gamian A: Funkcje białek bakteriofagowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2011; 65: 167-176.

otrzymano/received: 25.02.2013  
zaakceptowano/accepted: 29.03.2013

Adres do korespondencji:  
\*Paweł Kowalczyk  
Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów  
Wydział Rolnictwa i Biologii  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa  
tel.: +48 728-862-717  
e-mail: pawel\_kowalczyk@sggw.pl