

نکاتی درباره باکتریوفازها و راه نوین بدست آوردن آنها

دکتر پرویز ادیب‌فر(*)

این تصور که برای هر نوع تحقیق در علوم پزشکی الزاماً میبایست اسبابهای پیچیده و مفصل داشت، در اغلب موارد صدق نمیکند. حتی برای تحقیق در رشته‌هایی از قبیل ویروlogy نیز تشکیلات عریض و طویل لازم نمیشود. غرض این نیست که منکر کمک عظیم اسبابها و وسائل در پیشرفت علوم پزشکی بشویم بلکه مقصود اینست که در بسیاری موارد هم میتوان بدون داشتن آزمایشگاههای پر اسباب نیز تحقیق کرد. این مطلب بیشتر در مورد شروع تحقیق یا عبارت دیگر تحقیقات مقدماتی صادق است، در صورتیکه برای روشن کردن مکانیسمهای پیچیده پدیده‌های بیولوژیک و بررسی عمیق آنها، لزوم استفاده از وسائل و ابزارهای دقیق غیر قابل انکار است.

یکی از شواهد بارز چنین مواردی تحقیق در باره باکتریوفاز می باشد. چنانکه خواهیم دید قسمت اعظم این تحقیق حتی در يك آزمایشگاه ساده میکروشناسی هم امکان پذیر میباشد و هر آزمایشگاه کوچک میتواند با وسائل معمولی ساده خود این ویروس را در حضور باکتریها کشت و بررسی نماید، لذا این تنها ویروسی است که بیش از تمام میکرو اورگانیسما درباره آن کار شده و سبب گردیده است که پرده از روی عده زیادی از رازهای مهم طبیعت برداشته شود. بیشتر اطلاعاتی را که هم اکنون درباره بیولوژی ویروسها داریم منحصراً از تحقیقات و آزمایشهایی که در روی فازها انجام گرفته است بدست آورده ایم. علم بیولوژی روشن شدن چگونگی اتصال ویروسها به گیرنده‌های سلول زنده، نفوذ آنها بداخل ماده زنده، مراحل مختلف تکثیرشان در داخل سلول، نقش اساسی اسیدهای هسته‌ای در فعالیت عفونی ویروسها تغییرات بیوشیمیائی در داخل سلولهای آلوده بویروسها و هزاران مطلب ارزنده دیگر مدیون تحقیقاتی است که همه بوسیله باکتریوفاز انجام گرفته اند.

اخیراً در بیوشیمی نیز برای مطالعه کیفیت بیوسنتز پروتئینها از باکتریوفاز استفاده میکنند.

بدون اغراق میتوان گفت که ارکان علم بیولوژی ملکولی که جدیداً بوجود آمده و بسرعت گسترش مییابد، به اطلاعات و تحقیقاتی متکی است که بکمک باکتریوفاز با آنها دست یافته اند بهمین جهت هر روز که میگذرد اهمیت کشف درل (d'Herelle) بارزتر و آشکارتر گشته و

در سال ۱۹۴۰ Kausche و Ruska اولین کسانی بودند که عکسهائی به کمک میکروسکپ الکترونیک از باکتریوفاز گرفته و منتشر کرده اند در سال ۱۹۴۶ Nicolle و Lepin موفق به گرفتن عکس هائی از ویروس گردیده و اطلاعات گذشته را تصدیق و تکمیل کردند. اغلب این عکس ها اجسام گرد یا بیضوی را نشان میدادند که دارای دم یا بی دم هستند فرم های دم دار شبیه اسپرما توزوئید بودند از دیدن اشکال بی دم این نظریه پیدا شد که بعضی از فاژها واجد دم و برخی فاقد آن می باشند. ولی تحقیقات اخیر نشان داد که دم برای فعالیت اصلی باکتریوفاز الزامی است و همه آنها در هنگام بوجود آمدن دارای دم هستند ولی بعداً بر اثر پیری و یا ضربه دم خود را از دست میدهند. در موقع آماده کردن فاژ برای مطالعه با میکروسکپ الکترونیک اخیراً متدهائی بکار می برند که حتی المقدور از دفرمه شدن شکل ظاهری فاژ جلوگیری شود با بکار بستن این متدها Fraser و Williams عکس های دقیق و جالبی از شکل ظاهری باکتریوفاز بدست آوردند که نشان می دهد سر باکتریوفاز گرد نبوده بلکه چند وجهی است و در آن چند توده متراکم دیده میشود. سر، دم، مربوط است که تراکم آن از سر کمتر میباشد و از امتداد پوشینه پروتئینی یا کاپسید سر بوجود آمده و انتهای آن چندین شاخه می گردد. در برخی از باکتریوفازها در انتهای دم صفحه ای وجود دارد که به آن تعدادی دنباله متصل میگردد باکتریوفازها بوسیله صفحه وزواندی که در انتهای دم خود دارند به باکتریها اتصال پیدا می کنند. مسئله مطالعه در باره این زوائد حیرت آور 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 سر 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 آمینواسیدها و یا مشابهین آنها و داروهای آنتی متابولیک باعث تغییراتی در فرم سروغلاف لوله وزواند انتهای فاژ ملاحظه گردیده است.

اندازه باکتریوفازها متغیر بوده برای فرم های کوچک این اندازه بین ۸-۱۲ میلی مو 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 و کامل ساختمان شیمیائی باکتریوفاز گردیده است از تحقیقات جدیدی که در خصوص ساختمان باکتریوفاز انجام گرفته است میتوان از کارهای Davidson و Bradley در سال ۱۹۶۳ نام برد. باکتریوفازها مانند تمام ویروسها قسمت اعظم آنها از نوکلئوپروتئینها بوده که اسید هسته ای آن DNA میباشد و تقریباً ۴۰ درصد وزن باکتریوفاز را تشکیل میدهد و تمام خواص بیولوژیکی فاژ مربوط به این اسید می باشد اگر این اسید را از فاژ جدا کنیم و خالص بدست آوریم قادر است که باکتری حساس خود را

آلوده کرده و تولید فاژ کامل نماید. DNA از يك پوشینه پروتئینی پوشیده شده است که امتدادش دم را درست می کند. اسید آمینه‌هایی که این پروتئین را درست می کنند هم آنهایی هستند که در باکتری حساس مشاهده میشوند در باکتریوفاژ علاوه بر DNA مقدار بسیار کمی هم RNA وجود دارد که ممکن است جزء ساختمانش نباشد بلکه مربوط به باکتری بوده که در آن داخل گردیده است در بعضی مواقع هم در فاژ بعضی از مواد مشکله اسید های نوکلئیک دیده میشوند که عبارتند از باز های پوریک یا پریمیدیک که امکان دارد از هیدرولیز DNA حاصل شده باشند. اسید نوکلئیک های باکتریوفاژ ها گاهی يك رشته‌ای و گاهی دو رشته‌ای میباشند علاوه بر مواد یاد شده در ساختمان بعضی از باکتریوفاژ ها 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 در چه جایی یافت میشود یکی از خصوصیات مهم باکتریوفاژ مانند ویروسها بیوترویسم آن میباشد و از این نظر جز در درون باکتریهای زنده و در حال رشد قادر به ادامه حیات و تولید مثل نیست لذا آنها را در محیط هائی میتوان یافت که آلوده به میکروب باشند بنا بر این انتشارش در طبیعت زیاد بوده و میتوان آنرا تقریباً به آسانی از مدفوع انسان و جانوران مختلف از قبیل خوکچه هندی، خرگوش، مرغ، فاضل آب، آب رودخانه و استخر، خاک، پهن، گیاهانی که در حال پوسیدن هستند و یا چرک و سوشهای لیزوژن، ترشحات و مواد دفع شده قسمت های مختلف انسان بدست آورد بین مواد یاد شده اهمیت فاضل آب برای بدست آوردن فاژ از همه بیشتر بوده و میتوان آنرا منبع سرشاری برای فاژ باکتریهای متعدد شمرد.

برای جدا کردن باکتریوفاژ از فاضل آب چنانچه نمونه برداشت شده دارای ماده جامد زیادی نباشد آنرا از کاغذ صافی معمولی گذرانده و به مایع صاف شده با اندازه حجم آن آبگوشت اضافه و مجموع را روی شمع شامبرلان یا سایر صافی های باکتریولوژیک صاف می کنیم و مایع صاف شده را در حرارت ۴- درجه نگاه میداریم. در صورتیکه نمونه برداشت شده ماده جامد زیادی داشته باشد ابتدا آنرا از لایه چند لایه گاز گذرانده و سپس از جدار کاغذ صافی میگذرانیم و یا اینکه نمونه را مدت ۱۵ دقیقه با سرعت دو هزار دور ساترینفوژ کرده و از مایع روشن شده رو برای گذراندن از جدار کاغذ صافی استفاده می کنیم. در مورد جدا کردن فاژ از مدفوع انسان یا حیوانات و یا از گیاهان که در حال پوسیدن هستند مقداری از ماده را در هاون ریخته و پس از اضافه کردن آبگوشت آنرا خوب میسائیم و سپس مخلوط را چند ساعت در حرارت ۴- درجه سانتیگرادی حرکت می گذاریم تا مواد جامد ته نشین شوند. آنگاه مایع روی رسوب را برداشته ابتدا از جدار کاغذ صافی و سپس بوسیله شمع شامبرلان صاف می کنیم و مایع از صافی گذشته را تا شروع قسمت دوم عملیات در یخچال نگاه میداریم:

اگر جدا کردن باکتریوفاژ از خاک مورد نظر باشد تقریباً مقدار ۴۰ گرم از خاک را

- 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 - کلیات ویروسها : پلی کپی کنفرانسه‌های دکتر فرج‌الله شفا- آبان ماه ۱۳۴۶