2.2 Fagos modelos y sus propiedades.

Bob Blasdel, Ph.D

Diapositiva 1: La visión de los fagos modelos

En la década de 1930, inspirado en el influyente libro de Erwin Schrodinger "What is life", Max Delbruck desarrolló una visión sobre el bacteriófago como un sistema vivo lo suficientemente simple para comprenderlo a un nivel fundamental, incluso con las herramientas rudimentarias de las que disponía su Grupo de Fagos. Razonaron que, si alguna vez vamos a entender cómo funciona la vida, tendríamos que empezar con el organismo más simple posible y trabajar a partir de él. Seleccionó y renombró siete bacteriófagos líticos obligados que infectan a *Escherichia coli* B, y los organizó en una serie que abarca desde T1 a T7. La idea central era que él y su creciente número de colegas se centrarían en comprender realmente cómo funcionaban estos fagos y usar ese conocimiento para generalizar a *E. coli*, luego al ratón y luego a nosotros.

Diapositiva 2: Lo que se logró

Esta visión del bacteriófago, junto con el trabajo elegante de los primeros biólogos que estudiaban bacteriófagos, rápidamente proporcionó una base mecánica que radicalmente reorientó nuestra comprensión de la vida en la Tierra. Aprovechando la simplicidad del bacteriófago, describieron mutaciones como las unidades sobre las que actúa la selección natural, establecieron el ADN como la molécula hereditaria, describieron primero la naturaleza triplicada de los codones en el ARNm y elucidaron el dogma central. De hecho, la elegante sencillez del ciclo lítico de infección de un bacteriófago a nivel microbiológico permitió a Luria y Delbruck demostrar inicialmente que las mutaciones genéticas surgen en ausencia de selección, en lugar de ser una respuesta a la selección. De la misma forma, la elegante simplicidad de la química de las partículas fágicas con sólo dos tipos de moléculas, que podrían ser marcadas radioactiva y diferencialmente, permitió a Hershey y Chase demostrar de una vez por todas que el ADN es la molécula hereditaria.

A raíz de estos esfuerzos, gran parte del trabajo que subyace a las bases moleculares de la fisiología bacteriana, la bioquímica, la genética, la genómica y, a continuación, la ingeniería recombinante fue posible gracias a los experimentos determinantes que se pueden realizar gracias a que los sistemas fágicos se pueden entender en su totalidad. De hecho, muchas de las herramientas moleculares que damos por sentadas hoy en día, desde la ADN ligasa T4 al sistema de expresión T7, derivan de fagos. Con el extraordinario poder ahora disponible gracias a las técnicas "ómicas" de próxima generación, la visión histórica de Delbruck del fago como el organismo modelo subyacente de la biología molecular tiene la oportunidad de adquirir nueva relevancia.

Diapositiva 3: Bacteriófago T4

Los estudios sobre el fago T4 y sus parientes han proporcionado innumerables contribuciones a nuestra comprensión de la genética molecular y la bioquímica. De hecho, fue utilizado como el organismo modelo para muchos de los descubrimientos que acabo de mencionar. Gran parte de su valor se deriva de la forma en que sustituye completamente a la hidroximetilcitosina por la citosina (la "C" en las cuatro letras del código de ADN) y luego la glicosila de tal manera que hace su propio ADN químicamente distinto al de su hospedador. Esta distinción química permite que el fago T4 inhiba completamente la expresión de los genes hospedadores, asegurando que sólo se expresarán los genes del fago.

Diapositiva 4: Bacteriófago T7

El fago T7 y sus familiares son en muchos aspectos más notables por la elegante simplicidad de su maquinaria transcripcional y la extraordinaria utilidad de la ARN polimerasa que utiliza para ello. Al entrar en la célula, T7 recluta el aparato transcripcional del hospedador con fuertes promotores sigma70 para transcribir genes tempranos, incluyendo su propia ARN polimerasa de subunidad única, antes de inactivar la ARN polimerasa del hospedador. La RNA polimerasa del fago transcribe entonces los genes medios/tardíos de promotores específicos del fago que replican el genoma de fago y construyen las partículas virales infecciosas. El sistema transcripcional paralelo que T7 utiliza para continuar expresando sus propios genes medios / tardíos mientras que cierra la expresión del anfitrión es el sello de la subfamilia *Autographvirinae* (origen de su nombre) y ahora una de las herramientas de la biología molecular. De hecho, cada vez que un investigador desea expresar una secuencia de ADN dada sin utilizar mecanismos hallados en el huésped que pudieran tener efectos secundarios impredecibles, dicha secuencia puede ser controlada por un promotor T7 que sólo es reconocido por la ARN polimerasa T7.

Diapositiva 5: Bacteriófago N4

La infección por el enterobacteriófago N4 progresa expresando secuencialmente los genes del fago usando tres ARN polimerasas distintas, incluyendo una ARN polimerasa asociada al virión (vRNAP) empaquetada en la cápsida junto con su ADN. La infección por el fago N4 comienza cuando el fago inyecta su vRNAP así como una secuencia corta de ADN en la célula, que luego se transcribe en la siguiendo la pauta de lectura usando factores de hospedador y el vRNAP, creando ambas transcripciones tempranas y tirando del resto del genoma hacia el interior de la célula. La segunda ARN polimerasa codificada por el virus (N4 RNAPII, gp15-16), así como dos factores de transcripción codificados viralmente (gp01-02), se expresan luego a partir de estos transcritos tempranos y juntos promueven el modo medio de transcripción que implica características génicas asociadas con la replicación del ADN. Esto incluye una proteína de unión de ADN de cadena sencilla que interactúa con el factor sigma70 sigma del huésped para promover la transcripción de los genes tardíos estructurales y de lisis de los fagos.

Diapositiva 6: Contexto taxonómico

Es importante tener en cuenta que aprender acerca de estos fagos modelo no sólo nos da información importante sobre la estructura y la función de los sistemas vivos en general, ya que su simplicidad nos permite aislar y comprender verdaderamente esos sistemas, sino también nos da información significativa sobre cómo funcionan ellos y sus parientes. De hecho, cada uno de estos tres clados de fagos están siendo considerados actualmente para aplicaciones terapéuticas que se dirigen a una variedad de patógenos Gram negativos importantes, y cada uno tiene impactos ambientales significativos que vale la pena entender.