نکاتی درباره باکتریوفاژها و راه نوین بدست آوردن آنها

دکتر پرویز ادیب‌فر(*)

این تصور که برای هر نوع تحقیق درعلوم پزشکی الزاماً میبایست اسبابهای پیچیده و مفصل‌داشت ، دراغلب موارد صدق نمیکند . حتی برای تحقیق در رشته‌هائی ازقبیل‌ویرولژی نیز تشکیلات عریض‌وطویل‌لازم‌نمیباشد . غرض این نیست که منکر کمك عظیم اسبابها ووسائل درپیشرفت علوم پزشکی بشویم بلکه مقصوداینست که در بسیاری‌مواردهم میتوان بدون داشتن آزمایشگاههای پراسباب نیز تحقیق کرد . این مطلب بیشتر درمورد شروع تحقیق یا بعبارت دیگر تحقیقات مقدمـاتی صادق است ، در صورتیکـه برای روشن‌کردن مکانیسمهای پیچیده پدیده‌های بیولژیك و بررسی عمیق‌آنها ، لزوم استفاده از وسائل و ابزارهای دقیق غیرقابل انکار است .

یکی از شواهد بارز چنین مواردی تحقیق در باره باکتریوفاژ میباشد .چنانکه‌خواهیم دید قسمت اعظم این تحقیق حتی در یك آزمایشگاه ساده میکروبشناسی‌هم امکان‌پذیر میباشد و هرآزمایشگاه کوچك میتواند با وسائل معمولی‌ساده خود این ویروس را درحضورباکتریها کشت وبررسی‌نماید ، لذا این‌تنها ویروسی است که بیش از تمام میکرو اورگانیسمها درباره آن‌کار شده و سبب گردیده است که پـرده ازروی عده زیادی از رازهای‌مهم طبیعت برداشته شود . بیشتر اطلاعاتی را که هم‌اکنون درباره بیولژی ویروسها داریم منحصراً از تحقیقات و آزمایشهائی‌که در روی فاژها انجام‌گرفته است بدست‌آورده‌ایم . علم بیولژی روشن شدن چگونگی اتصال ویروسها به‌گیرنده‌های سلول زنده ، نفوذ آنها بداخل ماده زنده ، مراحل مختلف تکثیرشان در داخل سلول ، نقش اساسی اسیدهای هسته‌ای در فعالیت عفونی‌ویروسها تغییرات‌بیوشیمیائی‌درداخل سلولهای آلوده بویروسها و هزاران مطلب ارزنده دیگر مدیون تحقیقاتی است که همه بوسیله باکتریوفاژ انجام‌گرفته‌اند .

اخیراً در بیوشیمی نیز برای مطالعه‌کیفیت بیوسنتز پروتئین‌ها از باکتریوفاژاستفاده میکنند .

بدون اغراق میتوان گفت که ارکان‌علم بیولژی ملکولی که جدیداً بوجودآمده‌وبسرعت گسترش مییابد ، به اطلاعات وتحقیقاتی متکی است که بکمك باکتریوفاژ بآنها دست‌یافته‌اند بهمین‌جهت هر روزکه میگـذرد اهمیت‌کشف درل (d'Herelle) بارزتر و آشکارتر گشته و

* استادیار بخش میکروبشناسی دانشکده پزشکی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-02-15]

در سال ۱۹۴۰ Ruska و Kausche اولین کسانی بودند که عکسهائی به کمک میکروسکپ الکترونیك از باکتریوفاژ گرفته و منتشر کرده‌اند در سال ۱۹۴۶ Lepin و Nicolle موفق به گرفتن عکس هائی از ویروس گردیده واطلاعات گذشته را تصدیق وتکمیل کردند. اغلب این عکس ها اجسام گرد یا بیضوی را نشان میدادند که دارای دم یا بی‌دم هستند فرم‌های دم‌دار شبیه اسپرماتوزوئید بودند از دیدن اشکال بی‌دم این نظریه پیدا شد که بعضی ازفاژها واجددم وبرخی فاقدآن می‌باشند. ولی تحقیقات اخیر نشان داد که دم برای فعالیت اصلی باکتریوفاژ الزامی است و همه آنها در هنگام بوجود آمدن دارای دم‌هستند ولی بعداً بر اثر پیری ویا ضربه دم خود را از دست میدهند . در موقع آماده کردن فاژ برای مطالعه با میکروسکپ الکترونیك اخیرا متدهائی بکار می برند که حتی‌المقدور از دفرمه شدن شکل ظاهری فاژ جلوگیری شود با بکار بستن این متدها Williams و Fraser عکس های دقیق و جالبی از شکل ظاهری باکتریوفاژ بدست آوردند که نشان می‌دهد سر باکتریوفاژ گرد نبوده بلکه چند وجهی است و در آن چند توده متراکم دیده میشود. بسر،دمی مربوط است که تراکم آن از سر کمتر میباشد و ازامتداد پوشینه پروتئینی یاکاپسیدسر بوجودآمده وانتهای آن چندین شاخه می گردد . در برخی از باکتریوفاژ ها در انتهای دم صفحه‌ای وجود دارد که به آن تعدادی دنباله متصل میگردد باکتریوفاژها بوسیله صفحه وزوائدی که در انتهای دم خود دارند به باکتریها اتصال پیدا می کنند . مسئله مطالعه درباره این زوائد حیرت‌آور توجه دانش بیولوژی را بخود معطوف نموده و امروزه این امکان را بوجود آورده است تا مطالعه فیزیولوژی فاژ از این طریق انجام گیرد . درون دم کانال باریکی است از یکطرف بسر و از طرف دیگر به انتهای دم مربوط میگردد این مرفولوژی در بین تمام ویروس های شناخته شده منحصر بفرد است . در هنگام مطالعه سیکل آلودگی بعضی از فاژها اضافه کردن بعضی از آمینواسید ها و یامشابهین آنها و داروهای آنتی‌متابولیك باعث تغییراتی در فرم سروغلاف لوله وزوائد انتهای فاژملاحظه گردیده است .

اندازه باکتریوفاژها متغیر بوده برای فرم‌های کوچك این اندازه بین ۸-۱۲ میلی‌مو و برای فرم های بزرگ بین ۸۰ تا ۱۰۰ میلی مو است . اخیراً استعمال متد جدیدتری مانند : کروماتوگرافی ، الکتروفورز ، سرولژی ، ایمنوشیمی و بخصوص استعمال ایزوتوپهای رادیواکتیو سبب شناسائی دقیق وکامل ساختمان شیمیائی باکتریوفاژ گردیده است از تحقیقات جدیدی که درخصوص ساختمان باکتریوفاژ انجام گرفته است میتوان ازکار های Bradley و Davidson در سال ۱۹۶۳ نام برد. باکتریوفاژ ها مانندتمام ویروس‌ها قسمت‌اعظم آنها از نوکلئوپروتئین ها بوده که اسید هسته‌ای آن DNA میباشد و تقریباً ۴۰ درصد وزن باکتریوفاژ را تشکیل میدهد و تمام خواص بیولژیکی فاژ مربوط به این اسید می‌باشد اگر این اسید را از فاژ جدا کنیم و خالص بدست آوریم قادر است که باکتری حساس خود را

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-02-15]

آلوده کرده و تولید فاژکامل نماید . DNA از یك پوشینه پروتئینی پوشیده شده است که امتدادش دم را درست می کند . اسیدآمینه‌هائی که این پروتئین را درست می کنند هم آنهائی هستندکه درباکتری حساس مشاهده میشوند در باکتریوفاژ علاوه بر DNA مقدار بسیارکمی هم RNA وجود داردکه ممکن است جزء ساختمانش نباشد بلکه مربوطه به باکتری بوده‌که در آن داخل گردیده است در بعضی مواقع هم در فاژ بعضی از مواد مشکله اسید های نوکلئیك دیده میشوندکه عبارتند از باز های پوریك یا پریمیدیك که امکان دارد از هیدرولیز DNA حاصل شده باشند . اسیدنوکلئیك های باکتریوفاژ هاگاهی یك رشته‌ای و گاهی دو رشته‌ای میباشند علاوه برمواد یاد شده در ساختمان بعضی از باکتریوفاژ هـا چربی های خنثی و هیدراتهای کربن نیز دیده شده است .

پس از آشنائی مختصر با باکتریوفاژ و ساختمان آن باید دید بچه وسیله میتوان آنرا بدست آورد و درچه‌جائی یـافت میشود یکی از خصوصیات مهم بـاکتریوفاژ مانند ویروسها بیوتروپیسم آن میباشد و از این نظر جز در درون باکتریهای زنده و در حال رشد قادر به ادامه حیات وتولید مثل نیست لذاآنها را در محیط هائی میتوان یافت که آلوده به میکروب باشند بنابراین انتشارش در طبیعت زیاد بوده و میتوان آنرا تقریباً به آسانی از مـدفوع انسان و جانوران مختلف ازقبیل خوکچه هندی، خرگوش ، مرغ، فاضل‌آب، آب رودخانه و استخر ، خاك ، پهن ، گیاهانی که در حال پوسیدن هستند و یا چرك و سوشهای لیزوژن ، ترشحات و مواد دفع شده قسمت های مختلف انسان بدست آورد بین مواد یاد شـده اهمیت فاضل‌آب برای بدست آوردن فاژ ازهمه بیشتر بوده و میتوان آنرا منبع سرشاری برای فاژ باکتریهای متعدد شمرد .

برای جداکردن باکتریوفاژاز فاضل‌آب چنانچه نمونه‌برداشت شده دارای ماده‌جامد زیادی نباشد آنرا ازکاغذ صافی معمولی گذرانده و بـه مایع صاف شده بـاندازه حجم آن آبگوشت اضافه و مجموع را روی شمع شامبرلان یـا سایر صافی های باکتریولوژیك صاف می‌کنیم و مایع صاف شده را در حرارت ۴ + درجه نگاه میداریم . در صورتیکه نمونه برداشت شده ماده جامد زیادی داشته باشد ابتدا آنرا ازلابلای چند لایه گاز گذرانده وسپس از جدارکاغذ صافی میگذرانیم و یا اینکه نمونه را مدت ۱۵ دقیقه بـا سرعت دو هزار دور سانتریفوژکرده وازمایع روشن شده رو برای گذراندن ازجدارکاغذ صافی استفاده می کنیم .

در مورد جداکردن‌فاژاز مدفوع انسان یا حیوانات و یا ازگیاهان‌که درحال پوسیدن هستند مقداری از ماده را در هاون ریخته و پس از اضافه‌کردن آبگوشت آنرا خوب‌میسائیم و سپس مخلوطرا چند ساعت درحرارت ۴+ درجه سانتیگرادی‌حرکت می گذاریم تا مواد جامدته‌نشین‌شوند . آنگاه مایع‌روی رسوب رابرداشته ابتدا ازجدارکاغذ صافی و سپس‌بوسیله شمع‌شامبرلان صاف می کنیم و مایع ازصافی گذشته را تا شروع قسمت دوم عملیات در یخچال نگاه میداریم :

اگر جداکردن باکتریوفاژ از خاك مورد نظر باشد تقریباً مقدار ۴۰ گرم از خاك‌را

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-02-15]

10- Hankin, E.: Ann. Inst. Pasteur. 10: 511. 1896.

11 - Mohammadzadeh Kiai, F.: Bull.Soc.Vandoise Sci. Nat. 69: 339. 1967.

12- Ruska, H.: Arch.f. Gen. Virusforsch. 2: 345. 1942.

13 - Smith, K.M.and Lauffer, M.A. (Eds,) - : Advances in Virus Research, Academic Press.1966

14- Williams, R.C.and Fraser, D. J. Bact, 66: 458, 1953.

15 - Williams, R. C. : Cold Spring Harbor Symp, Quant, Biol, 18. 1953 .

۱۶ ـ کلیات ویروسها : پلی‌کپی کنفرانسهای دکتر فرج‌الله شفا- آبان ماه ۱۳۴۶

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-02-15]