

TERMOFİLİK FAJ TAKSONOMİSİ

Esra Acar Soykut^{*1}, Nezihe Tunail²

¹ Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

² Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 31.03.2008

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 04.05.2008

Kabul tarihi / Accepted: 16.05.2008

Özet

Bugüne kadar incelenmiş olan yaklaşık 5100 adet fajın çoğu, Bradley ve Ackermann sınıflamalarına göre Siphoviridae familyasında bulunmaktadır. Yoğurt yapımında kullanılan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşlarına özgül termofilik fajlar da ikosahedral kapside, kontraktil olmayan uzun kuyruğa sahip olmaları nedeniyle Bradley sınıflaması B grubuna ve lineer çift sarmal DNA içermelerinden dolayı Ackermann sınıflaması Siphoviridae familyasına dahil edilmişlerdir. Günümüzde fajlar, ICTV tarafından oluşturulan ve politetik türler kavramı olarak adlandırılan, nükleik asit doğası ve partikül yapısına ek olarak DNA-DNA hibridizasyonu, nükleotit veya aminoasit sekansları gibi parametrelerin de dikkate alındığı taşınabilir kriterler seti ile aileye kadar sınıflandırılabilir. Ayrıca fajlar, yapılan farklı araştırmalarda, konakçı özgüllükleri, restriksiyon endonükleaz kesim şablonları, DNA hibridizasyon ve sekans analizleri, yapısal protein profilleri ve serolojik test sonuçlarına göre sınıflandırılmakta ancak her bir çalışmada elde edilen sonuçlar kendi içinde değerlendirildikten sonra diğer çalışma sonuçları ile karşılaştırmaya çalışılmaktadır. Kullanılan kriterlerden çoğunun faj taksonomisine hizmet etmede yetersiz kaldığı, bununla beraber her türlü kriterin değerlendirilmeye çalışıldığı ayrıca bu konuda farklı yeni yaklaşımlar üzerinde durulduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, faj, sınıflama, Siphoviridae

TAXONOMY OF THERMOPHILIC PHAGES

Abstract

Approximately 5100 bacteriophages have been examined to date and most of these phages belong to Siphoviridae family according to the classification of Bradley and Ackermann. Thermophilic phages, specific for *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* strains which are used in yogurt production, are classified in B group of Bradley classification because of having icosahedral capsid and noncontractile long tail and are also classified in Siphoviridae family of Ackermann classification because of having linear double stranded DNA. Recently, phages are classified according to the polythetic species concept, developed by ICTV, which considers the properties of phages such as nucleic acid nature, particle structure, DNA hybridization, nucleotide and amino acid sequences. Besides, phages have been classified in various studies according to their restriction endonuclease and protein patterns, DNA-DNA hybridization, sequence analysis and serological properties, but, the results of these studies can be compared with each other after analyzed within the study. New classification approaches in which all kind of parameters are taken into account arouse interest as most of the methods used today do not correspond the requirements of phage taxonomy.

Keywords: *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, phage, classification, Siphoviridae

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ esraacar2@gmail.com, ☎ (+90) 312 297 7100, 📠 (+90) 312 299 2123

GİRİŞ

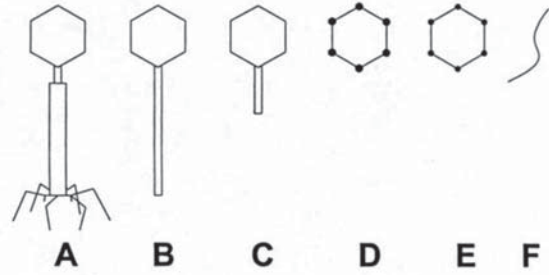
Fajların tanımlanması ve sınıflandırılması herşeyden önce fajların evrimsel gelişmelerinin açıklanması için gereklidir. Filogenetik çalışmaların yapılabilmesine olanak sağladığı gibi, tedavi ve endüstriyel amaçlı yararlı fajlar ile fermentasyon proseslerinde ortaya çıkan zararlı fajların bir sistematik içinde değerlendirilmesine de yardımcı olur (1). Starter kültürlerle etkili fajların tanımı ve sınıflandırılması ise genel taksonomik amacın yanısıra; uygulamada rotasyona sokulacak faja dirençli bakterilerin seçimi veya faj direnç genlerinin aktarımı ile suşlarda yeni gen organizasyonlarının oluşturulması çalışmalarına da hizmet eder. Faja dirençli laktik kültürlerin belirlenebilmesi herşeyden önce geniş bir faj koleksiyonunun varlığı ile mümkündür. Ancak bir bakteriye özgül fajlar çok fazla çeşitlilik gösterebileceği gibi içlerinde çok sayıda identik olanlar da bulunabilir. Laktik fajların aynı morfotipe sahip olmaları, onların identik veya identik olmadıklarının gösterilmesi için başka geçerli kriterlerin dikkate alınarak ayırt edilmelerini gerektirir. Bazen faj taksonomisi için hiç değer taşımayan konakçı dizgesi gibi bir özelliğe (2) veya ne denli değer taşıdığı tartışmalı olan protein profillerine, serolojik özelliklerine veya restriksiyon endonükleaz şablonlarına (2-15) göre yapılan sınıflandırma pratik açıdan faj koleksiyonlarının farklı faj tiplerine göre gruplandırılmasına yardımcı olabilir ve rotasyona girecek suşların farklı faj tiplerine direnç gösteren suşlar olarak seçilmesine imkan tanıyabilir (16).

Fajların ayırımında, gerek taksonomiye hizmet eden gerçek kriterler (17) gerekse araştırmalarda faj sınıflandırılmasında kullanılabilirliği test edilen ve tartışılan yetersiz kriterler bu makalenin konusunu oluşturmaktadır.

BAKTERİYOFAJ YAPILARI VE TAKSONOMİK DURUMLARI

Modern faj araştırmaları, keşfedildikleri 1915 yılında Frederick W. Twort ile başlamış, Felix d'Herelle ile devam etmiştir (18). Uzun yıllar sonra elektron mikroskopunda ve preparat hazırlama tekniklerinde kaydedilen gelişmeler sayesinde 1967 yılında Bradley, taşıdıkları nükleik asit tipine ve morfolojik yapılarına göre fajları 6 basit tipe (A - F) ayırmıştır. 1971 yılından bu yana geçerliliğini koruyan Bradley sınıflamasına göre; Şekil 1'de gösterildiği gibi T4, λ, PM2, ΦX174, MS2 ve fd fajları ile tem-

sil edilen 6 faj morfotipinin varlığı kabul edilmiştir (1). Daha sonra, fajların morfolojik özellikleri yanında nükleik asit yapılarının da dikkate alındığı "Ackermann Sınıflaması" olarak adlandırılan, diğer bir sınıflama modeli geliştirilmiştir (Çizelge 1) (19). 1959 yılından 1990 yılına kadar 3400 (20), günümüze kadar ise yaklaşık 5100 adet değişik bakteri türlerine özgül faj; dört yapısal gruba ayrılmış ve 1 takım, 13 aile ve 31 cins olarak karakterize edilmiştir (1, 21, 22).



Tip	Nükleik Asit	Özellik	Örnek
A	DNA, 2, L	Polihedral baş, uzun kuyruk etrafında kontraktıl kılıf kuyruk levhası (hegzagonal) kuyruk iğnesi ve fibrilleri	T2, T4, T6
B	DNA, 2, L	Polihedral baş, kontraktıl kılıfı olmayan uzun kuyruk	T1, T5, λ
C	DNA, 2, L	Polihedral baş, kontraktıl kılıfı olmayan kısa kuyruk	T3, T7, P22
D	DNA, 1, C	Kuyruksuz, ikosaedral baş, kapsid üzerinde çok büyük kapsomer	ΦX174, S13
E	RNA, 1, L	Kuyruksuz, ikosaedral baş, kapsid üzerinde çok küçük kapsomer	F2R17, Fr, MS2
F	RNA, 1, L	Fleksibl filamentöz	FE, fd, M13

1: Tek iplikçik L: Lineer

Şekil 1 Bradley sınıflaması

Virüslerin cins ve tür bazında ayırımı için belirgin bir kriter bulunmamaktadır. Bu nedenle ICTV (International Committee of Taxonomy of Viruses), sınıflama için uygun özellikleri belirlemekte ve taşıyabilir kriterler seti hazırlamaktadır. "Polythetic Türler Kavramı" denilen bu sistemde bir faj türü, belirlenmiş özelliklerden tamamını veya bir kısmını taşıyarak tanımlanabilmektedir. Nükleik asit doğası, partikül yapısı, DNA-DNA hibridizasyonu, nükleotit veya aminoasit sekansları gibi parametreler bu sınıflandırma sistemi için kullanılabilir. Şu anki sistem aileye kadar tanımlama yapabilmekte (Çizelge 1), daha ayrıntılı yani tür bazında sınıflandırmaya gidememektedir (17, 22).

Çizelge 1 Faj temel özellikleri ve sınıflaması (Ackermann Sınıflaması)

Morfoloji	Nükleik Asit	Takım ve Familyalar	Cins	Örnek	Üye Sayısı	Özellikleri
Kuyruklu	DNA, ds, L	Caudovirales	15		4950	
		Myoviridae	6	T4	1243	Kontraktıl Kuyruk
		Siphoviridae	6	λ	3011	Uzun Kuyruk
		Podoviridae	3	T7	696	Kısa Kuyruk
Polihedral	DNA, ss, C	Microviridae	4	ΦX174	40	Lipid İçeren Kompleks
		Corticoviridae	1	PM2	3?	Kapsid
	ds, L	Tectiviridae	1	PRD1	18	Lipoprotein Kaplı
		Leviviridae	2	MS2	39	Kapsid
		Cystoviridae	1	Φ6	1	Lipid Zarf
Filamentöz	DNA, ss, C	Inoviridae	2	fd	57	Uzun veya Kısa
		Lipothrixviridae	1	TTV1	6?	Filament
		Rudiviridae	1	SIRV1	2	Lipid Zarf
Pleomorfik	DNA, ds, C, T	Plasmaviridae	1	L2	6	Kapsid Yok, Lipid Zarf
		Fuselloviridae	1	SSV1	8?	Kapsid Yok, Limon Formlu

ds: çift sarmal; C: sirküler; S: parçalı; ss: tek sarmal; L: lineer; T: süper helikal

Kuyruklu Fajlar

Faj popülasyonunun %96'sını, 5100'e yakın üyesi ile 'kuyruklu fajlar' oluşturmaktadır (21-23). Kuyruklu fajlar, lineer çift sarmal DNA ve bu DNA'yı çevreleyen ikosaedral kapside ve helikal tasarımı düz görünüşlü uzun veya kısa kuyruğa sahiptirler. DNA büyüklükleri 17-500 kb, kuyruk uzunlukları da 10-800 nm arasında değişmektedir. Kapsidleri, "kapsomer" adı verilen alt ünitelerden, kapsomerler ise 5 veya 6 adet "protomer"den oluşmakta, kontraktıl veya kontraktıl olmayan kuyruklarının sonunda kuyruk plağı, kuyruk iğnesi ve/veya fibrilleri bulunabilmektedir (24, 25). Bu gruptaki fajlar, monophyletic bir evrim grubu oluşturmuş ve "Caudovirales" (Cauda= kuyruk) adlı tek bir takım içerisinde yer almışlardır. Bununla beraber bu fajlar; büyüklüklerinin, DNA içerik ve kompozisyonlarının, proteinlerinin, serolojik özelliklerinin, konakçı dizgeleri ve fizyolojilerinin farklılıklar göstermesi nedeniyle Myoviridae (%25), Siphoviridae (%61) ve Podoviridae (%14) familyaları (Bradley sınıflamasına göre sırasıyla A, B ve C grubu) içerisinde gruplandırılmıştır (Şekil 1 ve Çizelge 1) (21, 23). Kuyruklu fajlar, cos veya pac uca sahip olmalarına, DNA veya RNA polimeraz varlığına, farklı baz içermelerine, nükleotit dizileri ile konkatamer oluşumlarına bakılarak 15 cinse ayrılmıştır. Sınıflandırılmayı bekleyen çok sayıda faj bulunduğundan, var olan cinsler okyanustaki adalar gibi düşünülmektedir. Şu anda, izolasyonları gerçekleştirilen

len fajlardan sadece 250 adedinin tür bazında ayrımı yapılabilmektedir (1, 22).

DNA ve protein dizilerindeki farklılıklar, fajların çeşitliliğinin artmasına neden olmaktadır. Çift zincirli DNA'ya sahip kuyruklu faj genomları, yatay gen değişimleri (Horizontal Gene Exchange) nedeniyle mozaik yapıdadır ve ortak genlerinin de bulunduğu çok büyük bir havuza sahiptir. Yatay gen değişimi, iki faj genomunun homolog bölgelerindeki bazı DNA dizilerinin bir bölümünün değiş tokuş edilmesi şeklinde açıklanmaktadır (26, 27). Bu teori, 30 yıl önce geliştirilmiş klasik modüler değişimin güncellenmiş halidir (28). Genlerin yatay değişimi sonucunda, faj genomları kendilerine ait olmayan genleri profaj olarak bakteri genomuna taşımakta (29) ve kendi konakçılarının evrim geçirmelerine neden olmaktadır (26, 27).

Yoğurt yapımında starter kültür olarak kullanılan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşlarına özgül fajlar da kuyruklu fajlar arasında bulunmaktadır (11, 30, 31). Bu fajlar içerisinde ICTV kayıtlarına geçmiş, tüm genom dizi analizi yapılmış ve tanımlanmış sadece 7 adet *S. thermophilus* fajı bulunmaktadır (17). Dizi analizleri yapılarak karşılaştırılan bu fajların genomlarının, dört büyük parçadan oluştuğu düşünülmektedir. Segmentlerden biri, DNA paketleme genlerinden kuyruk genlerine kadar uzanan geç gen kümelerinden oluşmaktadır. Bu modülde iki farklı genom konfigürasyonu bulunmaktadır.

İlk modelde DNA yapışkan uca (cos-bölgesi) sahipken, diğerinde genomun küt uca (pac-bölgesi) sahip olduğu görülmektedir. Bu bölgelerin varlığına göre kuyruklu fajlar, sırasıyla Sfi21 (cos) ve Sfi11 (pac) tipi fajlar olarak birbirinden ayrılmaktadır. İkinci segment kuyruk fibrili, liziz ve lizogeni modüllerinden; üçüncü segment, DNA replikasyon modülünden, dördüncü segmenti ise, orta ve geç transkripsiyonlar için gerekli proteinlerden oluşmaktadır. Herbir segmentteki çeşitliliklerin, eklenme/ayrılma işlemlerinden veya nokta mutasyonlardan kaynaklandığı görülmüştür (28).

“pac” bölgeye sahip olan Sfi11 ve O1205 fajlarının yapısal gen organizasyonları, açık bir şekilde λ tipi fajlara benzemektedir. Sfi21 fajı ise, λ fajı ile DNA paketleme, kuyruk ve kapsid genlerinde birebir korelasyon göstermektedir. Ayrıca λ tipi yapısal gen kümeleri geniş bir evrimsel dağılıma sahip olduğundan, aynı genlere *Archaeovirus*'larda da rastlanmakta ve bu özellikte olan tüm fajlar, Siphoviridae λ süpergrubu içinde yer almaktadırlar (28, 30).

Sfi21-tipi (cos-bölgeye sahip) kuyruklu fajlar

S. thermophilus suşlarına özgül, cos- bölgeye sahip temperent Sfi21 faj genomu ile virulent Sfi19, DT1 ve 7201 faj genomları karşılaştırıldığında, lizogeni modülü dışında fajların genom haritalarının hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir (32). Bu fajlar, nokta mutasyonlar, küçük eklemeler ve ayrılmalar ile genlerin yer değiştirmesine bağlı olarak birbirlerinden farklılaşmışlardır (30, 33).

G-C oranı düşük gram pozitif bakterilere etkili olan fajlar ile farklı cinslere etkili olan diğer fajlardan, cos- bölgeye sahip olanların çoğunun da DNA dizi analizi yapılmış, Sfi21- tipi oldukları tespit edilmiş ve konakçıları arasındaki filogenetik ilişkiyi yansıttıkları görülmüştür (28). Sfi21 DNA'sı ile cos- bölgeye sahip diğer *S. thermophilus* fajlarının sekanslarının %80, *Lactococcus* BK5-T fajının DNA paketleme ve kapsid oluşumundan sorumlu gen dizilerinin ise %60 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu genlerin kodladığı proteinler incelendiğinde ise, tamamının benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca *Lactobacillus gasseri* adh, *Lactobacillus casei* A2, *Staphylococcus aureus* PVL, *Bacillus subtilis* Φ 105, *Clostridium perfringens* Φ 3626 fajları da Sfi21 fajı ile gösterdikleri benzerliklerden dolayı, bu grup içerisine dahil edilmiştir (29-31, 34).

Sfi11-tipi (pac-bölgeye sahip) kuyruklu fajlar

Sfi11 tipi fajları, genom yapılarının farklı olması dışında Sfi21 tipi fajlardan ayıran bir diğer özellik de, bir adet büyük kapsid proteini yerine iki adet kapsid proteini içermeleridir. Bu grupta yer alan *S. thermophilus* fajlarından O1205 temperent fajı, nükleotit analizine göre Sfi11 fajından sadece % 10 oranında farklıdır ve nokta mutasyonla gerçekleşen bu farklılık sadece bir gene özgüdür. Sfi21 grubunda olduğu gibi sadece *S. thermophilus* fajları değil, farklı konakçı türlerini infekte eden pac-bölgeye sahip *Streptococcus pyogenes* profajı, *Lactococcus* TP901-1 ve Tuc 2009, *Lactobacillus lactis* LL-H, *Lactobacillus plantarum* Φ gle, *Bacillus* SPP-1, *Listeria* A118 ve *S. aureus* ETA fajları da, Sfi11 pac-tipi fajlar grubu içerisinde yer almaktadır. Aynı konakçılara özgül fajlarda sekans benzerliğinin yüksek ve yaygın olduğu; farklı konakçılara özgül fajlarda ise birbirlerine özdeş genom haritaları taşıdıkları ve protein sekanslarında da yüksek benzerlik olduğu görülmüştür (29-31, 33-35). Yukarıda anlatılan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* dahil, süt endüstrisinde kullanılan diğer cins ve türlere ait fajların tamamının taksonomik durumları, Çizelge 2'de verilmiştir (30).

FAJ TAKSONOMİSİNE FARKLI BİR YAKLAŞIM

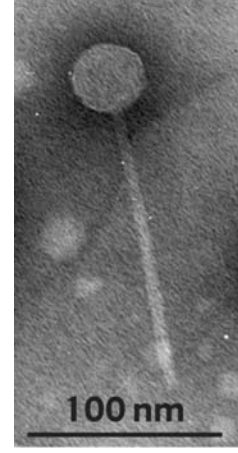
Fajların taksonomik durumlarının belirlenmesi için ikinci bir yol da, enzimlerini kodlayan genler arasında evrimsel bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır. Farklı organizmalardan izole edilmiş olsalar da, fonksiyonel açıdan birbiriyle alakalı olan DNA polimeraz, aerobik ve anaerobik ribonükleotidredüktaz, topoizomeraz II ve bunlar gibi birçok enzimin benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu konuyla ilgili sekans veri ve analizleri azdır. Ancak, çalışmalar genişleyerek devam etmekte ve farklı şablonlar ortaya çıkarılmaktadır. Şu ana kadar, beş adet DNA polimeraz ailesinin varlığı tespit edilmiştir ve bu aileler arasındaki benzerlikler azdır ya da hiç yoktur. T4 DNA polimeraz enziminin dahil edildiği grupta, ökaryotik hücre enzimleri ile arkebakterilere ait enzimler de bulunmaktadır (34).

Streptococcus thermophilus ve *Lactobacillus bulgaricus* Fajları

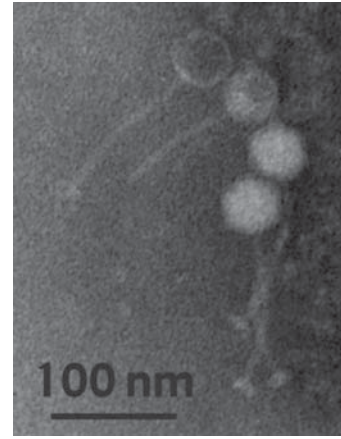
Cins ve tür bazında sınıflanmayı bekleyen çok sayıda fajdan, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'a etkili

olanlar da; diğerleri gibi sırasıyla keşfedildikleri 1952 ve 1974 yıllarından günümüze kadar her bir çalışma kapsamında morfolojik yapılarına, konakçı dizgelerine, serolojik özelliklerine, protein profilleri ile restriksiyon kesim şablonlarına ve DNA hibridizasyon sonuçlarına göre karakterize edilmiş ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır (2-15, 33, 36-42). Günümüze kadar yapılan tüm çalışmalarda, morfolojik olarak Bradley sınıflamasına göre B grubuna ve Ackermann sınıflamasına göre de Siphoviridae familyasına dahil edilen bu fajların kapsid büyüklüklerinin 42-74 nm, kontraktil olmayan uzun kuyruklarının ise 117-330 nm arasında değiştiği görülmüştür (15). Şekil 2 ve Şekil 3'de, sırasıyla *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşlarına özgül fajların elektron mikrografları verilmiştir (41). Sadece Reinbold ve arkadaşlarının izole ettiği tek bir *L. bulgaricus* fajının, Myoviridae familyasına ait olduğu saptanmıştır (37).

Konakçı özgülüğü söz konusu olduğunda ise, süt işletmelerinde rotasyon programlarının belirlenebilmesi için çok önemli olmasına karşın, faj taksonomisi açısından hiç bir önemi olmadığı vurgulanmaktadır (2). Bunun nedeni aynı konakçı spektrumuna sahip fajların farklı restriksiyon profili vermeleri veya farklı konakçılara etkili olanların aynı kesim profiline sahip olmasıdır (7, 11, 13, 15, 39, 42, 43). Ayrıca Prevots vd., genom üzerinde fajların konakçı özgülüğünden sorumlu bölgelerinin çok küçük olması nedeniyle sınıflama için bir kriter olamayacağını belirtmiştir (7).



Şekil 2 *S. thermophilus* B3-X18 fajı



Şekil 3 *L. bulgaricus* Y4-X4 fajı

Çizelge 2 Süt fajlarının taksonomik durumları

Konakçı Türleri	Faj Tipi	Prototip Faj	Üye Fajlar
<i>Streptococcus thermophilus</i>	B1; cos: Sfi21-türleri	Sfi21(T); Sfi19(V)	DT1, 7201, Sfi18
	B1; pac: Sfi11-türleri	O1205(T); Sfi11(V)	
<i>Lactococcus lactis</i>	B1; cos: 936-türleri	Sk1(V)	bIL170, bIL41, bIL66, P008, F4-1, US3
	B2; cos: c2-türleri	c2(V)	c6A, bIL67
	B1; P335-türleri: cos	Φ31(V); rlt(T)	
	B1; P335-türleri: pac	TP901-1(T)	Tuc2009
	Büyük B1: 949-türleri		Φ111, P026
	B1; cos: BK5-T-türleri	BK5-T(T)	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	B1; pac grup a	Mv4(T); LL-H(V)	LL-K, lb539
	B1; cos grup b	LL-Ku(V)	c5
	B3; cos grup c	JCL1032	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	B1; pac	phigle(T)	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	B1; cos	adh(T)	
<i>Lactobacillus casei</i>	B1; cos	A2(T)	PL-1
	B1; pac	FSW	
<i>Lactobacillus johnsoni</i>	Profaj	Lj965	

B1: İzometrik kapsid, B2 ve B3: Prolat kapsid, cos: cos bölge: yapışkan uçlu DNA pac: pac bölge: küt uçlu DNA
T: temperent, V: virülent

Fajların morfolojik yapılarının tek tip olması ve konakçı dizgelerinin moleküler çalışmalarla uyum sağlamaması nedeniyle, protein profilleri, restriksiyon kesim şablonları ve DNA hibridizasyonu gibi moleküler çalışmalar üzerinde yoğunlaşmıştır (2, 3, 5-9, 11-14, 39, 41, 43). Ancak her bir araştırmada çalışılan fajların sadece kendi içlerinde karakterizasyonu mümkün olabilmiş, araştırmalar arası karşılaştırmalar sadece protein profilleri ve restriksiyon kesim şablonları dikkate alınarak yapıldığından kesin bir sonuca ulaşılamamıştır. Zaten Brussov vd, çalıştıkları 81 adet *S. thermophilus* fajının 46 farklı restriksiyon profili vermesi nedeniyle, kesim şablonlarının faj taksonomisi açısından önem taşımadığını, bu kadar fazla faj çeşitliliğinin, restriksiyon şablonu tanımlanmış bir faj genomunda oluşabilecek küçük eklemeler ve ayrılmalardan (rekombinasyonlardan) kaynaklandığını belirtmişlerdir (2). Dolayısı ile bundan sonra gerçekleştirilen çalışmalarda asıl amaç restriksiyon profilleri değil bu profillerdeki hibridizasyon oranlarının tespiti olmuştur. Nitekim Brussov ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada Sfi18 faj DNA'sına ait 2.2 kb'lık *EcoRI* fragmentin, SFi21, SFi11 ve BaS19 faj DNA'larında da bulunan 2.2 kb'lık *EcoRI* fragmentleri ile homoloji gösterdiği ve fragmentlerin dizi analizi yapıldığında sadece 3 nükleotit pozisyonunda farklılık olduğu dolayısıyla kodlanan sadece üç adet aminoasidin değiştiği görülmüştür (40).

SONUÇ

Termofilik fajların tanımlanmasında eskiden olduğu gibi bugün de morfolojik yapının belirlenmesi en önde gelen kriterdir. Fajların EM ile saptanan özelliklerinin yanısıra nükleik asit tipinin ve yapısının (DNA, RNA, tek iplikçik, çift iplikçik, lineer, sirküler veya sadece segment halinde bulunma) belirlenmesi önem taşımakta ve Siphoviridae familyasına dahil edilmelerinde en önemli kriterleri oluşturmaktadır. Protein profilleri dikkate alınarak yapılan sınıflandırma söz konusu olduğunda bireysel birçok çalışmada bu profillerin birbirine çok benzer olması (3, 7, 8, 11, 33, 39) ve restriksiyon endonükleaz kesim şablonlarının da çok fazla çeşitliliği ortaya koyması (2) nedeniyle yeterli kriterler olamayabileceği ancak fragman hibridizasyon çalışmalarının, nükleotit ve protein sekans analizlerinin faj farklılaşmalarını daha doğru gösterebileceği düşünülmektedir (17). *S. thermophi-*

lus Sfi21 ve Sfi11 fajlarının genomlarındaki *cos* (yapışkan) ve *pac* (küt) bölgelerinin gösterilmesinin ve de faj genomlarında DNA polimeraz gibi bazı enzimlerin kodlandığı genler arasındaki evrimsel ilişkinin çıkarılmasına dair çalışmalar ise henüz yenidir (34). Zaman içinde veri toplanması ile bu çalışmaların faj taksonomisine katkıları ortaya konabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Ackermann H W. 2006. Classification of Bacteriophage, In *The Bacteriophage*, 2nd., R Calendar, pp. 8-16, Oxford University Press, USA.
2. Brussov H, Frémont M, Bruttin A, Sidoti J, Constabla A, Fryder V. 1994a. Detection and Classification of *Streptococcus thermophilus* Bacteriophages Isolated from Industrial Milk Fermentation. *Appl Environ Microbiol*, 60 (12): 4537-4543.
3. Mata M, Trautwetter A, Luthaud G, Ritzenthaler P. 1986. Thirteen virulent and temperate bacteriophages of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus lactis* belong to a single DNA homology group. *Appl Environ Microbiol*, 52 (4): 812-818.
4. Cluzel PJ, Veaux M, Rousseau M, Accolas JP. 1987. Evidence for temperate bacteriophages in two strains of *Lactobacillus bulgaricus*. *J Dairy Res*, 54: 397-405.
5. Kivi S, Peltomäki T, Luomala K, Sarimo SS. 1987. Some properties of *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *Fotra Microbiol*, 32: 101-106.
6. Chow J, Batt CA, Sinsky AJ. 1988. Characterization of *Lactobacillus bulgaricus* bacteriophage ch2. *Appl Environ Microbiol*, 54 (5): 1138-1142.
7. Prevots F, Relano P, Mata M, Ritzenthaler P. 1989. Close relationship of virulent bacteriophages of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* at both the protein and the DNA level. *J Gen Microbiol*, 135: 3337-3344.
8. Benbadis L, Faalen M, Slos P, Fazel A, Mercenier A. 1990. Characterization and comparison of virulent bacteriophages of *Streptococcus thermophilus* isolated from yogurt. *Biochimie*, 72: 855-862.
9. Lahbib-Mansais Y, Boizet B, Dupont L, Mata M, Ritzenthaler P. 1992. Characterization of a temperate bacteriophage of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and its interactions with the host cell chromosome. *J Gen Microbiol*, 138: 1139-1146.
10. Fayard B, Haefliger M, Accolas JP. 1993. Interaction of temperate bacteriophages of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* with lysogenic affect phage DNA restriction pattern and host ranges. *J Dairy Res*, 60: 385-399.

11. Le Marrec C, Sinderen D, Walsh L, Stanley E, Vlegels E, Moineau S, Heinze P, Fitzgerald G, Fayard B. 1997. Two groups of bacteriophages *Streptococcus thermophilus* can be distinguished on the basis of mode of packaging and genetic determinants for major structural proteins. *Appl Environ Microbiol*, 63 (8): 3246-3253.
12. Auad L, Raisanen L, Raya RR, Alatosava T. 1999. Physical mapping and partial genetic characterization of the *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bacteriophage lb539. *Arch Virol*, 144: 1503-1512.
13. Quiberoni A, Auad L, Binetti AG, Suarez VB, Reinheimer JA, Raya RR. 2003. Comparative analysis of *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from a yogurt industrial plant. *Food Microbiol*, 20: 461-469.
14. Quiberoni A, Guglielmotti DM, Binetti A, Reinheimer JA. 2004. Characterization of three *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* phages and the physicochemical analysis of phage adsorption. *J Appl Microbiol*, 96: 340-351.
15. Tunail N, Açık L, Acar E, zyurt Ő, Kahraman E, Çelebi A. 2006. Yerel (doğal) *S. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* ile özgül fajlarının edüstriyel öneme sahip özellikler açısından tanımlanarak alternatif starterlerin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü 67 nolu proje.
16. Moineau S, Levesque C. 2005. Control of Bacteriophages in Industrial Fermentations, In: *Bacteriophages Biology and Applications*, E Kutter and A Sulakvelidze (eds), pp. 285- 297, CRC Press, USA.
17. ICTV <http://phene.cpmc.columbia.edu/Ictv>
18. Summers WC. 2005. Bacteriophage Research: Early History, In: *Bacteriophages Biology and Applications*, E Kutter and A Sulakvelidze (eds), pp. 5-29, CRC Press, USA.
19. Ackermann HW. 1987. Bacteriophage taxonomy in 1987. *Microbiol Sci*, 4: 214-218.
20. Ackermann HW. 1991. Phagentaxonomie 1990: Stand and Probleme. *Bioforum*, 11/91: 419-426.
21. Ackermann HW. 2001. Frequency of morphological phage descriptions in the year 2000. *Arch Virol*, 146: 843-857.
22. Ackermann HW. 2003. Bacteriophage observations and evolution. *Res Microbiol*, 154: 245-251.
23. Maniloff J, Ackermann HW. 1998. Taxonomy of bacterial viruses: establishment of tailed virus genera and the order *Caudovirales*. *Arch Virol*, 143 (10): 2051-2063.
24. Schlegel HG. 1985. *Allgemeine Mikrobiologie*, 6. berarbeitete Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp: 559.
25. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 1993. *Microbiology*, Wm. C. Brown Communication, Inc., 2nd. Edition, USA, pp. 912.
26. Hendrix RW. 2002. Bacteriophage λ and Its Relatives, In *Modern Microbial Genetics*, 2nd UN Streips and RE Yasbin (eds), A John Willey&Sons, Inc., Publication, New York.
27. Hendrix RW. 2003. Bacteriophage genomics. *Cur Opin Microbiol*, 6: 506-511.
28. Brussow H, Desiere F. 2006. Evolution of Tailed Phages: Insights from Comparative Phage Genomics, In *The Bacteriophage*, 2nd., R Calendar (ed), Oxford University Press, USA, pp. 26-37.
29. Desiere F, Lucchini S, Canchaya C, Ventura M, Brussow H. 2002. Comparative genomics of phages and prophages in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 73-91.
30. Brussow H. 2001. Phages of dairy bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 55: 283-303.
31. Brussow H, Suarez, J. E. 2006. *Lactobacillus* phages, In *The Bacteriophage*, 2nd., R Calendar (ed), Oxford University Press, USA, pp. 653-667.
32. Brussow H, Desiere F. 2001. Comparative phage genomics and the evolution of Siphoviridae: insights from dairy phages. *Mol Microbiol*, 39 (2): 213-222.
33. Tremblay DM, Moineau S. 1999. Complete genomic sequence of the lytic bacteriophage DT1 of *Streptococcus thermophilus*. *Virology*, 255: 63-76.
34. Brussow H, Kutter E. 2005. Phage Ecology, In: *Bacteriophages Biology and Applications*, E Kutter and A Sulakvelidze (eds), CRC Press, USA, pp. 129-165.
35. Desiere F, Pridmore RD, Brussow H. 2000. Comparative genomics of the late gene cluster from *Lactobacillus* phages. *Virology*, 275: 294-305.
36. Accolas JP, Spillmann H. 1979. The morphology of six bacteriophage of *Streptococcus thermophilus*. *J Appl Bacteriol*, 47: 135-144.
37. Reinbold GW, Reddy MS, Hammond EG. 1982. Ultrastructures of bacteriophages active against *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* and *Lactobacillus helveticus*. *J Food Prot*, 45 (2): 119-124.
38. Krusch U, Neve H, Luschei B, Teuber M. 1987. Characterization of virulent bacteriophages of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* by host specificity and electron microscopy. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 39 (3): 155-167.
39. Neve, H., Krusch, U., Teuber, M. 1989. Classification of virulent bacteriophages of *Streptococcus salivarius*

subsp. *thermophilus* isolated from yoghurt and Swiss-type cheese. *Appl Microbiol Biotechnol*, 30: 624-629.

40. Brussow H, Probst A, Fremont M, Sidoti J. 1994b. Distinct *Streptococcus thermophilus* bacteriophages share an extremely conserved DNA fragment. *Virology*, 200: 854-857.

41. Acar E. 2002. Yoğurt starter kültür fajlarının elektron mikroskobu ile morfolojik karakterizasyonu, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 102 s. Ankara.

42. Tunail N, Ayhan K, Akçelik M, Durlu Özkaya F, Doğan HB, Kaleli D, Tükel Ç, Acar E. 2002. Yoğurt fabrikalarında faj probleminin çözümüne yönelik araştırmalar, TÜBİTAK/TARP-2106 Nolu Proje.

43. Acar Soykut E. 2007. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* virüent fajlarının replikasyon parametreleri, kapsid protein profilleri ve restriksiyon endonükleaz analizleri esas alınarak tanımlanmaları ve sınıflandırılmaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Müh. Ana Bilim Dalı Doktora tezi, 176 s, Ankara.