

# Utjecaj bakteriofaga na patogenost bakterija

---

**Puzek, Barbara**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:561442>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-15**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK

**UTJECAJ BAKTERIOFAGA NA  
PATOGENOST BAKTERIJA**  
THE IMPACT OF BACTERIOPHAGES ON  
BACTERIAL PATHOGENICITY

ZAVRŠNI SEMINARSKI RAD

Barbara Puzek

Preddiplomski studij molekularne biologije

Undergraduate Study of Molecular Biology

Voditelj: izv. prof. dr. sc. Ivana Ivančić Baće

Pomoćni voditelj: Marin Radovčić, mag. biol. mol.

Zagreb, 2019.

# Sadržaj

1.	Uvod .....	1
2.	Raznolikost mehanizama kojima bakteriofagi utječu na patogenost bakterija .....	2
	2.1 Proteini kodirani genima profaga doprinose patogenosti bakterija .....	3
	2.2 Virusne čestice pomažu patogenosti bakterija.....	5
3.	Posljedice odnosa bakteriofaga i patogenih bakterija na liječenje bakterijskih bolesti..	8
4.	Zaključak .....	9
5.	Sažetak.....	10
6.	Summary.....	10
7.	Literatura .....	11

# 1. Uvod

Bakteriofagi (fagi) su virusi bakterija. Fagi ne vrše metaboličke procese i ne mogu se sami umnožavati. Tome im služe bakterije, čija stanična mašinerija proizvodi komponente novih čestica faga. Misli se da su najbrojniji entiteti na Zemlji, jer ih u uzorcima iz okoliša obično ima 10 puta više nego bakterija, a samo broj faga s repom procijenjen je na  $10^{30}$  čestica na Zemlji<sup>1</sup>. Međunarodni odbor za taksonomiju virusa (eng. *International Committee on Taxonomy of Viruses*, ICTV) i njegov Pododbor za bakterijske i arhejske viruse (*Bacterial and Archaeal Viruses Subcommittee*, BAVS) prema morfološkim i molekularnim kriterijima predlažu klasifikaciju bakterijskih virusa, koja je u izvješću iz 2015. obuhvaćala 14 podobitelji, 204 rodova i 873 vrsta<sup>2</sup>. Fagi su građeni od nukleinske kiseline (jednolančane ili dvolančane DNA ili RNA) i proteinske ovojnice kapside. Neki fagi nemaju pravilnu kapsidu (obitelji *Plasmaviridae*, *Fuselloviridae*), a kapsida nekih faga osim proteina sadrži i lipide<sup>3</sup>.

Osim što su morfološki raznoliki, postoji i velika raznolikost životnih ciklusa faga. Ipak, životni ciklus faga ugrubo se može podijeliti u tri dijela: adsorpciju, tj. prihvaćanje za bakterijsku stanicu, infekciju i otpuštanje novih virusnih čestica<sup>3</sup>. U slučaju nekih faga, odmah nakon adsorpcije, bakterijske polimeraze i ribosomi stvaraju sastavne dijelove novih čestica faga i enzime koji uzrokuju lizu stanice i otpuštanje virusnog potomstva u okoliš. Takve fage naziva se virulentnim, a opisani proces litičkim ciklusom. S druge strane, nakon adsorpcije, nukleinska kiselina umjerenih (eng. *temperate*) faga može se cirkularizirati i mirovati u citoplazmi ili se ugraditi u bakterijski genom (profag) i tako se prenositi vertikalno, diobom bakterija. Taj dio životnog ciklusa naziva se lizogeni ciklus. Životni ciklus umjerenih faga završava litičkim ciklusom, kao i kod virulentnih faga. Ponekad slučajnošću neki bakterijski geni postanu dio nove virusne čestice, prilikom sastavljanja, i mogu se unijeti u sljedeću bakteriju koju fag inficira. Takav prijenos bakterijskih gena naziva se transdukcija i jedan je od oblika horizontalnog prijenosa gena, koji je jedan od pokretača evolucije bakterija.

Evolucija bakterija odvija se u dvije brzine. Spontane ili inducirane mikro- i makrolezije u bakterijskom genomu fiksiraju se u populacijama ako pružaju povećanu sposobnost opstanka (eng. *fitness*), što je spori proces, koji se prati na vremenskoj skali milijuna godina. Brzi proces, koji se događa u vremenskom okviru godine ili desetljeća horizontalni je prijenos gena. Horizontalni prijenos gena premošćuje izostanak izmjene alela u populacijama bakterija, koji je rezultat njihovog nespornog načina razmnožavanja, a dijelom se odvija i putem faga. Učestalost genetičke modifikacije bakterija fagima procjenjuje se na

$20 \times 10^{15}$  događaja u sekundi<sup>4</sup>. Velik broj modifikacijskih događaja, zajedno s brojnošću bakterija u okolišu, pruža bakterijama izrazitu plastičnost i mogućnost da u kratkom vremenskom razdoblju postanu prilagođene na najrazličitije ekološke niše, uključujući i tijela vrsta koja su se tek nedavno pojavila u biosferi (pr. *Homo sapiens*)<sup>5</sup>.

Fagi utječu na brojne dijelove bakterijskog životnog ciklusa: metabolizam, replikaciju, sporulaciju, otpornost na štetne čimbenike iz okoliša, toksičnost za druge stanice, obranu od drugih faga, pokretanje, stvaranje biofilmova i međustaničnu komunikaciju bakterija (eng. *quorum sensing*)<sup>6</sup>. Promjena u jednom ili više ovih čimbenika može učiniti bakteriju štetnom za domaćina u kojem obitava i uzrokovati njegovu bolest. Takvu bakteriju nazivamo patogenom.

## **2. Raznolikost mehanizama kojima bakteriofagi utječu na patogenost bakterija**

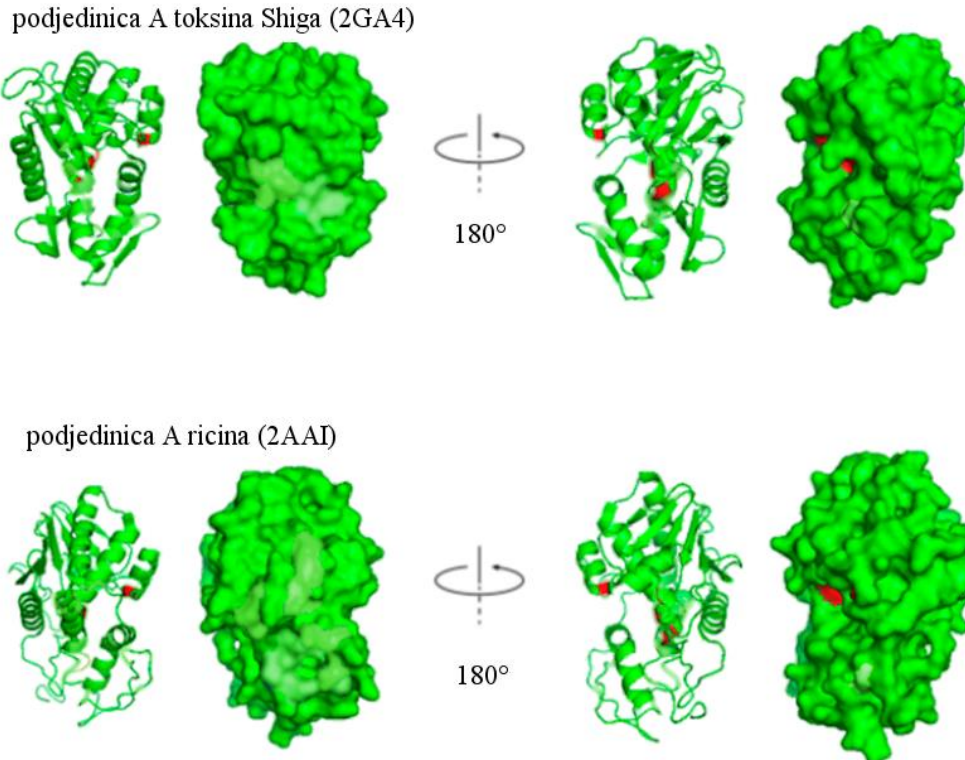
Fagi mogu povećati sposobnost patogeneze, a time često i sposobnost opstanka, neke bakterije ili nekog njenog soja na mnoge načine. Fag može nositi uputu za proizvodnju tvari koje se izlučuju iz bakterije i mijenjaju fiziologiju domaćina na način da to pogoduje patogenezi (onesposobljavanjem ribosoma, utjecajem na putove prijenosa signala, rearanžmanima citoskeleta) (Potpoglavlje 2.1). Proteini kodirani genima faga ne moraju se izlučivati iz bakterijske stanice, već mogu postati i njen dio (površinski antigeni ili molekule koje služe pričvršćivanju bakterija za domaćina ili drugu bakteriju) (Potpoglavlje 2.1). Sam fenomen ugradnje faga u bakterijski kromosom može pridonijeti sposobnosti opstanka i patogenosti bakterije. Profag često sprječava superinfekciju fagima i ulazak bakterije u litički ciklus i služi kao mjesto inicijacije rearanžmana bakterijskog kromosoma.

Utjecaj faga na patogenost bakterija u literaturi se često ograničava na utjecaj umjerenih faga, odnosno ugradnje nekih određenih umjerenih faga u genom bakterija. Međutim, pokazano je i da prisustvo cijelih čestica faga u okolišu može pridonijeti sposobnosti bakterija da uzrokuju bolesti, ili da uzrokuju teže oblike iste bolesti. Pokazano je na primjeru faga Pf da se može modulirati imunosti sustav domaćina, tako da se inducira protuvirusni umjesto protubakterijskog odgovora, a organizacija čestica faga u pravilne strukture također pomaže patogenezi bakterije *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), u kojoj se fag Pf i umnožava (Potpoglavlje 2.2).

## 2.1 Proteini kodirani genima profaga doprinose patogenosti bakterija

Prvi otkriveni modulatori bakterijske patogenosti bili su egzotoksini kodirani genima faga. Poznate bakterije čija patogenost je omogućena ili pojačana toksinima kodiranim genima faga su bakterija *Escherichia coli* (*E. coli*), bakterija *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*), bakterije rodova *Clostridium*, *Pseudomonas* i dr.

Dobro je istražen mehanizam djelovanja toksina Shiga (eng. *Shiga toxin*, Stx). Holotoksin sadrži jednu podjedinicu A i 5 podjedinica B koje čine pentamerni prsten (toksin tipa AB<sub>5</sub>)<sup>7</sup>. Profag sličan fagu lambda, ugrađen u genom nekih seroloških grupa *E. coli* ili bakterije *Shigella dysenteriae* tip 1, sadrži operon *stx* u kojem se nalaze geni za podjedinice A i B toksina. Podjedinica A ima N-glikozidaznu aktivnost i cijepa adenin na 28S ribosomskoj RNA 60S podjedinice ribosoma, čime se prekida sinteza proteina i inducira apoptoza u stanicama zaraženog domaćina<sup>8</sup>. Zanimljivo, ricin, toksin biljnog podrijetla, ima jednu podjedinicu A koja vrši katalitičku aktivnost istu kao i podjedinica A bakterijskog toksina<sup>9</sup> (**Slika 1.**) i jednu podjedinicu B, koja kod oba toksina sudjeluje u prihvaćanju za stanicu, endocitozi i transportu toksina<sup>11</sup>.



**Slika 1.** Kristalne strukture podjedinica A bakterijskog toksina Shiga i biljnog toksina ricina. Crveno su označena aktivna mjesta podjedinica. Kod u zagradama označava pristupni broj unosa strukture u bazi Protein Data Bank (PDB). Preuzeto i prilagođeno iz Li i Tumer 2017<sup>10</sup>.

Razjašnjen je mehanizam još jednog toksina tipa AB<sub>5</sub>, toksina kolere. Stvaranje toksina, kodiranog genima *ctxA* i *ctxB* profaga CTXΦ, preduvjet je za najteže oblike bolesti koje uzrokuje *V. cholerae*. Pentamerni prsten podjedinica B veže receptor na epitelnim stanicama crijeva domaćina, a podjedinica A omogućava transfer ADP-riboze na G-protein koji modulira aktivnost adenilat-ciklaze<sup>3</sup>. Pojačana aktivnost adenilat-ciklaze povećava koncentraciju cikličkog AMP-a u stanici, što dovodi do izlučivanja velike količine kloridnih iona i vode iz epitelih stanica u lumen tankog crijeva i posljedično, snažnu dijareju koja dovodi do dehidracije opasne po život.

Geni nekih profaga kodiraju za proteine koji moduliraju prijenos signala, rearanžmane citoskeleta, vezikularni transport i autofagiju domaćinske stanice, a u domaćinsku stanicu unose se putem sekrecijskog sustava tipa III, pa ih nazivamo efektorima tipa III<sup>12</sup>. Primjer efektor tipa III je protein SopE, koji nekovalentno veže RhoGTPazu i aktivira RhoGTP signalni put u eukariotskim stanicama, što uzrokuje nabiranje membrane domaćinske stanice i ulazak bakterije u stanicu domaćina<sup>13</sup>.

Bakteriofagi mogu nositi gene koji kodiraju za proteine na površini bakterijske stanice. Analizom genoma bakterije *Neisseria meningitidis* pronađeni su profagi slični fagu Mu iz bakterije *E. coli*, čije sekvence sadrže tri gena koji kodiraju za antigene na površini bakterijske stanice koji induciraju baktericidna protutijela<sup>14</sup>. Osim što profagi kodiraju za površinske antigene bakterija, mogu i modificirati postojeće antigene kodirane bakterijskim genima. O-Antigeni su komponenta površinskog lipopolisaharida (LPS) Gram-negativnih bakterija i važna odrednica virulencije bakterije. Pronađeni su fagi koji kodiraju za proteine koji sudjeluju u glukozilaciji i O-acetilaciji O-Antigena, čija promjena uzrokuje promjenu serotipa i potencijalno promjenu virulencije bakterije<sup>15</sup>.

Prihvatanje za stanicu domaćina također je proces koji može biti potpomognut proteinima kodiranim genima faga. Vezanje bakterija *Streptococcus mitis* na trombocite, primjerice, ima centralnu ulogu u patogenezi infektivnog endokarditisa<sup>16</sup>. Ključni faktori u vezanju bakterije i trombocita su proteini PbIA i PbIB, za koje je pokazano da su kodirani genima profaga SM1 i, osim uloge u vezanju trombocita, bitni su za normalnu morfogenezu repa virusnih čestica ovog faga<sup>17</sup>.

Bakterije su tijekom patogeneze izložene brojnim štetnim tvarima, produktima metabolizma ili imunskog sustava organizma domaćina. Pokazano je da je 9 kriptičkih profaga u genomu *E. coli* K-12 BW25113 odgovorno za preživljavanje subletalnih doza nekih

antibiotika i otpornost na oksidativni, osmotski i kiselinski stres<sup>18</sup>. Također, u genomu bakterije *Salmonella typhimurium* pronađena je sekvenca nalik fagu lambda s genom *sodC* koji kodira za superoksid dismutazu s cinkom i bakrom kao kofaktorima (eng. *Cu,Zn-superoxide dismutase*, Cu,Zn-SOD), koja prevodi superoksidni radikal u vodikov peroksid. Soj MF1005 bakterije *Salmonella typhimurium*, u kojem je Cu,Zn-SOD eksprimiran bez zadnjih 14 aminokiselina na C-terminalnom kraju proteina, slabije preživljava u makrofagima, manje je virulentan u miševima i podložniji je tretmanu superoksidom i dušikovim monoksidom<sup>19</sup>. Bakteriofagi sudjeluju i u antimikrobnoj rezistenciji (AMR), otpornosti bakterija na antimikrobna sredstva. Metagenomskim analizama viroma utvrđeno je postojanje gena koji sudjeluju u AMR u različitim okolišima: vodi, fekalijama i plućima pacijenata oboljelih od cistične fibroze<sup>20</sup>.

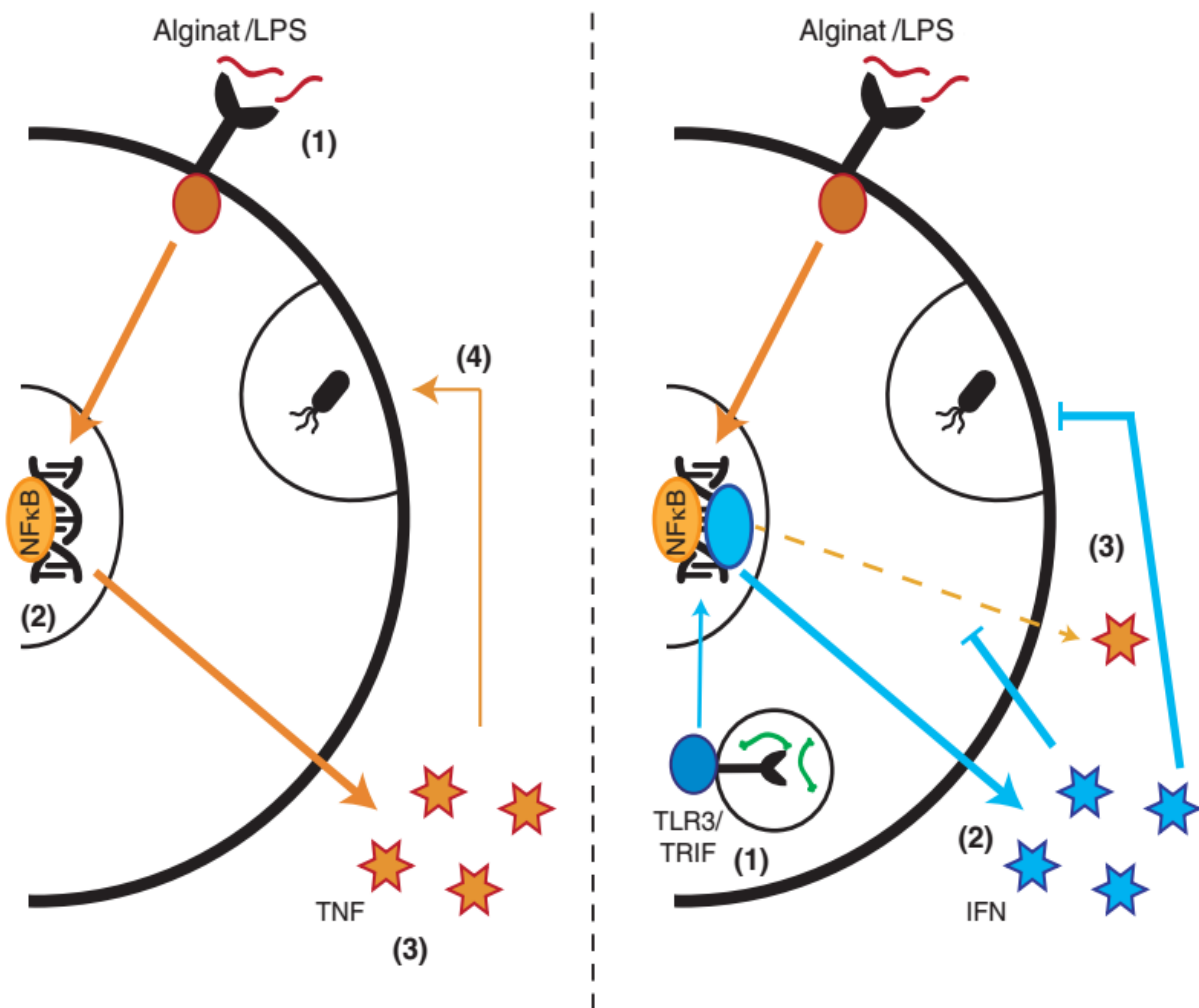
Osim što proteini kodirani genima faga bakteriji mogu pružiti prednost u okolišu punom tvari štetnih za bakterijsku stanicu, u novije vrijeme pokazano je da mogu utjecati i na imunski odgovor domaćina, prije nego što se toksični produkti imunskog sustava uopće proizvedu. Eksperimentom kojim je uspoređen put prijenosa signala fosfatidilinozitol 3-kinaza/ jezgrin faktor-kapa B (eng. *phosphatidylinositol 3-kinase/ nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, PI3K/NF-κB) u stanicama zaraženim virulentnim sojevima *E. coli* sa i bez Stx, pokazano je da toksin Shiga inhibira navedeni put prijenosa signala, ključan u aktivaciji faktora upale u staničnim linijama epitela crijeva zaraženim visokovirulentnim sojevima *E. coli*<sup>21</sup>. Dodatno, istraživanja u drugačijim tipovima stanica pokazala su aktivaciju, umjesto inhibicije, ovog puta prijenosa signala toksinom Shiga<sup>11</sup>.

## 2.2 Virusne čestice pomažu patogenosti bakterija

Iscrpno je istražen i utjecaj faga Pf4 na komponente imunskog odgovora. Pf4 je umjereni fag koji se može ugraditi u bakterijski kromosom *P. aeruginosa* i postojati u obliku profaga, ili u obliku slobodnih, filamentoznih virusnih čestica<sup>22</sup>. Pronađena je veza između postojanja faga Pf u ranama inficiranim s *P. aeruginosa* i smanjenog broja bakterija potrebnih za infekciju rane i povećane smrtnosti u miševa<sup>23</sup>. Također, pokazana je 10 puta smanjena sposobnost makrofaga miševa i ljudi da fagocitiraju *P. aeruginosa*, u prisutnosti faga Pf4. Predložen je i model kojim se ovaj efekt objašnjava: u odsustvu čestica faga Pf4 u dendritičkim stanicama, alginat i LPS, tvari bakterijskog podrijetla koje stimuliraju imunski odgovor, detektiraju se na površini dendritičkih stanica, što uzrokuje premještanje kompleksa



NF- $\kappa$ B i lučenje faktora nekroze tumora (TNF) koji potiče fagocitiranje bakterija. Suprotno, u prisutnosti čestica faga Pf4 u dendritičkim stanicama, aktivira se put prijenosa signala receptor 3 sličan Tollu/adapter koji sadrži domenu TIR i inducira interferon beta (eng. *Toll-like receptor 3/TIR domain-containing adapter inducing interferon- $\beta$* , TLR3/TRIF), potiče se stvaranje interferona (IFN) tipa 1, koji smanjuje lučenje TNF-a, a time i fagocitozu bakterija (Slika 2.)<sup>23</sup>.



**Slika 2.** Predloženi model utjecaja virusnih čestica faga Pf4 na imunski odgovor domaćina. U odsustvu čestica faga Pf4 (lijevo) (1) alginat i LPS detektiraju se na površini dendritičkih stanica, (2) premješta se NF- $\kappa$ B kompleks, (3) luči se TNF (4) koji potiče fagocitozu. U prisustvu čestica faga Pf4 u dendritičkim stanicama (desno) (1) aktivira se put prijenosa signala TLR3/TRIF što potiče (2) stvaranje IFN tipa 1 koji (3) smanjuje lučenje TNF-a, a time i fagocitozu bakterija. Preuzeto i prilagođeno iz Sweere i sur. 2019<sup>24</sup>.

Istraživači su do ovog modela došli korištenjem nekoliko različitih tehnika. Prvo, imunoenzimskom metodom ELISA (eng. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) spektrofotometrijski su odredili količine TNF-a u supernatantu kulture mišjih leukocita, uzgajanih sa i bez čestica faga Pf4. Količina IFN tipa 1 određena je pomoću stanične linije ISRE-L929, mišjih fibroblasta transfeciranih konstruktom za luciferazu osjetljivu na IFN. Stanice ISRE-L929 inkubirane su sa supernatantom kulture mišjih leukocita u kojem se nalazi IFN. Aktivnost luciferaze proporcionalna je količini IFN u supernatantu, i detektirana je preko luminiscencije, razgradnjom reagensa Bright-Glo (Promega). Sudjelovanje puta prijenosa signala TLR3/TRIF u imunomodulaciji pokazano je korištenjem mišjih fagocitirajućih stanica u kojima su izbačene obje kopije gena za pojedinačne komponente tog puta. Unose li se čestice faga Pf4 u endosome endocitozom praćeno je inkubacijom mišjih fagocitirajućih stanica s fluorescentno obilježenim fagom Pf4, koje su zatim analizirane protočnom citometrijom, imunocitokemijski i transmisijskom elektronskom mikroskopijom. Pokazano je da je Pf4 unesen u stanice, kolokaliziran s TLR3 i da se nalazi u endosomima, lizosomima i citoplazmi stanica. Smanjen unos faga Pf4 nakon tretmana stanica inhibitorima vezikularnog transporta (brefeldin A), receptorom posredovane endocitoze (wortmannin) i sastavljanja mikrotubula (nokodazol) potvrđuje pretpostavke o unosu faga Pf4 u mišje fagocitirajuće stanice endocitozom. Unos Pf4 u stanice pokazan je i za druge mišje i ljudske imunosne stanice (pr. monociti, stanice B).

Bakterije *P. aeruginosa* izolirane iz pluća pacijenata s cističnom fibrozom, zaražene fagom Pf, otpornije su i na neke antipseudomonasne antibiotike<sup>24</sup>. *In vitro* je pokazano da fag Pf pomiješan s polimerima koje proizvode bakterija i domaćin (pr. glikozaminoglikan hijaluronska kiselina) potiče nastanak visoko uređenih struktura tekućeg kristala<sup>25</sup>. Takve strukture omogućuju uređeniji bakterijski biofilm i njegovo bolje prianjanje na površinu, veću viskoznost i bolje podnošenje isušivanja. Najzanimljivije, unutar mreže biofilma (eng. *biofilm matrix*) veže se i negativno nabijena DNA, koja veže pozitivno nabijene aminoglikozidne antibiotike (tobramicin, ciprofloksacin), što smanjuje njihovo djelovanje, smanjivanjem prodora antibiotika do bakterija i njihovom olakšanom razgradnjom<sup>25</sup>.

### 3. Posljedice odnosa bakteriofaga i patogenih bakterija na liječenje bakterijskih bolesti

Istraživanja utjecaja bakteriofaga na patogenost bakterija iznjedrila su važan zaključak: s obzirom da su bakteriofagi ključni faktori u nekim bakterijskim bolestima, pri liječenju bolesti uzrokovanih bakterijama, treba napraviti pomak od koncepta interakcije domaćin-bakterija prema konceptu interakcije domaćin-bakterija-fag<sup>5</sup> i prepoznati faga kao mogući cilj terapije. To je posebno važno u slučajevima u kojima se antimikrobne tvari ne mogu koristiti za liječenje.

Prvi takav slučaj je ako postoji rezistencija bakterija na široki spektar antimikrobnih tvari, a drugi slučaj je ako je proizvodnja egzotoksina dio bakterijske patogeneze, pri čemu se ne preporučuje korištenje antimikrobnih tvari koje mogu dovesti do indukcije profaga i pojačanog stvaranja toksina<sup>26</sup>. Primjerice, pri liječenju hemolitičko-uremičkog sindroma, kojeg uzrokuje *E. coli* koja stvara toksin Shiga, jedan od pristupa je neutralizacija toksina protutijelima<sup>27</sup>. Alternativno, znanje o mehanizmu stvaranja toksina genima profaga moglo bi se upotrijebiti na način da se spriječi stvaranje toksina uopće, dostavljanjem oligonukleotida *antisense* transkriptu za toksin ili posebnih represora. Mogu se i protutijelima blokirati receptori za fag na površini bakterija i tako spriječiti horizontalni prijenos gena faga za neko svojstvo koje olakšava patogenezu (geni za antimikrobnu rezistenciju ili otpornost na tvari u okolišu).

Osim proteina kodiranih genima profaga, cijele virusne čestice mogu biti faktori koji pridonose patogenosti bakterije. U tom slučaju, terapija bi mogla ciljati virusne čestice, npr. protutijela koja vežu određeni dio čestice i smanjuju efekt koji fag može imati na imunski sustav domaćina. Također, za bolesti kakve su infekcije s *P. aeruginosa*, koje u velikoj mjeri ovise o stvaranju biofilmova, a pri čemu fagi mogu sudjelovati u stabilnosti tih biofilmova, ciljanje čestica faga ili drugih komponenata biofilma za koje se fag veže, može biti dobra strategija u terapiji. Zaključno, bakteriofagi predstavljaju vrijednu moguću treću metu terapije, u doba širenja antimikrobne rezistencije i kod specifičnih bolesti kod koje se antimikrobna terapija ne može koristiti.

## 4. Zaključak

Bakteriofagi su značajan faktor u evoluciji bakterija. Ovisno o tipu životnog ciklusa faga, mogu pokrenuti lizu bakterije odmah nakon infekcije, ili mirovati u citoplazmi ili genomu bakterije prije nego što pokrenu lizu bakterije i stvaranje novih virusnih čestica. Prilikom sastavljanja, neki bakterijski geni postanu dio nove virusne čestice i mogu se unijeti u sljedeću bakteriju koju fag inficira i tako izvrši horizontalni prijenos gena. Ovi mehanizmi, bitni za evoluciju bakterija općenito, primjenjivi su i na evoluciju patogenosti bakterija.

Geni profaga mogu nositi informaciju za proteine koji bakteriji mogu omogućiti uzrokovanje bolesti domaćina. To mogu biti tvari koje utječu na ribosome, citoskelet, signalne puteve stanice domaćina. Također, fagi mogu nositi i gene za antigene na bakterijskoj stanici ili enzime koji mijenjaju bakterijske antigene. Geni faga kodiraju i za proteine koji pomažu pri odgovoru na okolišni stres, npr. enzime koji razgrađuju štetne produkte imunosnog sustava domaćina. Ako se dogodi indukcija profaga, svi geni profaga prenose se u druge bakterije i omogućuju brzu evoluciju novih osobina, pa tako i patogenosti. Cijele čestice faga također mogu koevoluirati s bakterijama, tako da njihov utjecaj na okoliš ili imunosni sustav domaćina omogući bakterijama uzrokovanje bolesti.

Činjenica da u nekim slučajevima bakterije ovise o genima bakteriofaga, ili o česticama faga, da bi izazivale bolest, dobro je došla u kontekstu antimikrobne rezistencije i nemogućnosti liječenja nekih specifičnih bolesti antimikrobnim tvarima. U tom slučaju bakteriofag je dodatna karika u lancu patogeneze koja može biti cilj terapije bakterijskih bolesti.

## 5. Sažetak

Mogućnost bakterija da uzrokuju bolest (patogenost) često ovisi o bakteriofagima (fagima). Fagi mogu nositi gene za proteine koje, kad se fag ugradi u bakteriju, može sintetizirati stanična mašinerija bakterije i koji joj mogu biti korisni ili čak neophodni u nekom od koraka patogeneze (primanje za domaćina, mijenjanje signalnih puteva i citoskeleta domaćina, preživljavanje imunskog odgovora). Osim proteinskih produkata kodiranih genima faga, u patogenezi bakterija mogu sudjelovati i cijele čestice faga, modulirajući imunski odgovor domaćina ili propagirajući nastajanje stabilnih biofilmova. U slučaju bolesti uzrokovanih bakterijama otpornim na antimikrobna sredstva ili bolesti koje se ne mogu kontrolirati antimikrobnim sredstvima, a koje ovise o genima ili česticama faga, fag može biti dobra meta terapije.

## 6. Summary

Bacterial pathogenicity, the ability of bacteria to cause disease, is often dependent on bacteriophages (phages). Phages can carry genes that code for proteins that can be synthesized by the bacterial cell machinery upon integration of the phage into the genome and can be of use or even essential during pathogenesis (for host-adhesion, altering signalling pathways and host cytoskeleton, immune response-survival etc.). As well as phage-encoded-proteins, phage particles can also contribute to pathogenesis, by modulating the immune response or promoting biofilm assembly and stability. Phages can be a good therapy target, in diseases that depend on phage genes or particles, if antimicrobial therapy is not possible due to antimicrobial resistance or the specifics of the disease.

## 7. Literatura

1. Brüssow, H. & Hendrix, R. W. Phage Genomics: Small Is Beautiful. *Cell* **108**, 13–16 (2002).
2. Adriaenssens, E. & Brister, J. R. How to Name and Classify Your Phage: An Informal Guide. *Viruses* **9**, (2017).
3. Abedon, S. T. *The Bacteriophages*. (Oxford University Press, 2005).
4. Bushman, F. *Lateral DNA Transfer: Mechanisms and Consequences*. (Cold Spring Harbor Laboratory Pr, 2001).
5. Brüssow, H., Canchaya, C. & Hardt, W.-D. Phages and the Evolution of Bacterial Pathogens: from Genomic Rearrangements to Lysogenic Conversion. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 560–602 (2004).
6. Hargreaves, K. R., Kropinski, A. M. & Clokie, M. R. Bacteriophage behavioral ecology. *Bacteriophage* **4**, (2014).
7. Fraser, M. E., Chernaia, M. M., Kozlov, Y. V. & James, M. N. G. Crystal structure of the holotoxino from *Shigella dysenteriae* at 2.5 Å resolution. *Nature Structural Biology* **1**, (1994).
8. Melton-Celsa, A. R. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. *Microbiol Spectr* **2**, (2014).
9. Saxena, S. K., O'Brien, A. D. & Ackerman, E. J. Shiga toxin, Shiga-like toxin II variant, and ricin are all single-site RNA N-glycosidases of 28 S RNA when microinjected into *Xenopus* oocytes. *J. Biol. Chem.* **264**, 596–601 (1989).
10. Li, X.-P. & Tumer, N. E. Differences in Ribosome Binding and Sarcin/Ricin Loop Depurination by Shiga and Ricin Holotoxins. *Toxins (Basel)* **9**, (2017).
11. Jandhyala, D. M., Thorpe, C. M. & Magun, B. Ricin and Shiga Toxins: Effects on Host Cell Signal Transduction. in *Ricin and Shiga Toxins: Pathogenesis, Immunity, Vaccines and Therapeutics* (ed. Mantis, N.) 41–65 (Springer Berlin Heidelberg, 2012).
12. Abe, A., Matsuzawa, T. & Kuwae, A. Type-III effectors: sophisticated bacterial virulence factors. *C. R. Biol.* **328**, 413–428 (2005).
13. Rudolph, M. G. *et al.* Biochemical Analysis of SopE from *Salmonella typhimurium*, a Highly Efficient Guanosine Nucleotide Exchange Factor for RhoGTPases. *J. Biol. Chem.* **274**, 30501–30509 (1999).
14. Massignani, V. *et al.* Mu-Like Prophage in Serogroup B *Neisseria meningitidis* Coding for Surface-Exposed Antigens. *Infect Immun* **69**, 2580–2588 (2001).

15. Allison, G. E. & Verma, N. K. Serotype-converting bacteriophages and O-antigen modification in *Shigella flexneri*. *Trends Microbiol.* **8**, 17–23 (2000).
16. Sullam, P. M. Host-pathogen interactions in the development of bacterial endocarditis. *Current Opinion in Infectious Diseases* **7**, (1994).
17. Bensing, B. A., Siboo, I. R. & Sullam, P. M. Proteins PblA and PblB of *Streptococcus mitis*, Which Promote Binding to Human Platelets, Are Encoded within a Lysogenic Bacteriophage. *Infection and Immunity* **69**, 6186–6192 (2001).
18. Wang, X. *et al.* Cryptic prophages help bacteria cope with adverse environments. *Nature Communications* **1**, (2010).
19. Groote, M. A. D. *et al.* Periplasmic superoxide dismutase protects *Salmonella* from products of phagocyte NADPH-oxidase and nitric oxide synthase. *PNAS* **94**, 13997–14001 (1997).
20. Davies, E. V., Winstanley, C., Fothergill, J. L. & James, C. E. The role of temperate bacteriophages in bacterial infection. *FEMS Microbiol Lett* **363**, (2016).
21. Gobert, A. P. *et al.* Shiga Toxin Produced by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Inhibits PI3K/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway in Globotriaosylceramide-3-Negative Human Intestinal Epithelial Cells. *The Journal of Immunology* **178**, 8168–8174 (2007).
22. Marvin, D. A., Symmons, M. F. & Straus, S. K. Structure and assembly of filamentous bacteriophages. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* **114**, 80–122 (2014).
23. Sweere, J. M. *et al.* Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science* **363**, (2019).
24. Burgener, E. B. *et al.* Filamentous bacteriophages are associated with chronic *Pseudomonas* lung infections and antibiotic resistance in cystic fibrosis. *Science Translational Medicine* **11**, (2019).
25. Secor, P. R. *et al.* Filamentous Bacteriophage Promote Biofilm Assembly and Function. *Cell Host & Microbe* **18**, 549–559 (2015).
26. Zhang, X. *et al.* Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *J. Infect. Dis.* **181**, 664–670 (2000).
27. Tzipori, S., Sheoran, A., Akiyoshi, D., Donohue-Rolfe, A. & Trachtman, H. Antibody Therapy in the Management of Shiga Toxin-Induced Hemolytic Uremic Syndrome. *Clinical Microbiology Reviews* **17**, 926–941 (2004).