

Fago Lambda

Se trata de un fago complejo con cabeza, cuello y una sola fibra de la cola. Su material genético es DNA bicatenario lineal con 50.000 pb, menor a T4. Aunque sea bicatenario, en el extremo 5' de cada cadena encontramos 12 nucleótidos de cadena sencilla. Se trata de un fago lisogénico, pero que mayoritariamente hace lisis.

Este fago se fija a la pared celular de la bacteria, reconociendo el transportador de la maltosa. Introduce su genoma y éste se circulariza mediante la cohesión de sus extremos desapareados, dando lugar al sitio *cos*. Existen una serie de polimerasas bacterianas que reconocen una serie de promotores del fago, entre los cuales se encuentran **P_L** y **P_R**, es decir, promotor *Left* y *Right*, produciendo mRNA víricos.

El promotor P_L produce solo la **proteína N**, mientras que el P_R produce la proteína **Cro**. Esta transcripción se detiene porque se llega a un terminador, haciendo que la polimerasa se detenga.

Cro es una proteína represora que reprime la expresión de cII y cIII, las cuales son necesarias para inhibir la lisogenia y pasar al modo lítico, pero esta represión solo se produce cuando la concentración de Cro es muy abundante.

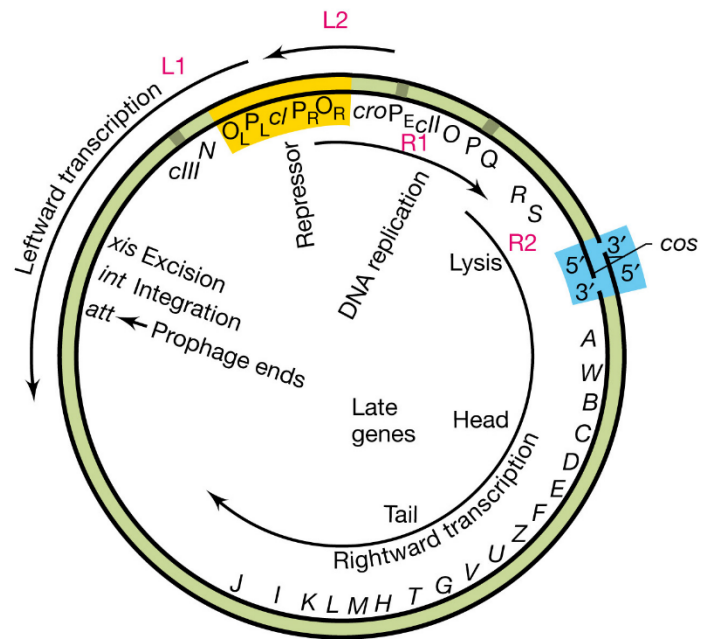
N es una proteína antiterminadora, es decir, que elimina la estructura tridimensional producida en las secuencias terminadoras, por lo que la polimerasa puede seguir transcribiendo. Cuando N se produce, las rondas de transcripción aumentan, de manera que a partir de P_L se produce N y **cIII**, mientras que de P_R se sintetiza Cro, **cII**, **O**, **P** y casi **Q**. Delante de Q hay un terminador, el cual no termina de quitarse con la proteína antiterminadora N, por lo que hay momentos en los que se sintetiza Q y otros en los que no porque la polimerasa se detiene, por lo que la cantidad de Q producida es menor que la del resto de proteínas.

O y P son genes que intervienen en la replicación del virus mediante una replicación semiconservativa y bidireccional, es decir, la clásica replicación en theta de DNA circular, ya que en este momento está unido, a pesar de ser lineal.

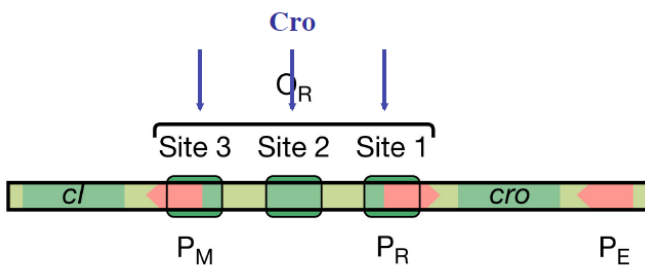
Dado que la replicación se da por rondas de transcripción, llega un momento en el que hay mucha concentración de Q, otra proteína antiterminadora que permite la transcripción del mensajero largo R2, el

cual codifica para las proteínas tardías del fago, como las implicadas en la cabeza, cola y líticas.

Mientras que se acumula Q, se acumula Cro, la cual reprime todos los promotores, uniéndose a las regiones operadoras según su afinidad. En el operador derecho (OR), donde más afinidad tiene es el sitio 3, seguida del sitio 2 y el lugar con menos afinidad es el sitio 1, por tanto, a poca concentración de Cro que haya, se unirá reprimiendo al sitio 1 pero es necesaria una concentración elevada para reprimir al sitio 3. Esta temporalidad permite que dé tiempo a que se expresen todas las proteínas del mensajero derecho.



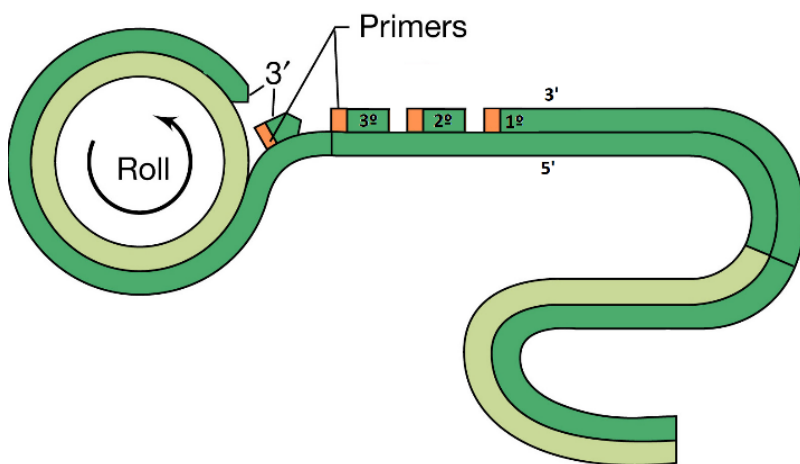
Parece que en el O_L, la primera molécula de Cro que se une ya reprime toda su transcripción.



Cuando Cro llega al sitio 1, se inhiben todos los promotores del operador derecho. Cuando todos los promotores estén inhibidos y haya proteínas de genes tardías, la replicación pasa de semiconservativa bidireccional a replicación por círculo rodante. La diferencia de lambda con otros fagos que tienen esta replicación es que lambda es de doble cadena. En lambda, la cadena + se escinde y comienzan a añadirse nucleótidos desde el extremo 3' copiando la cadena -, de manera que el extremo 5' se va desplazando y se va generando una cadena +. Para sintetizar la complementaria -, se utilizan fragmentos de Okazaki que se van añadiendo a medida que se van añadiendo nucleótidos por el extremo 3'. Estos fragmentos serán sustituidos por DNA. Finalmente, una endonucleasa

escinde en el sitio Cos, un lugar de doble cadena, generando un extremo cohesivo o escalonado que volverá a permitir formar DNA cíclico cuando vuelva a infectar.

Este acúmulo de Cro hace que no se expresen proteínas lisogénicas cI y cII, por lo que se pasa de fase lisogénica a lítica. Cuando Cro se une al sitio 3, uno de los promotores que inhibe es el asociado al gen *cro*, por tanto, el acúmulo de Cro reprime su propia transcripción, pero ya no es necesaria, ya que ha inhibido la lisogenia, por lo que el virus pronto abandonará al hospedador.



La secuencia de sucesos vistos hasta ahora relacionados con la fase lítica es:

1. Entrada del DNA lineal y circularización por los extremos cohesivos, formando el sitio cos.
2. Unión de la polimerasa bacteriana a los promotores P_L y P_R , produciendo mensajeros cortos debido a la presencia de terminadores:
 - P_L permite la síntesis de N.
 - P_R permite la síntesis de Cro.

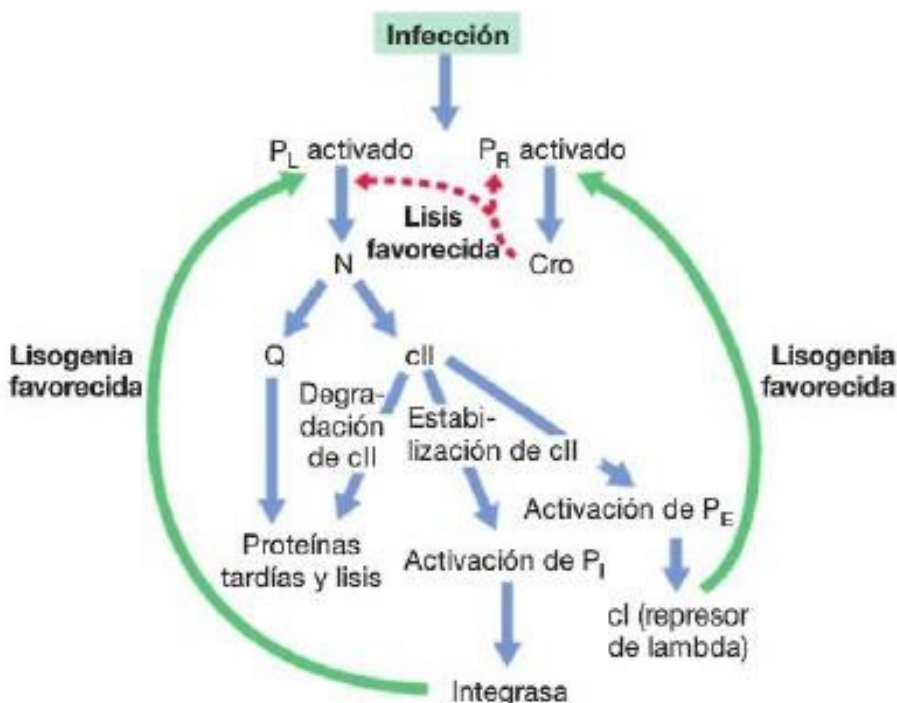
3. N se acumula, actuando como antiterminadora, por lo que P_L y P_R producen mensajeros más largos:
 - P_L permite la síntesis de N y cIII.
 - P_R permite la síntesis de Cro, cII, O, P y Q pero ésta solo en algunos ciclos.
4. O y P permiten la replicación bidireccional semiconservativa tipo Theta.
5. Q se acumula, actuando como antiterminadora, por lo que P_R produce un mensajero que codifica para proteínas tardías de lisis, cabeza y cola.
6. En paralelo al acúmulo de Q, Cro se une a los operadores:
 - O_L : su unión en el sitio 1 inactiva todos sus promotores.
 - O_R : se requiere que se acumule mucho Cro para que se una al sitio 3, inactivando todos sus promotores, incluido el de Cro.
7. La inhibición de los promotores por Cro y la síntesis de proteínas tardías gracias a Q hacen que la replicación pase a ser en círculo rodante.
8. El concatémero de doble cadena se escinde en fragmentos del tamaño del genoma del fago, dejando los extremos cohesivos en el sitio Cos.

Hasta ahora, se ha visto la fase lítica, por lo que explicaremos la lisogénica.

La proteína represora principal de Lambda es **cI**, cuyas concentraciones, junto con las de Cro, determinarán si el fago sigue en fase lítica o lisogénica. No obstante, su gen se ubica entre P_L y P_R , por ello se debe transcribir mediante el **promotor del establecimiento de lisogenia (P_E)**. A diferencia de P_R y P_L , P_E es un promotor inducible por cII, cuyo transcrito se produce cuando N se acumula y permite que el mRNA derecho incluya, además de a Cro, cII, O, P y algo de Q.

Para que se produzca lisogenia deben darse dos condiciones:

- No se expresen los genes tardíos, de manera que no haya proteínas tardías. Para ello, debe expresarse cI, el cual es un represor de P_R y deben existir altos niveles de cIII para evitar la degradación de cI.
- Que se integre una copia del genoma vírico en el genoma bacteriano. Para ello, debe expresarse el gen de integración *Int*.
Si existe cII, P_E se induce, se sintetiza cI y ésta inhibe a los genes tardíos al unirse a P_R . Por otro lado, Cro reprime la síntesis del mRNA derecho, el cual incluye a cII, necesario para que se induzca cI y se dé la lisogenia.



cII es una proteína sensible a proteasas. Para proteger a cII, encontramos a cIII, una proteína que es degradada por las proteasas para evitar que degraden a cII, no obstante, si la concentración de proteasas es demasiado elevada, degradan tanto a cIII como a cII, por tanto, la degradación de cII depende de los niveles de proteasas dentro de la bacteria.

Los niveles de proteasas de la bacteria dependen del nivel nutritivo, de manera que si hay muchos nutrientes hay muchas proteasas, por lo que cII se degrada, no se expresan los genes tardíos y no se integra en el genoma bacteriano, por tanto, no se da la lisogenia y se produce lisis. El significado biológico es que si hay muchos nutrientes, la bacteria se multiplica rápidamente y hay mucha densidad bacteriana, por lo que Lambda abandona al hospedador para infectar nuevas bacterias.

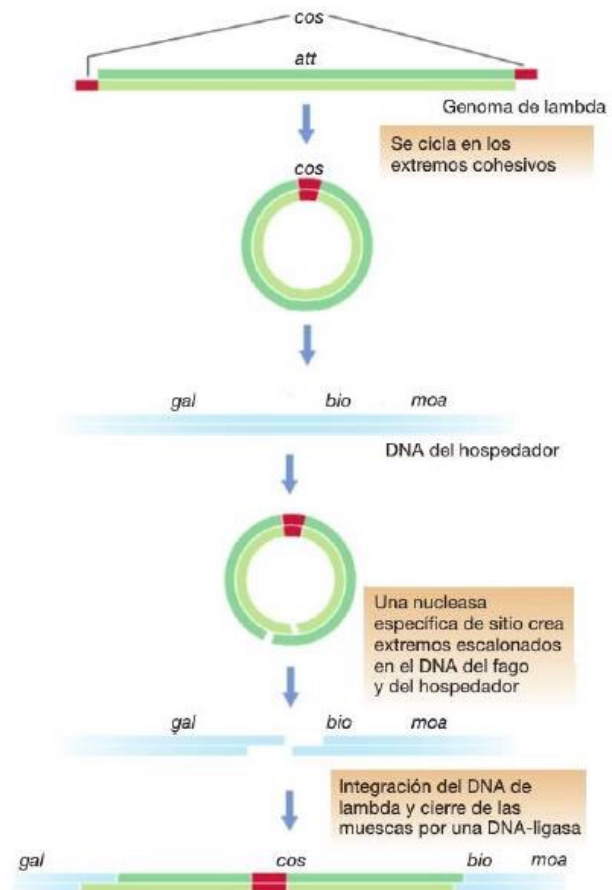
La proteína cI, en cuanto se sintetiza, va a los operadores, pero nada más sintetizarse va al sitio 1, a diferencia de Cro. Por tanto, entre Cro y cI, la primera proteína que ocupe el sitio 1 determinará el ciclo del virus:

- Si se une Cro, es porque hay mucha cantidad de Cro, de manera que ya se habrán sintetizado los genes tardíos y la unión de Cro a este sitio hará que la terminación cambie a círculo rodante y se produzca la lisis.
- Si se une cI no se sintetizan los genes tardíos. Al detener al operador derecho, tampoco se transcribe cII, el cual es necesario para inducir a PE a que transcriba a cI, sin embargo, cI tiene una doble función: además de inactivar a los promotores derecho, también activa al **promotor del mantenimiento de la lisogenia (P_M)**. Esta doble función hace que todos los promotores estén inactivos salvo P_M, por lo que cI se sigue transcribiendo. Llegamos un momento en el que la transcripción de cI se detiene ya que P_M se inactiva, pero ya se ha acumulado suficiente cI.

Cuando una bacteria en estado lisogénico se divide, el contenido de cI disminuye, volviendo a expresarse P_M, por lo que se transcribe más cI hasta que se vuelve a reprimir P_M. Este proceso se da hasta que las proteasas asociadas a un nivel nutritivo alto degradan a cI y se entra en lisis.

Si en estado lisogénico entra otro Lambda, el contenido en el lo reprime, por lo que la bacteria es inmune.

Además de que no se transcriban los genes tardíos, otra condición para la lisogénesis es que se integre una copia del genoma vírico, para lo cual es necesaria la transcripción del gen *Int*, presente en el mRNA largo izquierdo. Este gen codifica una topoisomerasa que produce la integración entre un sitio específico de Lambda llamado *att* y los sitios *gal* y *bio* de la bacteria, por lo que la integración no es al azar. Para escindirse, es necesaria la proteína **Xis**, una excisionasa, que cambia la afinidad de la topoisomerasa para que en lugar de integrar, desintegre. El gen *xis* también se encuentra en el mRNA largo izquierdo.



El paso de una fase lisogénica a una lítica, es decir, la **inducción**, puede realizarse en el laboratorio. La inducción ocurre cuando sucede daño en el DNA bacteriano. Por ello, para inducir su expresión, se utilizan agentes como UV. Una vez se daña el DNA, las bacterias utilizan el **sistema de reparación SOS**, un conjunto de genes que intervienen en la reparación. En condiciones normales, este sistema está inactivo por la proteína **LexA**, la cual reprime los genes SOS. La proteína **RecA**, nombrada así porque participa en la recombinación, cuando hay daño en el DNA potencia su actividad proteasa, degradando a LexA, por lo que los promotores de los genes SOS se activan y se repara el daño. No obstante, RecA inespecíficamente degrada *cI*, por lo que los genes tardíos se transcriben, induciendo la lisis.

