Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riiit.com.mx

Arquitectura y ensamble del bacteriófago T4

Architecture and Assembly of the bacteriophage T4

Talavera-González, J.M.[a]*, Talavera-Rojas, M.[b], Reyes-Rodríguez, N.E.[c], Vega-Sánchez, V.[c], Varela-Guerrero, J.A.[d], Gómez-De Anda, R.F.[c]

[a] Tecnológico Nacional de México/Tecnológico de Estudios Superiores de San Felipe del Progreso C.P. 50640, Estado de México, México.
[b] Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México C.P. 50000, Toluca, México.
[c] Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo C.P. 43600, Hidalgo, México.
[d] Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México C.P. 50000, Toluca, México.

talagallo@gmail.com*; mtalaverar@uaemex.mx; nydia_reyes@uaeh.edu.mx; vicente_vega11156@uaeh.edu.mx; javarelag@uaemex.mx; fabian_gomez9891@uaeh.edu.mx

Innovación tecnológica: Edición genética más preciso; avances en terapias antimicrobianas.

Aplicación industrial. Herramientas biotecnológicas innovadoras.

Recibido: 26 febrero 2025
Aceptado: 16 junio 2025

Abstract

The assembly of a wide range of bacteriophages has been described in the literature, with T4 phage being one of the most representative. Over several decades, bacteriophage T4 has served as an essential molecular model for unraveling the assembly mechanisms of icosahedral viruses. Its highly organized structure consists of an icosahedral head that encapsulates the genome, a contractile tail with a baseplate, and tail fibers that mediate host cell recognition and attachment. The assembly of bacteriophage T4 is a highly regulated sequential process involving precise interactions between structural proteins and molecular cofactors. It begins with the construction of the procapsid, a structural intermediate that undergoes conformational modifications to form the mature capsid. Subsequently, the genome is packaged through an ATP-dependent translocation motor complex, ensuring the stability and viability of the virion. Tail formation occurs independently and simultaneously, involving the polymerization of structural proteins to form a

central tube surrounded by a contractile sheath. The baseplate and tail fibers are assembled later, conferring specificity in adsorption to the bacterial membrane. Finally, the head and tail are joined, giving rise to a fully assembled infectious virion. Each of these stages relies on precise protein-protein interactions and quality control mechanisms that ensure proper phage morphogenesis. Additionally, various studies have identified accessory proteins that facilitate the spatial and temporal regulation of assembly. A detailed understanding of these processes not only deepens knowledge of phage biology but also has biotechnological applications, such as the development of phage therapy and nanotechnology based on viral structures. This review describes the architecture of bacteriophage T4, its assembly mechanisms, and the function of its structural components, highlighting its importance as a model for studying viral biogenesis.

Keywords: Assembly, Bacteriophage T4, Biogenesis, Morphogenesis.

Resumen

En la literatura se ha descrito el ensamblaje de una amplia gama de bacteriófagos, y el fago T4 es uno de los más representativos. A lo largo de varias décadas, el bacteriófago T4 ha servido como un modelo molecular esencial para desentrañar los mecanismos de ensamblaje de los virus icosahédricos. Su estructura altamente organizada consta de una cabeza icosaédrica que encapsula el genoma, una cola contráctil con una placa basal y fibras que median el reconocimiento y la adhesión a la célula hospedadora. El ensamblaje del bacteriófago T4 es un proceso secuencial altamente regulado que involucra interacciones precisas entre proteínas estructurales y cofactores moleculares. Se inicia con la construcción de la procápside, un intermediario estructural que sufre modificaciones conformacionales para formar la cápside madura. Posteriormente, el genoma es empaquetado mediante un complejo de motor translocador dependiente de ATP, asegurando la estabilidad y viabilidad del virión. La formación de la cola ocurre de manera independiente y simultánea, involucrando la polimerización de proteínas estructurales para formar un tubo central rodeado por una vaina contráctil. La placa basal y las fibras de la cola se ensamblan posteriormente, confiriendo especificidad en la adsorción a la membrana celular. Finalmente, la unión de la cabeza y la cola da lugar al virión infeccioso completamente ensamblado. Cada una de estas etapas depende de interacciones proteicas y mecanismos de control de calidad que aseguran la correcta morfogénesis del fago. Además, diversos estudios han identificado proteínas accesorias que facilitan la regulación espacial y temporal del ensamblaje. La comprensión detallada de estos procesos no solo permite profundizar en la biología de los fagos, sino que también tiene aplicaciones biotecnológicas, como el desarrollo de fagoterapia y nanotecnología basada en estructuras virales. En esta revisión se describe la arquitectura del bacteriófago T4, los mecanismos de ensamblaje y la función de sus componentes estructurales, destacando su importancia como modelo para el estudio de la biogénesis viral.

Palabras clave: Bacteriófago T4, Biogénesis, Ensamblaje, Morfogénesis.

Introducción

El bacteriófago T4 es un virus que infecta a *Escherichia coli* con un genoma dsADN compuesto por 171 kb. Tiene una cabeza alargada de 1150 Å de largo y 850 Å de ancho donde se encapsula su genoma; una cola contráctil de 925 Å de largo y 240 Å de diámetro; una placa basal de conformación hexagonal de 270 Å de alto y 520 Å de diámetro; y seis fibras de anclaje posicionadas en la periferia de la placa basal de 1450 Å de largo (1-3). Desde 1944, cuando el fago T4 fue propuesto como modelo para estudios moleculares, pasando por 1959 con la revelación de sus estructura simétrica mediante microscopía electrónica; en 2003 se secuenció su genoma y se obtuvieron detalles estructurales mediante criomicroscopía, seguido en 2004 por la descripción del cambio estructural en su etapa postinfección, hasta años recientes donde técnicas como la cristalografía y la criomicroscopía han permitido mapear proteínas clave en distintas etapas de su ciclo vital (2). Más de 150 genes del fago T4 han sido caracterizados; sin embargo, sólo 62 son esenciales, codificando más de 2000 subunidades de proteínas. Se ha descrito que 24 productos génicos están involucrados en el ensamble de la cápside; 22 en el ensamble de la cola; 6 en el ensamble de las fibras; y más de 10 involucrados en el andamiaje y catálisis de proteínas, pero que no están presentes en el fago ensamblado (4) (Figura 1).

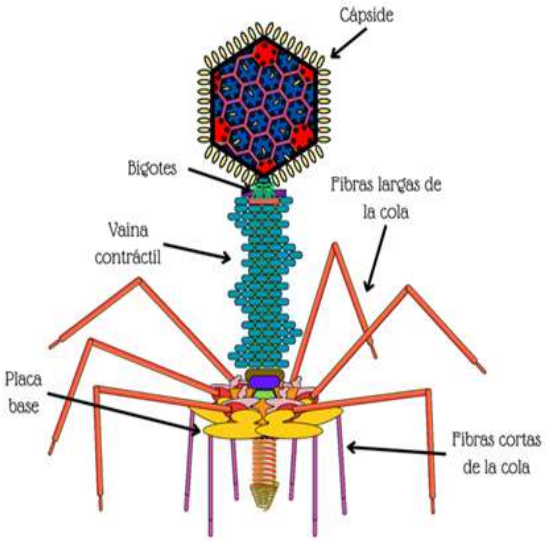


Figura 1. Arquitectura del fago T4. (Adaptado y modificado de [1]).

El proceso de formación del bacteriófago T4 se da por el ensamblaje simultáneo e independiente de varios componentes: 1) la cápside; 2) la cola; 3) la fibritina (también conocida como “bigotes”); y 4) las fibras largas de la cola (Figura 2).

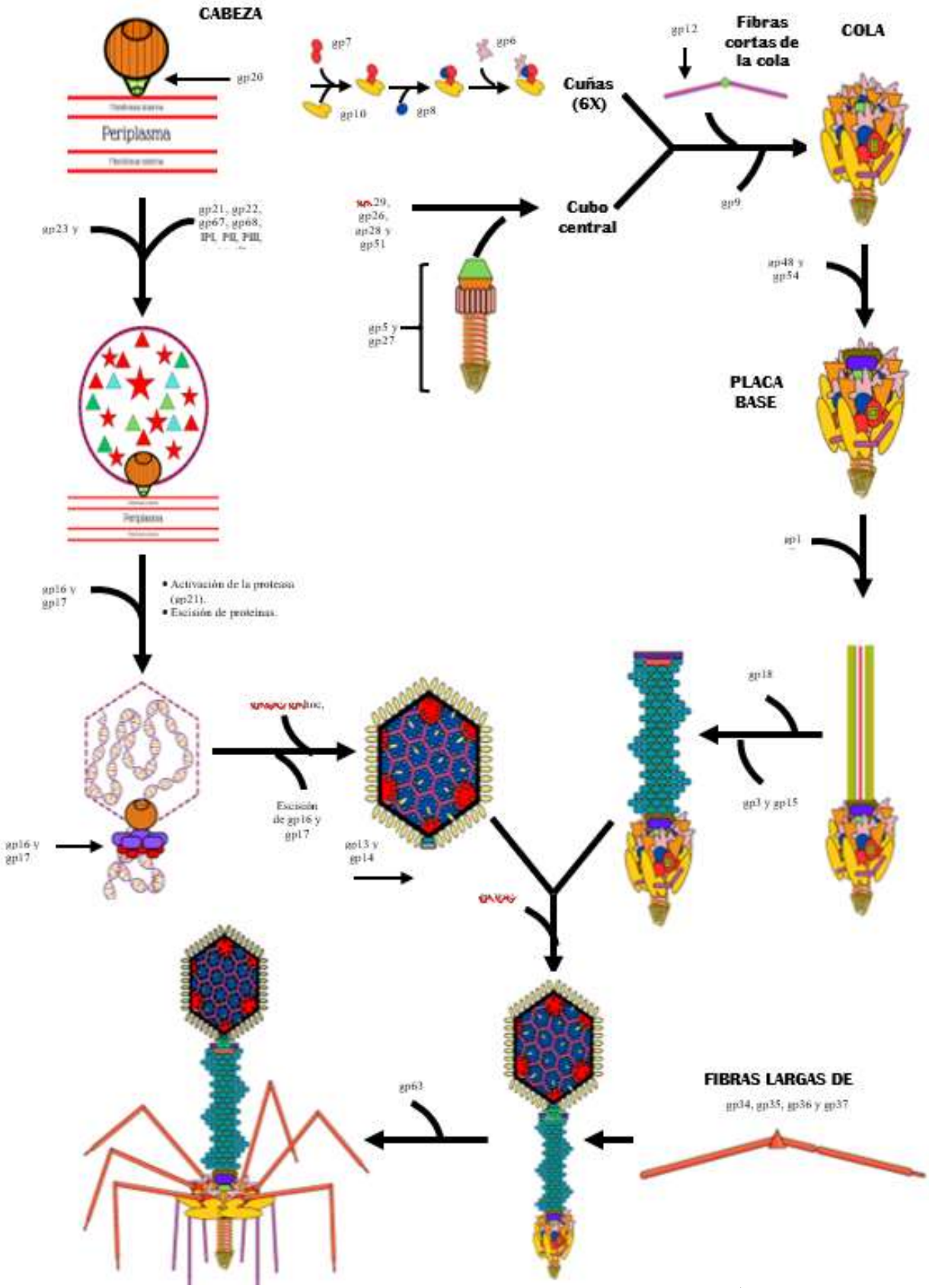


Figura 2. Ensamble del bacteriófago T4 (Adaptado y modificado de [1]).

El estudio actual y futuro de la estructura, ensamblaje y mecanismos moleculares del bacteriófago T4 podría permitir su reingeniería para una amplia gama de usos clínicos en medicina, como antibiótico, terapia génica, vacunas o para dirigirse a células anómalas (2).

1. Ensamble de la cápside.

Para que el bacteriófago alcance una cápside madura, se requieren los siguientes pasos: A) generación y proteólisis de la procápside, B) el empaquetamiento de ADN genómico y expansión de la procápside, C) el sellado de la procápside y, D) el anclaje de las proteínas accesorias a la cápside (Figura 3).

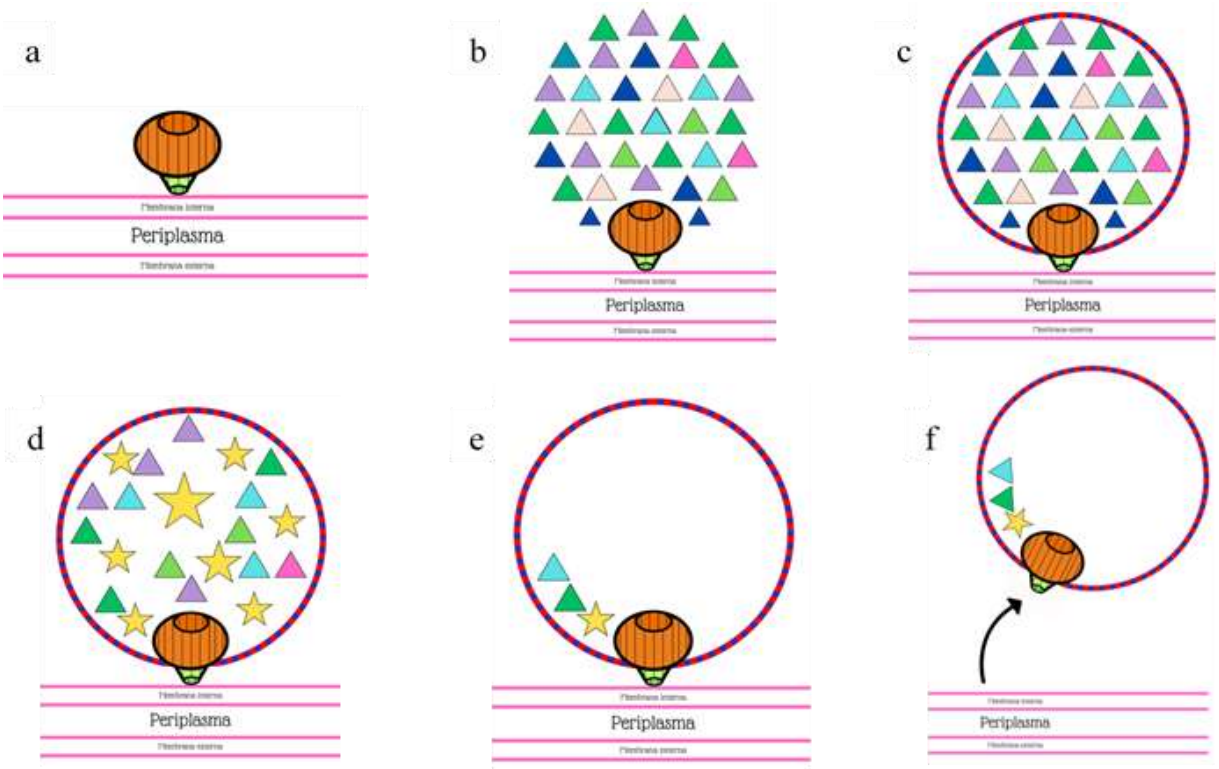


Figura 3. Formación y proteólisis de la procápside. a) La proteína gp20 se posiciona en la membrana interna de *E. coli*; b) copolimerización de proteínas internas (gp22, gp67, gp21, IPI, IPII, IPIII, gp68 y gpAlt) sobre gp20; c) copolimericación de proteínas externas (gp23 y gp24) alrededor de las proteínas internas; d) acción proteolítica de gp21; e) vaciado de la procápside, algunas copias de IPI (color azul claro), gpAlt (color verde) y gp21 (estrella amarilla) permanecen en el interior; f) desprendimiento de la procápside.

A. Formación y proteólisis de la procápside.

El proceso se inicia cuando el dodecámero de la proteína portal, gp20, se une a la membrana interna de la bacteria *E. coli*. Esta proteína, con forma de turbina, alberga un canal central que permite el paso del ADN durante su translocación. La gp20 facilita la unión del motor de empaquetamiento del ADN, actuando como un conducto para su translocación y, posteriormente, para la unión de proteínas de finalización. La gp20 se compone de una región clip, que se proyecta hacia el exterior de la cápside e interactúa con el motor de empaquetamiento y las proteínas de cierre. Además, las regiones del tallo, ala y corona, que se encuentran en el interior de la cápside, interactúan con el ADN empaquetado y las proteínas principales de la cápside (Figura 4) (5).

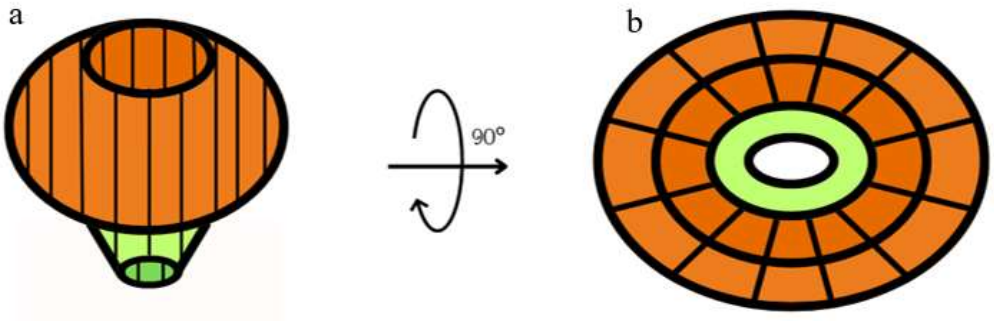


Figura 4. Proteína portal. En color verde se remarca la región clip; las regiones tallo, ala y corona en color naranja. a) vista lateral; b) vista superior.

Posteriormente se copolimerizan las proteínas de andamio (internas) que se ubican en el núcleo de la procápside y, simultáneamente, las proteínas principales de la cápside (externas).

Las proteínas de andamio (internas) comprenden:

- ⇒ gp22 (~580 copias), proteína central principal (2).
- ⇒ gp67 (~340 copias), proteína central principal (2).
- ⇒ gp21 (~55 copias), proteasa en forma de estrella donde la acción catalítica está en cada uno de sus brazos. Se encarga de degradar proteínas y escindir péptidos de algunas proteínas internas (2).
- ⇒ IPI (~360 copias), inhibidor de la endonucleasa GmrSO que protege al ADN viral durante el proceso de infección (6).
- ⇒ IPII (~360 copias), proteína determinante en la forma correcta de la cápside (1).
- ⇒ IPIII (~370 copias), proteína que elimina ensambles intermediarios incorrectos (1).
- ⇒ gp68 (~240 copias), proteína que elimina ensambles intermediarios incorrectos (1).
- ⇒ gpAlt (~40 copias), proteína que tiene afinidad por el ARN polimerasa del hospedero, lo que induce una preferencia transcripcional de los primeros genes del fago T4 (6).

Las proteínas principales (externas) comprenden:

- ⇒ gp23 (55 copias), protómeros que se ensamblan para formar pentámeros (5).
- ⇒ gp24 (930 copias), protómeros que se ensamblan para formar 155 hexámeros (5).

Una vez que las proteínas internas y externas se han copolimerizado en la gp20, la proteasa (gp21) procede a degradar completamente las proteínas gp22, gp76 y gp68. Además, escinde los péptidos de IPI, IPII, IPIII y gpAlt. Se supone que los péptidos escapan de la procápside a través de aberturas, lo que libera espacio para el empaquetamiento del ADN. Tras este proceso de degradación, las protesas se degradan entre sí, dejando aproximadamente una sola proteasa dentro de la procápside (2).

Tras la intervención de la proteasa, la procápside se vacía y se despliega de la membrana interna. La región “clip” de la proteína portal (gp20) se prepara para acoger el complejo motor encargado de empaquetar el ADN viral (7) (Figura 5).

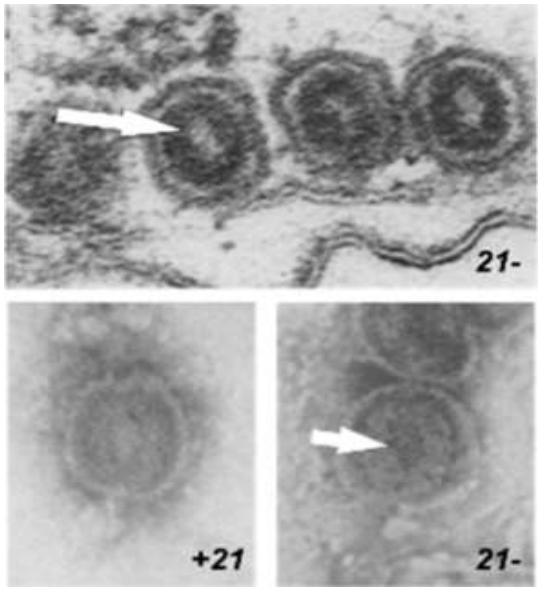


Figura 5. Imagen por microscopía electrónica del ensamblaje inicial de procápside. Procápside anclado a la membrana interna de *E. coli*, a través del portal, alrededor se ensamblan las proteínas externas. La flecha blanca indica un orificio central en la procápside en ausencia de la proteasa (Adaptado y modificado de [6]).

B. Empaquetamiento de ADN genómico y expansión de la procápside.

El envasado del ADN requiere de una maquinaria compuesta por dos complejos proteicos:

⇒ Un oligómero en forma de anillo conformado por 11-12 monómeros de terminasas pequeñas, gp16 (Figura 6). Este actúa como un regulador de la maquinaria de envasado y su función principal es reconocer el concatémero viral e inducir su envasado mediante la estimulación de la terminasa larga (gp17). Por otro lado, la terminasa corta se compone de tres regiones: dominio central de oligomerización, que constituye el canal central; el dominio N-terminal, que participa en el reconocimiento y enrollamiento periférico del ADN; y el dominio C-terminal, que estimula la ATPasa de la terminasa larga (gp17) y sirve como zona de anclaje a la terminasa larga (8, 9).

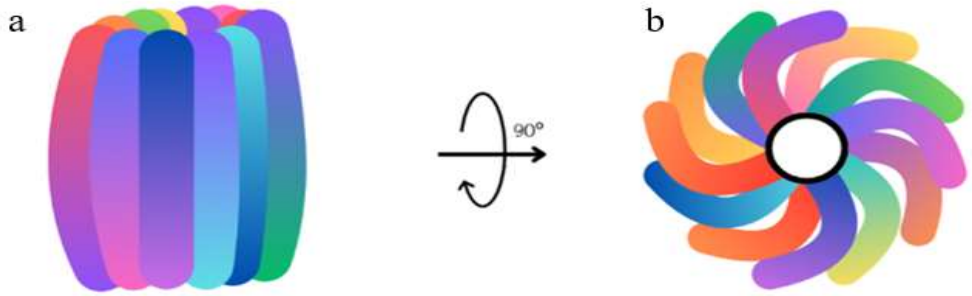


Figura 6. Oligómero de terminasas pequeñas (gp16). a) vista lateral; b) vista superior.

⇒ Un oligómero pentamérico conformado por terminasas largas (gp17) que actúa como el motor de empaquetamiento. Este consta de dos dominios: el N-terminal, que regula la actividad de la ATPasa y se ensambla a la región “clip” de la proteína portal; y el C-terminal, que está involucrado en la actividad de la nucleasa y se ensambla a la terminasa pequeña (gp16) (8, 9) (Figura 7).

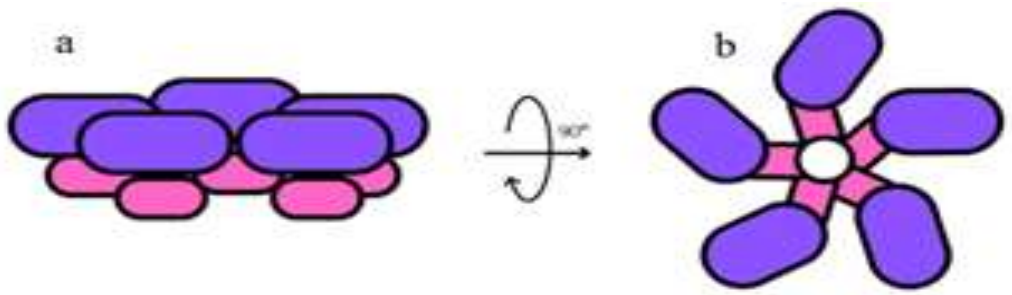


Figura 7. Oliogómero pentamérico de proteasas largas (gp17). En color morado se remarca el dominio N-terminal; en color rosa se remarca el dominio C-terminal. a) vista lateral; b) vista superior.

El modelo general de empaquetamiento se inicia cuando el oligómero gp16 localiza y enreda en su periferia una cadena de ADN concatémero. Posteriormente, se ancla al dominio C-terminal de gp17 para activar su endonucleasa y realizar un corte romo en el sitio específico "pac" del ADN viral, dando origen a la maquinaria de empaquetamiento. Después, la maquinaria se dirige a la proteína portal (gp20), el oligómero de gp16 se desprende y se unen cuatro terminasas largas adicionales. La activación de la ATPasa da inicio al empaquetamiento del ADN recién cortado (8, 9), traslocando hasta ~2000 pb/s mediante una fuerza superior a 60pN (5). El ADN es empaquetado longitudinalmente (7) (Figura 8).

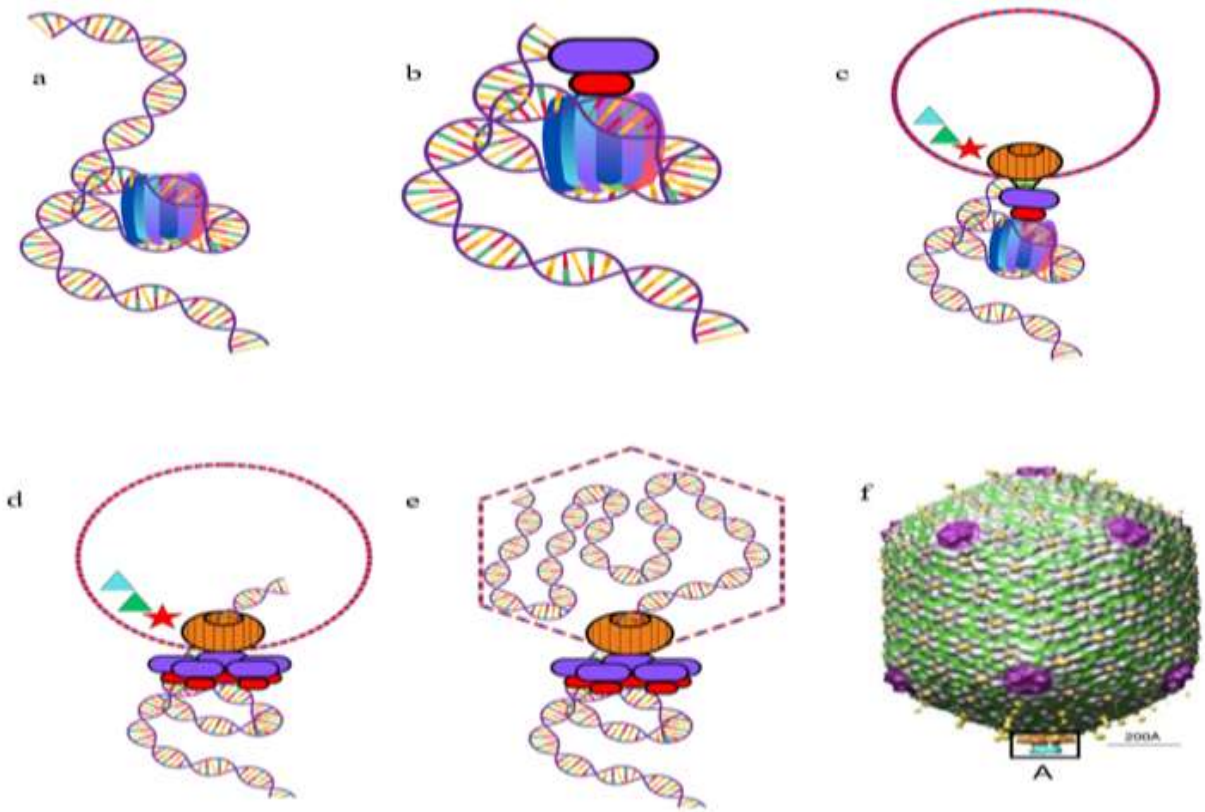


Figura 8. Envasado de ADN. a) La gp16 localiza y enrolla el ADN concatémero; b) gp17 (representada con color morado y rojo) se ancla a gp16 y se efectúa un corte; c) la maquinaria de envasado se posiciona en gp20 (representada con color naranja y verde); d) desprendimiento de gp16, formación del pentámero gp17 e inicio del envasado; e) empacado longitudinal del ADN viral y cambio conformacional de la procápside; f) reconstrucción crio-EM que muestra el motor de empaquetamiento ensamblado en la proteína portal (Adaptado y modificado de [7]).

Conforme el ADN se va empacando, se genera una presión interna que induce cambios en la conformación de la procápside. Esta presión ejerce una fuerza de expansión que se inicia en la interfaz portal-cápside, desencadenando un "efecto dominó" entre las proteínas principales (gp23 y gp24), lo que estabiliza una capa extendida. Como resultado, el volumen de la procápside aumenta aproximadamente un 70%, incrementando su longitud de 950Å a ~1200 Å y su anchura de ~700 Å a ~860 Å; además, la conformación de la procápside cambia a una forma icosahédrica. Los hexámeros (155 unidades), conformados por gp24, rodean a los pentámeros (11 unidades) que se ubican en 11 de los 12 vértices de la cabeza icosahédrica. El vértice restante es ocupado por la proteína portal (gp20) (Figura 9) (3).

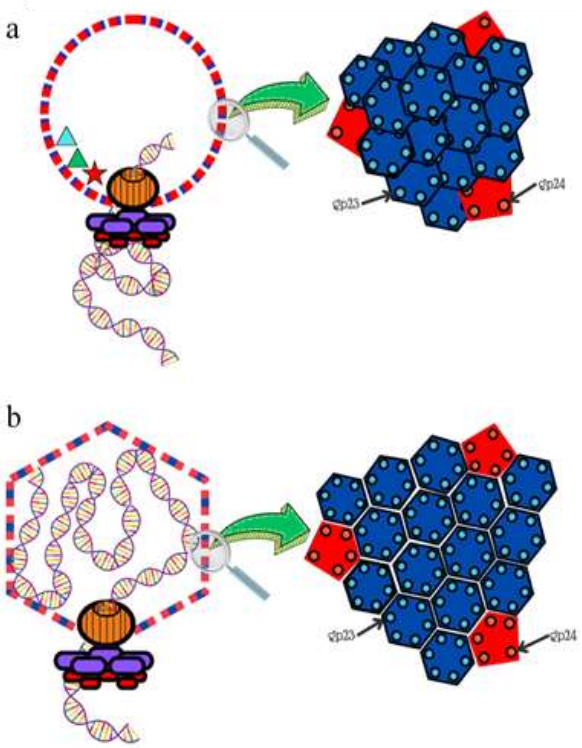


Figura 9. Expansión de la cápside. a) antes del envasado, los hexámeros (color azul) compuestos por los protómeros gp23 (círculos azul cian) y pentámeros (color rojo) conformados por los protómeros gp24 (círculos rojos) se encuentran agrupados entre sí; b) durante el envasado, los hexámeros y pentámeros se dispersan y reacomodan para conformar una cápside icosahédrica.

C. Cierre de la procápside.

Una vez que el ADN viral ha sido completamente empaquetado (un proceso que toma aproximadamente 5 minutos), las regiones del ala y corona de la proteína portal (gp20) reciben una señal de finalización. Esto provoca que se empuje hacia afuera y, como consecuencia, la terminasa larga (gp17) realiza un corte final al ADN concatemérico y se disocia de la región "clip" (10). Inmediatamente después, la estructura "cuello", formada por el complejo dodecamérico de gp13 que interactúa con la proteína portal (gp20), y el complejo hexamérico gp14, que interactúa con gp13 (11) sella la proteína portal. Esto evita la fuga del ADN recién empaquetado y, al mismo tiempo, crea una plataforma de anclaje para la cola, que ya ha sido ensamblada de manera simultánea e independiente (Figura 10) (5, 6).

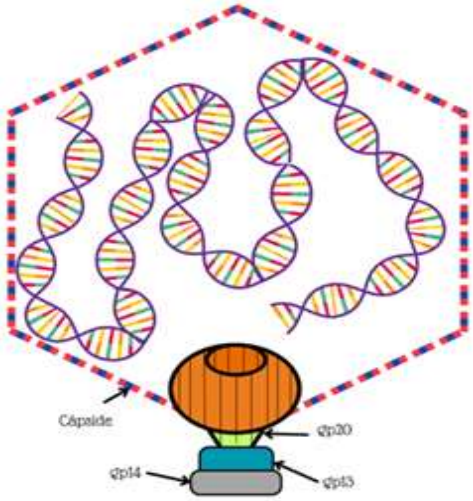


Figura 10. Ensamble del complejo proteico "cuello" a la proteína portal (gp20).

D. *Anclaje de proteínas de accesorio a la cápside.*

El bacteriófago T4 se caracteriza por la presencia de proteínas adicionales o accesorias que refuerzan a su cápside, otorgándole propiedades únicas (Figura 11). Estas proteínas accesorias se adhieren a la

cápside durante la etapa final de su maduración, e incluyen:

⇒ Soc. Esta proteína, similar a una malla, se ubica entre los capsómeros hexaméricos uniéndolos entre sí. La proteína Soc estabiliza la cápside y la protege contra condiciones extremas, como altos niveles de pH (pH 11), temperatura (60 ºC), choque osmótico y agentes desnaturalizantes (3).

⇒ Hoc. Esta proteína se une en el centro de los hexámeros. Posee dominios similares a los de las inmunoglobulinas, lo que confiere a la superficie del fago una consistencia viscosa. Esto permite que el fago se adhiera de manera reversible a distintas superficies, como la de una bacteria (sin infectarla), utilizándola como medio de transporte para desplazarse a diversos lugares. Además, se cree que la unión a superficies mucosas le permite lisar a bacterias recién llegadas (1,5).

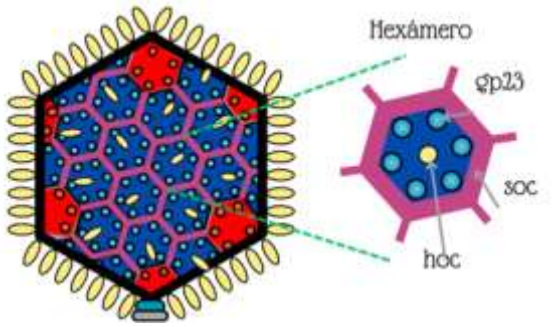


Figura 11. Proteínas de accesorio.

2. Ensamble de la cola.

Una vez que la cápside ha alcanzado su madurez, está preparada para acoplar la cola, la cual ha sido ensamblada de manera independiente y simultánea. La cola es un complejo macromolecular de gran tamaño. Su ensamblaje es un proceso secuencial que involucra 22 genes. El proceso de ensamblaje se puede resumir en dos pasos: A) ensamble de la placa base que sirve como cimiento para el B) ensamble del tubo de la cola y una vaina, que posteriormente se conectarán al complejo proteico “cuello” (gp13 y gp14).

A. Ensamble de la placa base.

Ubicada en el extremo distal, es un conjunto multiproteico compuesto por seis cuñas que rodean un cubo central (12). El ensamblaje de la placa base es un proceso secuencial que comienza con la formación independiente de las seis cuñas, las cuales posteriormente se unen al cubo central, también formado de manera independiente. Finalmente, la unión se refuerza con la adición de otras proteínas.

La estructura y ensamble de la cuña están determinados por las proteínas gp6, gp7, gp8, gp10 y gp11.

⇒ gp6. Esta proteína dimérica tiene forma de cúpula y se superpone con gp7. Se compone de dos dominios: N-terminal, que se encuentra entre las cuñas vecinas y el dominio C-terminal, que se encuentra dentro de la cuña. Seis dímeros de gp6 interactúan entre sí para formar un anillo (13).

⇒ gp7. Esta proteína monomérica actúa como columna vertebral para la conexión de las proteínas restantes de la placa base. Se divide en seis dominios: el dominio I, tiene un pliegue similar a una inmunoglobulina; el dominio II, es una lámina beta-antiparalela; el dominio III y IV, interactúan con gp8 y gp10; el dominio V, interactúa con el dominio IV; y el dominio VI, interactúa con la región N-terminal de gp10 (12, 13).

⇒ gp8. Esta proteína se conecta con el dominio IV de gp7 (12).

⇒ gp10. Esta proteína tiene 4 dominios: el dominio I, interactúa con el dominio IV de gp7; el dominio II, funciona como un adaptador para unir las fibras cortas de la cola; el dominio III, interactúa y une a gp11 a la placa

base; y el dominio IV, se une al dominio VI de gp7 en conformación de cúpula y a gp9 en conformación de estrella (12).

El ensamble de la cuña se da de manera secuencial (Figura 12). Inicialmente, los dominios I y IV del trímero gp10 se unen a los dominios IV y VI del monómero gp7, respectivamente. Este ensamblaje es esencial para permitir que el dímero gp8 se una a este complejo. La unión de gp10-gp7-gp8 genera una orientación favorable para la unión subsiguiente de gp6 al dominio IV de gp7 (13).

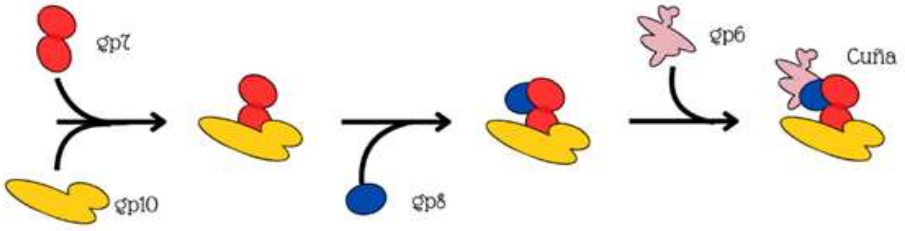


Figura 12. Ensamble de la cuña.

El cubo central es un complejo proteico que adopta una conformación similar a una antorcha. Tiene una longitud de 190 Å y presenta un diámetro interno y externo de 30 Å y 80 Å, respectivamente. Este complejo está compuesto por los monómeros gp21, gp26, gp28 y gp29; y el complejo de los trímeros gp5-gp27 (Figura 13) (12-14).

⇒ gp5. Es una proteína que puede dividirse en dos dominios:
- El dominio N-terminal o también conocido como gp5*. Puede subdividirse en:
  - Dominio OB-fold, es un adaptador que conecta a gp27 con el dominio C-terminal de gp5 (aguja) (14).
  - Dominio lisozima, tiene la capacidad de hidrolizar el peptidoglicano de la bacteria. Este proceso permite que el tubo de la cola penetre en la bacteria, facilitando así la liberación del ADN fágico al citoplasma durante el proceso de infección (14).
- El dominio C-terminal o también conocido como gp5C. Tiene una estructura similar a una aguja. Esta estructura posee una carga altamente negativa que le permite repeler la bicapa lipídica de la membrana externa de la bacteria. Esta capacidad de repulsión es crucial para realizar una perforación exitosa durante el proceso de infección (14).

⇒ gp51. Proteína con actividad catalítica (15).

⇒ gp26. Componente de la placa base que se desconoce su función específica (15).

⇒ gp27. Proteína con una función de canal para la salida del ADN durante el proceso de infección (15).

⇒ gp28. Componente de la placa base que se desconoce su función específica (15).

⇒ gp29. Ha sido identificada como la proteína de cinta métrica (15).

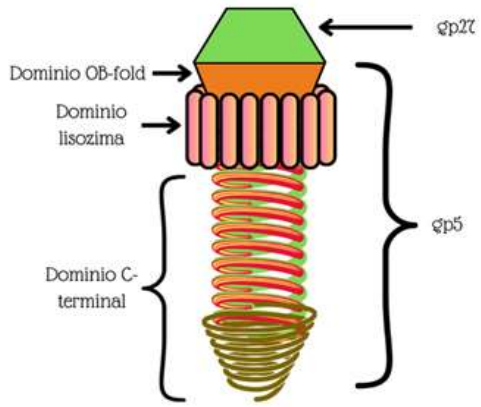


Figura 13. Conformación del complejo gp5-gp27.

Una vez que la seis cuñas se ensamblan individualmente, estas se acoplan alrededor del cubo central para formar la placa base. La unión se realiza a través de las proteínas gp6, presente en la cuña, y gp27 presentes en el cubo central (13). Posteriormente, gp53, una proteína monómera de forma “V”, refuerza la unión entre las cuñas acoplándose entre las proteínas gp6 y gp7 de cada cuña (12). Para estabilizar aún más la configuración de la placa base, un trímero de la proteína gp9, que sirve como conector para las fibras largas de la cola, se ancla al dominio III de cada gp7. Simultáneamente, un trímero de gp12 (fibras cortas de la cola) se anclan a cada gp10 (13).

Finalmente, para reforzar las interacciones entre el cubo central y las cuñas, un anillo hexamérico formado por el complejo proteico gp48 y gp54 (ambos hexámeros) se posiciona sobre gp27 del cubo central. Esto contribuye a la estabilidad y funcionalidad del conjunto (13) (Figuras 14 y 15).

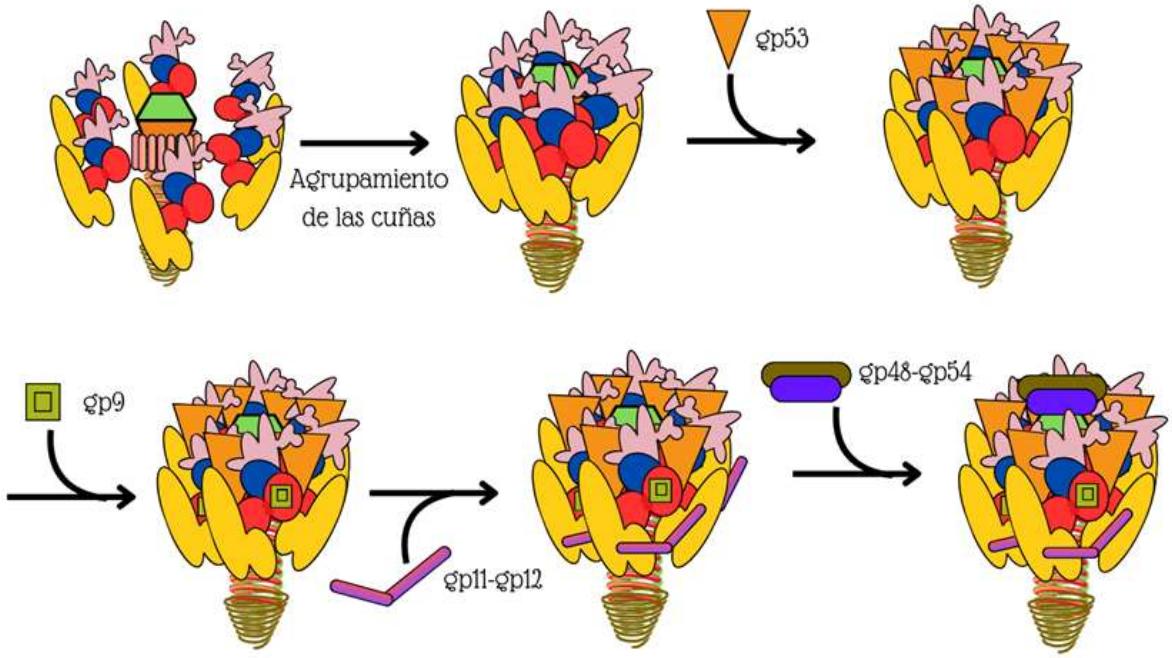


Figura 14. Formación de la placa base.

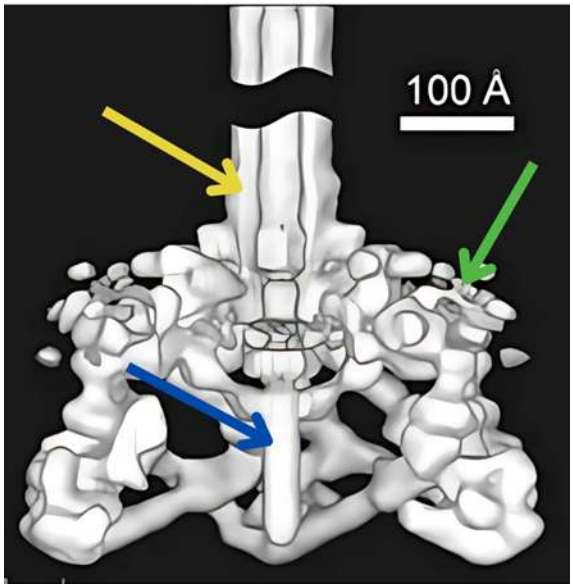


Figura 15. Reconstrucción crio-EM del conjunto placa base-tubo de la cola T4. Se visualiza las características internas: la flecha amarilla señala el tubo de la cola; la flecha verde señala la placa base y la flecha azul señala el complejo gp5-gp27 (Adaptado y modificado de [1]).

Las fibras cortas de la cola (complejo gp11-gp12) se componen de trímeros paralelos de gp12. El dominio N-terminal de este componente se ancla a gp10 de la placa base; mientras que el dominio C-terminal alberga un sitio que contiene un ion de zinc, necesario para ensamblarse correctamente con el receptor bacteriano. La proteína gp11 actúa como un sujetador de gp12 y se localiza en una región de bisagra aproximadamente a la mitad de su estructura (16, 17) (Figura 16).

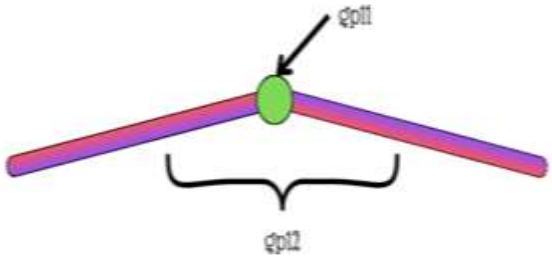


Figura 16. Estructura de la fibra corta.

La placa base puede adoptar dos conformaciones dependiendo de la situación: en un estado de relajación con la vaina (gp19) de la cola extendida, adopta una conformación de cúpula con diámetro aproximado de 520 Å y una altura de 270 Å; mientras que, durante el proceso de infección con la vaina de la cola contraída, cambia a una estructura estrellada con un diámetro aproximado de 610 Å y una altura de 120 Å (Figura 17) (13).

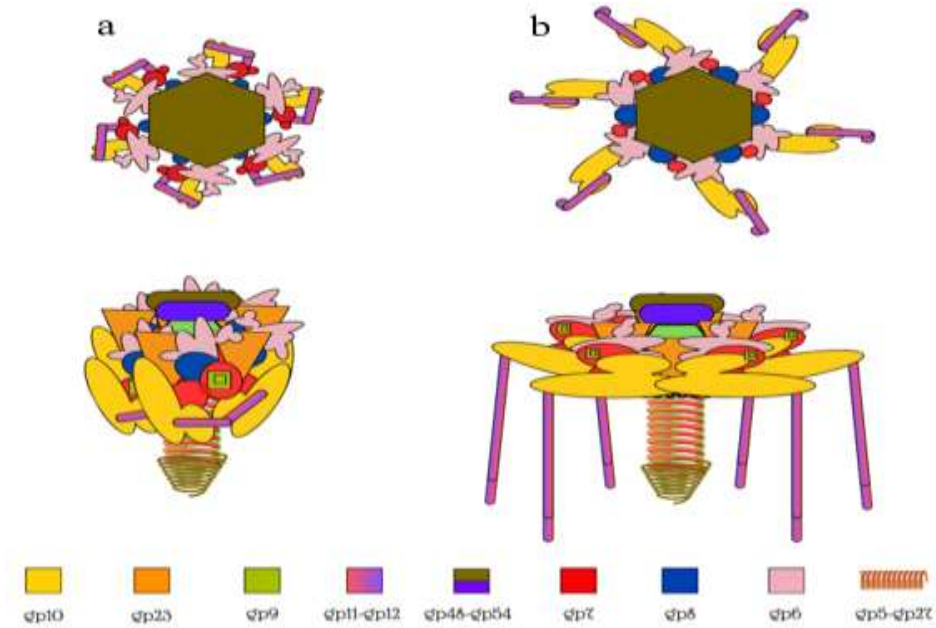


Figura 17. Cambio conformacional de la placa base. a) vista superior de la placa base (izquierda: cúpula; derecha: estrella); b) vista lateral de la placa base (izquierda: cúpula; derecha: estrella).

La placa base actúa como un centro de control, ya que su cambio de conformación desencadena señales que viajan a través de las fibras hacia el tallo y finalmente llegan a la cápside, permitiendo que el ADN sea expulsado durante el proceso de infección (12, 13).

B. Tubo y vaina de la cola.

Una vez que se ha ensamblado la placa base, es momento de montar el tubo y la vaina del tallo. Su polimerización comienza en la placa base y culmina con el ensamble de las proteínas terminadoras gp3 y gp15. El tubo de la cola es un complejo proteico hueco que sirve como canal para el desplazamiento del material genómico del fago. Por otro lado, la vaina, compuesta por complejos hexaméricos, puede adoptar dos conformaciones; durante el proceso de infección se contrae para empujar el tubo y el complejo gp5-gp27 hacia la pared del hospedador, permitiendo que el ADN viral se desplace al citoplasma; mientras que, en un estado de relajación, se encuentra extendida manteniendo la estabilidad del bateriófago (5). A continuación, se describen las proteínas involucradas:

- ⇒ gp3. Esta proteína termina la polimerización del tubo de la cola. Tiene una conformación hexamérica y se ubica en la parte superior, interactuando con gp18 y gp19 (2).
- ⇒ gp15. Esta proteína termina la polimerización de la vaina de la cola. Al igual que gp3, tiene una conformación hexamérica. Su parte superior e inferior (con carga positiva) interactúa directamente con gp14 (proteína del cuello) y gp3, respectivamente, mientras que su parte lateral (con carga negativa) interactúa con gp18 (2).
- ⇒ gp18. Esta proteína está conformada por 4 dominios. El dominio I se inserta en el dominio II, que a su vez se inserta en el dominio III, el cual está en comunicación con el dominio IV. Con 138 subunidades, conforman 23 anillos hexámericos, cada uno con 6 subunidades. La unión de estos anillos resulta en la vaina de la cola (12). En el anillo hexamérico, el dominio I sobresale de la cola (periferia) y sirve como unión para las fibras largas (14), mientras que los dominios II, III y IV están involucrados en la interacción con el tubo de la cola (gp19) (5). Puede adoptar dos conformaciones (Figura 18):
  - ○ Vaina extendida (momento de relajación). Esta estructura se encuentra interactuando directamente con el tubo de la cola (gp19). Posee un diámetro de 240Å y una longitud de 925Å. Además, los anillos de esta vaina tienen un espesor de 40.6Å y están girados 17.2º respecto al anillo anterior (18).
  - ○ Vaina contraída (momento de infección). En el momento de la infección, los anillos de la vaina adoptan una forma de hélice de 6 puntas y no interactúan con el tubo de la cola (gp19). La vaina contraída tiene un diámetro de 330Å y una longitud de 420Å. La contracción ocurre debido a un deslizamiento de las subunidades de gp18 (14).

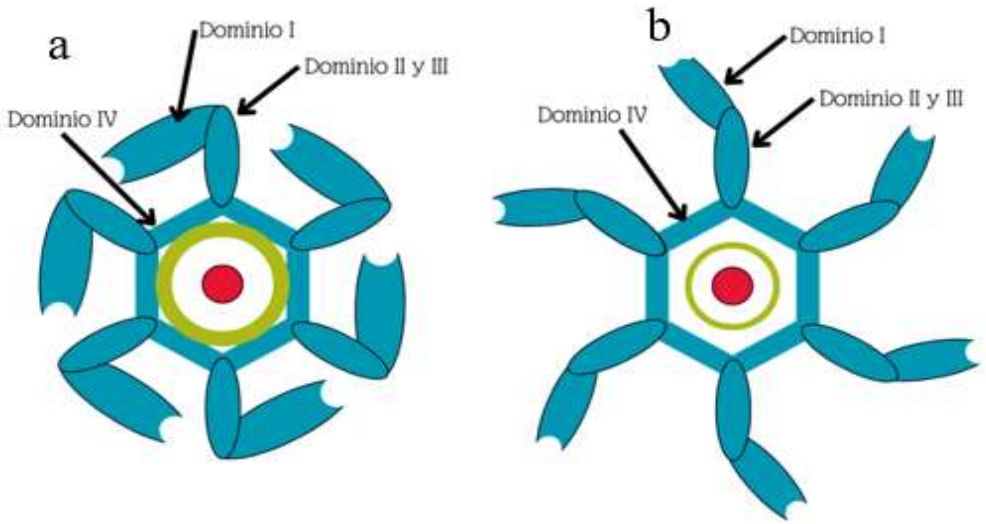


Figura 18. Vista superior de la conformación hexamétrica de gp18 (azul cian, gp18; verde cian, gp19; rojo, gp29). a) vaina extendida, b) vaina contraída.

⇒ gp19. Esta proteína polimeriza el tubo de la cola (14). Tiene una conformación de un tubo liso y hueco conformado por 138 unidades que se encuentran rodeadas por la vaina de la cola (12). Tiene una longitud de 925Å (2) y un diámetro externo e interno de 90Å y 40Å, respectivamente (14) (Figura 19).

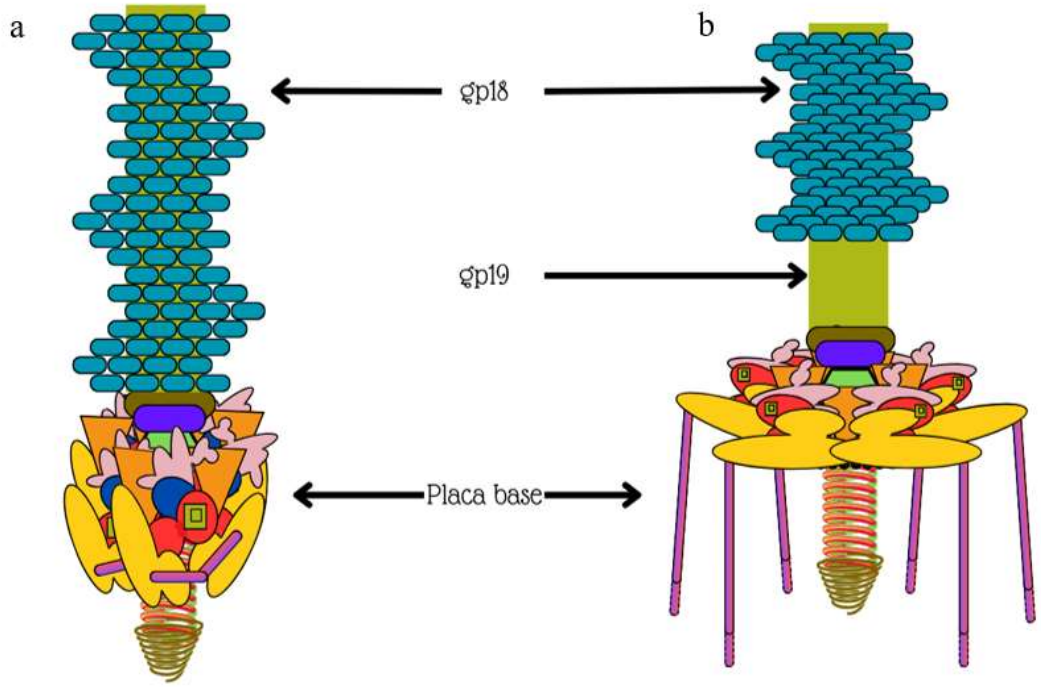


Figura 19. Posición de gp9. a) conformación extendida; b) conformación contraída.

⇒ gp25. Proteína iniciadora de la polimerización de gp18 (12) (Figura 20).

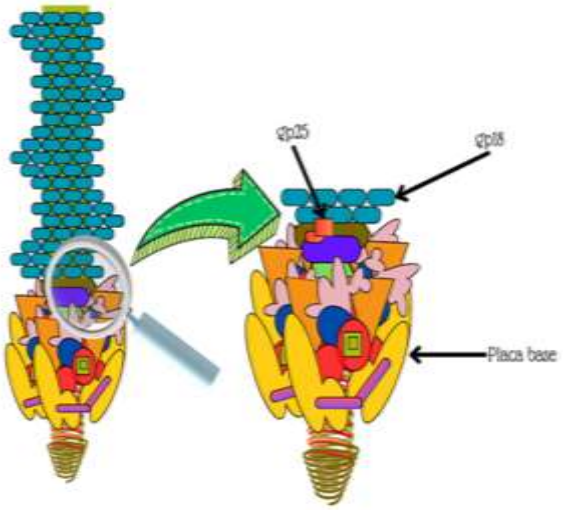


Figura 20. Posición de gp25 (rojo-naranja). Inicia la polimerización de gp18.

⇒ gp29 Tiene un papel crucial en la polimerización de la "cinta métrica", es un componente esencial en el ensamble del cubo central de la placa base (19). Esta proteína se localiza a lo largo del eje central del tubo del tallo (gp19) y se cree que juega un papel determinante en la definición de su longitud (1) (Figura 21).

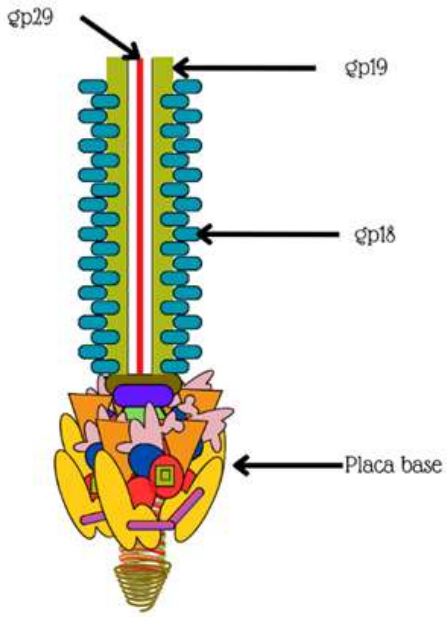


Figura 21. Posición de gp29.

Aún no se ha determinado qué factor exacto define la longitud de la cola. Sin embargo, la hipótesis más sólida hasta el momento sugiere que el tubo de la cola (gp19) se polimeriza progresivamente conforme se despliega la cinta métrica (gp29). Una vez que este proceso concluye, la proteína terminadora gp3, que marca el término, se acopla a la última fila de las subunidades gp19 y gp29. Paralelamente, la vaina de la cola (gp18) se va formando simultáneamente con el tubo de la cola (gp19), utilizando este último como una especie de andamio. Al finalizar su polimerización, la proteína terminadora gp15 se une a gp3 y a las últimas subunidades de gp18. Finalmente, la cola se completa y queda preparada para unirse a la cápside (14) (Figuras 22 y 23).

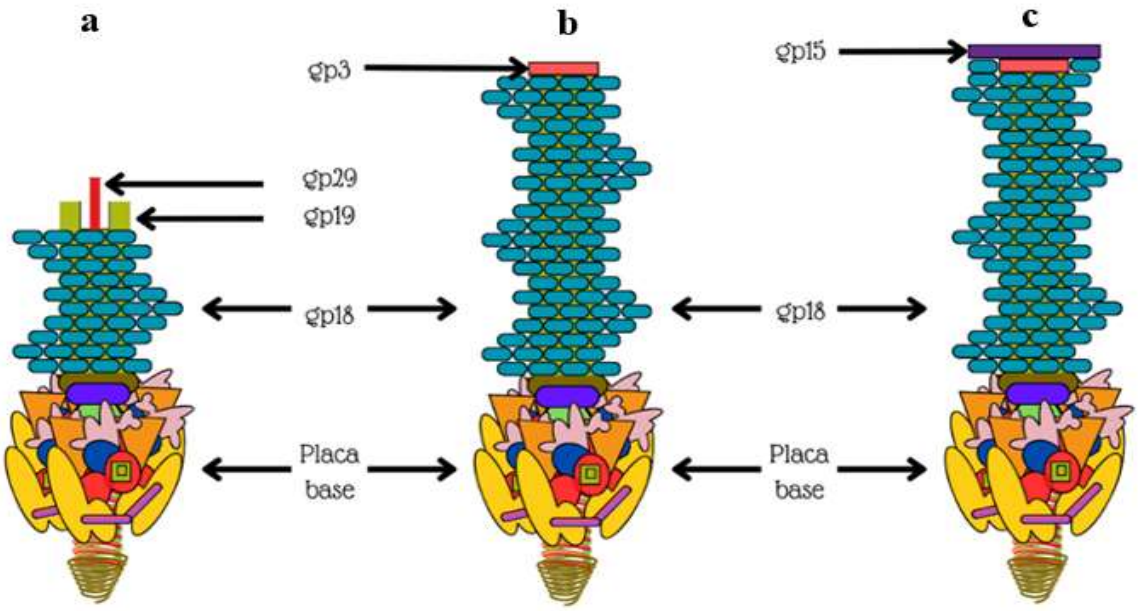


Figura 22. Ensamble completo de la cola. a) Polimerización simultánea del tubo de la cola (gp19) y la vaina de la cola (gp18), siguiendo el patrón de la cinta métrica (gp29); b) acoplamiento de la proteína terminadora gp3 a las subunidades de gp19 y gp29; c) acoplamiento de la proteína terminadora de gp15 a las subunidades de 18 y proteína gp3.

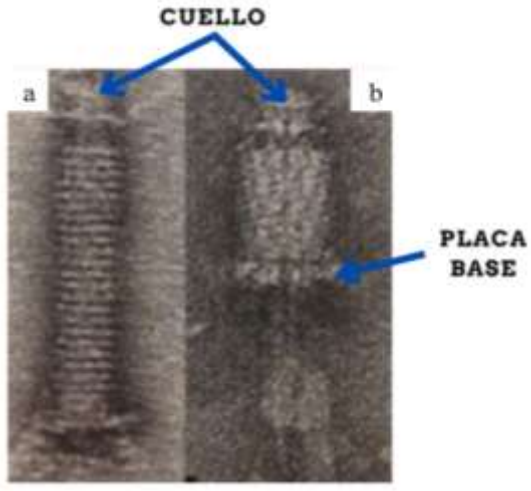


Figura 23. Imagen por microscopía electrónica de la vaina. a) vaina extendida y b) vaina contraída (Adaptado y modificado de [12]).

3. Fibritina o "bigotes".

Tras la asociación de la cola con la cápside, seis trímeros de fibritina, que tienen una longitud de 500Å y productos del gen wac, se anclan al complejo proteico gp13-gp14 (cuello) (5). Posteriormente, la bisagra (gp35) de la fibra larga de la cola se ancla al dominio C-terminal de la fibritina. Este anclaje orienta la parte distal de la fibra larga (gp36 y gp37) en una posición elevada, dirigiéndola hacia el dominio N-terminal de la fibritina. Mientras tanto, la parte proximal se une a gp9 de la placa base (12, 14). Este proceso mantiene a las fibras largas retraídas si las condiciones ambientales no son favorables, previniendo infecciones (Figura 24) (22).

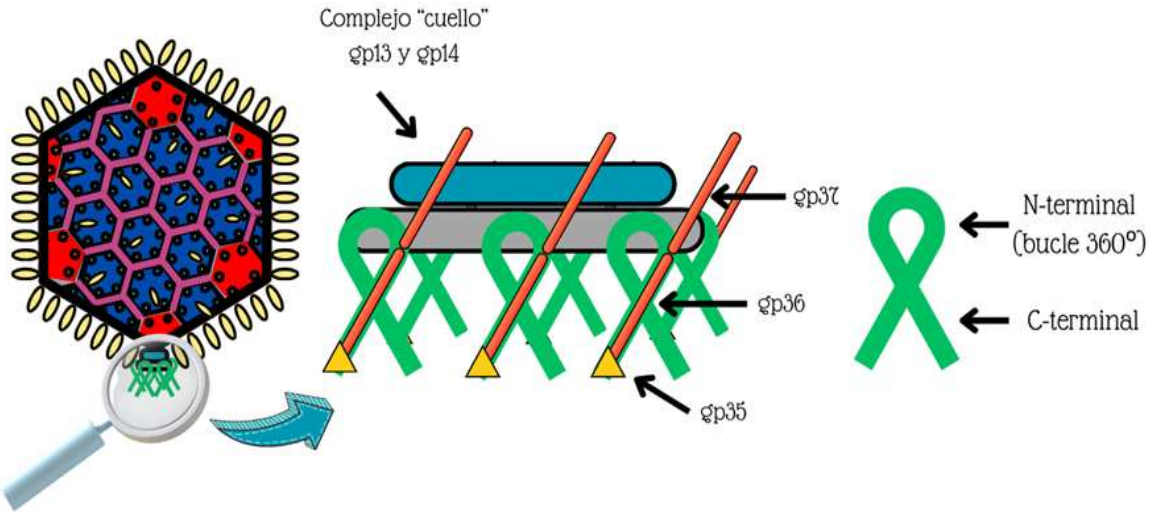


Figura 24. Estructura y ensamble de la fibritina (color verde).

Fibras largas de la cola.

Este es un complejo proteico que mide aproximadamente 1440Å de largo y 50Å de ancho (14). Está compuesto por las proteínas gp34, gp36 y gp37, y el monómero gp35 (21). De acuerdo con su estructura, las fibras largas de la cola se dividen en una parte distal y otra proximal, las cuales están ancladas por una bisagra y forman un ángulo de 20º (14).

La parte proximal está compuesta por el trímero gp34, cuyo dominio N-terminal se ancla a gp9 de la placa base, y su dominio C-terminal que se une a gp35. El monómero gp35 actúa como una bisagra, formando el ángulo de 20º entre la parte proximal y distal (14). La parte distal, o espina, está compuesta por el trímero gp36, que se localiza inmediatamente después de gp35; además, está presente el trímero gp37, cuyo dominio C-terminal incluye una punta de reconocimiento de los receptores ompC o LPS de *E. coli* (21) (Figuras 25 y 26).

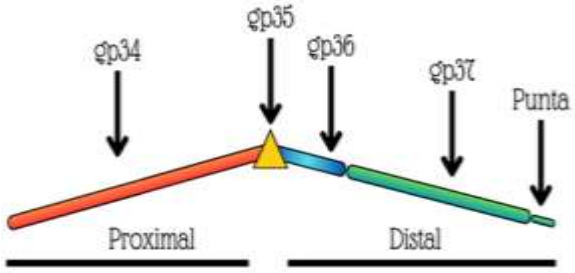


Figura 25. Conformación de la fibra larga de la cola. La parte proximal compuesta por gp34 (color rojo); la bisagra, gp35 (color amarillo); y la parte distal compuesta por gp36 (color azul) y gp37 (color verde).

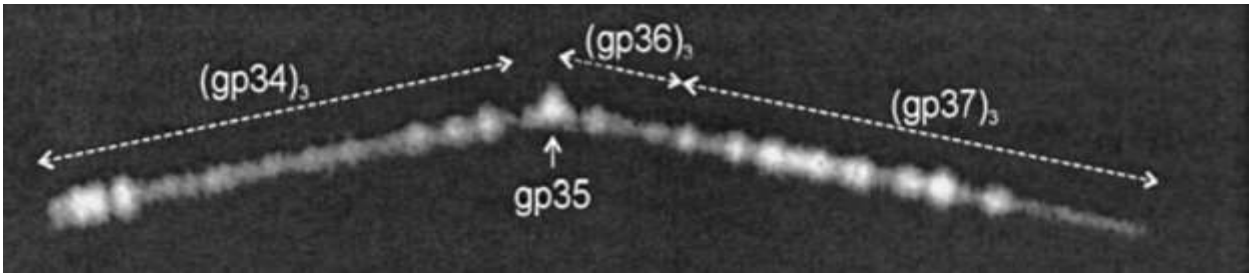


Figura 26. Imagen por microscopía electrónica de la conformación de la fibra larga de la cola (Adaptado y modificado de [1]).

El ensamble de las partes distal y proximal se realiza de manera independiente. Primero, la región N-terminal de gp36 se une a gp37. Luego, gp35 se ancla a gp36 y, finalmente, gp34 se ancla a gp35. Finalmente, las fibras largas, completamente ensambladas, se unen a gp9 de la placa base (14).

En condiciones adversas, las fibras se mantienen retraídas ancladas a la vaina de la cola y a los bigotes. Sin embargo, en condiciones de infección, la vaina se contrae y las fibras se desprenden de la vaina y de los bigotes (14). En este estado, las fibras actúan como si fueran piernas que pueden desplazarse sobre la superficie de *E. coli*, escaneando el sitio adecuado (receptores) para iniciar la infección (21). Cuando las fibras encuentran los receptores correctos, se transmiten señales hacia la placa base, lo que provoca el cambio de conformación a estrella y el despliegue de las fibras cortas hacia la superficie de *E. coli*. Para una fijación irreversible, la vaina se contrae, el tubo de la cola penetra la superficie del hospedador e inicia la eyección del genoma viral (5, 21) (Figura 27).

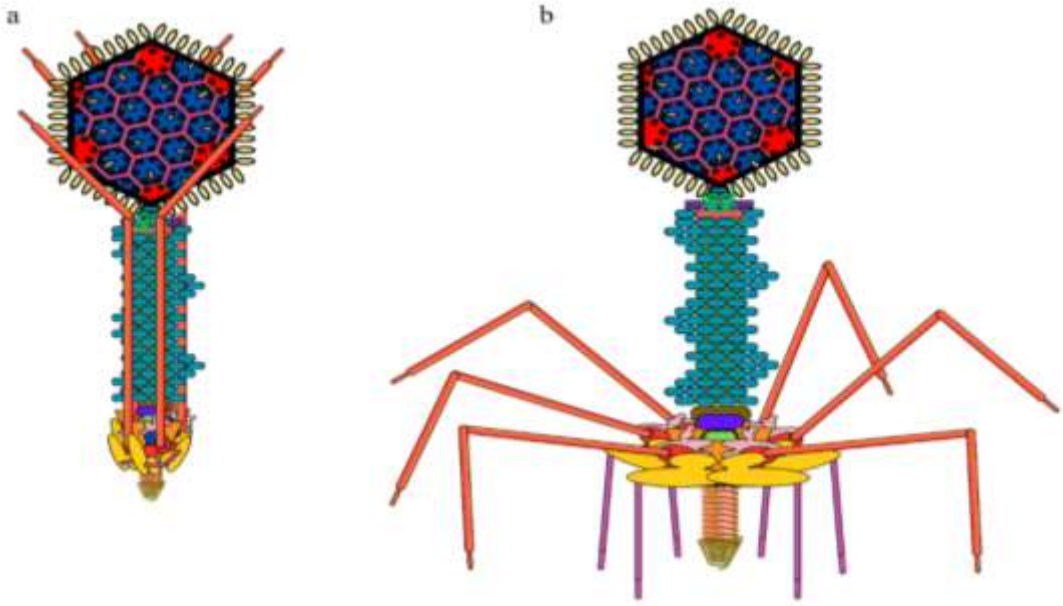


Figura 27. Cambio conformacional. a) condiciones adversas y fibras largas retraídas; b) condiciones de infección y fibras largas estiradas.

Conclusiones

El bacteriófago T4 representa un modelo en el estudio de la arquitectura y ensamblaje viral. Su organización altamente especializada, compuesta por una cápside icosaédrica, una cola contráctil y un complejo sistema de reconocimiento y adhesión, ha permitido elucidar mecanismos fundamentales de la biogénesis viral. La comprensión detallada de estos procesos ha revelado que la construcción del virión sigue un esquema modular, donde la cápside, la cola y las fibras se ensamblan de manera independiente antes de su unión final. El estudio del ensamblaje del fago T4 ha abierto nuevas oportunidades en biotecnología y nanotecnología. La estabilidad estructural de su cápside, junto con la especificidad de su sistema de adsorción, ha favorecido su uso en el desarrollo de vectores para terapia génica, estrategias de fagoterapia y la construcción de nanopartículas con aplicaciones biomédicas. El conocimiento acumulado sobre la arquitectura y ensamblaje del bacteriófago T4

sienta las bases para el diseño de herramientas innovadoras en ciencia y tecnología. Futuros estudios permitirán optimizar su aplicación en áreas como la biomedicina, la biotecnología industrial y la ingeniería de nanoestructuras virales.

Referencias

1. Leiman, P. G., Kanamaru, S., Mesyanzhinov, V. V., Arisaka, F., & Rossmann, M. G. (2003). Structure and morphogenesis of bacteriophage T4. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *60*(11), 2356–2370. https://doi.org/10.1007/s00018-003-3072-1.

2. Yap, M. L., & Rossmann, M. G. (2014). Structure and function of bacteriophage T4. *Future Microbiology, 9*(12), 1319–1337. https://doi.org/10.2217/fmb.14.91.

3. Rao, V. B., Fokine, A., Fang, Q., & Shao, Q. (2023). Bacteriophage T4 Head: Structure, Assembly, and Genome Packaging. *Viruses*, *15*(2), 527. https://doi.org/10.3390/v15020527

4. Mesyanzhinov, V. V., Leiman, P. G., Kostyuchenko, V. A., Kurochkina, L. P., Miroshnikov, K. A., Sykilinda, N. N., & Shneider, M. M. (2004). Molecular architecture of bacteriophage T4. *Biochemistry (Moscow), 69*(11), 1190-1202. https://doi.org/10.1007/s10541-005-0061-0.

5. Fokine, A., & Rossmann, M. G. (2014). Molecular architecture of tailed double-stranded DNA phages. *Bacteriophage, 4*(2), e28281. https://doi.org/10.4161/bact.28281.

6. Kuhn, A., & Thomas, J. A. (2022). The Beauty of Bacteriophage T4 Research: Lindsay W. Black and the T4 Head Assembly. *Viruses*, *14*(4), 700. https://doi.org/10.3390/v14040700.

7. Rao, V. B., & Black, L. W. (2010). Structure and assembly of bacteriophage T4 head. In *Virology Journal*, *7*. https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-356.

8. Dasgupta, S., Thomas, J. A., & Ray, K. (2024). Mechanism of Viral DNA Packaging in Phage T4 Using Single-Molecule Fluorescence Approaches. *Viruses*, *16*(2), 192. https://doi.org/10.3390/v16020192.

9. Gao, S., Zhang, L., & Rao, V. B. (2016). Exclusion of small terminase mediated DNA threading models for genome packaging in bacteriophage T4. *Nucleic Acids Research*, *44*(9), 4425–4439. https://doi.org/10.1093/nar/gkw184.

10. Chen, W., Xiao, H., Wang, X., Song, S., Han, Z., Li, X., Yang, F., Wang, L., Song, J., Liu, H., & Cheng, L. (2020). Structural changes of a bacteriophage upon DNA packaging and maturation. *Protein & Cell*, *11*(5), 374–379. https://doi.org/10.1007/s13238-020-00715-9.

11. Zhang, Z., Kottadiel, V. I., Vafabakhsh, R., Dai, L., Chemla, Y. R., Ha, T., & Rao, V. B. (2011). A promiscuous DNA packaging machine from bacteriophage T4. *PLoS biology*, *9*(2), e1000592. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000592.

12. Arisaka, F., Yap, M. L., Kanamaru, S., & Rossmann, M. G. (2016). Molecular assembly and structure of the bacteriophage T4 tail. *Biophysical reviews*, *8*(4), 385–396. https://doi.org/10.1007/s12551-016-0230-x.

13. Yap, M. L., Klose, T., Arisaka, F., Speir, J. A., Veesler, D., Fokine, A., & Rossmann, M. G. (2016). Role of bacteriophage T4 baseplate in regulating assembly and infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of*

America, *113*(10), 2654–2659. https://doi.org/10.1073/pnas.1601654113.

14. Leiman, P. G., Arisaka, F., van Raaij, M. J., et al. (2010). Morphogenesis of the T4 tail and tail fibers. *Virology Journal*, *7*, 355. https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-355

15. Petrov, V.M., Ratnayaka, S., Nolan, J.M. *et al.* Genomes of the T4-related bacteriophages as windows on microbial genome evolution. *Virol J* 7, 292 (2010). https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-292.

16. Hyman, P., & van Raaij, M. (2018). Bacteriophage T4 long tail fiber domains. *Biophysical Reviews*, *10*(2), 463–471. https://doi.org/10.1007/s12551-017-0348-5

17. Mesyanzhinov, V. V., Leiman, P. G., Kostyuchenko, V. A., Kurochkina, L. P., Miroshnikov, K. A., Sykilinda, N. N., & Shneider, M. M. (2004). Molecular architecture of bacteriophage T4. *Biochemistry (Moscow)*, *69* (11), 1190–1202. https://doi.org/10.1007/s10541-005-0064-9

18. Fokine, A., & Rossmann, M. G. (2016). Common evolutionary origin of procapsid proteases, phage tail tubes, and tubes of bacterial Type VI secretion systems. *Structure, 24*(11), 1928–1935. https://doi.org/10.1016/j.str.2016.08.013

19. Kostyuchenko, V. A., Chipman, P. R., Leiman, P. G., Arisaka, F., Mesyanzhinov, V. V., & Rossmann, M. G. (2005). The tail structure of bacteriophage T4 and its mechanism of contraction. *Nature Structural & Molecular Biology*, *12* (9), 810–813. https://doi.org/10.1038/nsmb975.

20. Aksyuk, A. A., & Rossmann, M. G. (2011). Bacteriophage assembly. *Viruses, 3*(3), 172–203. https://doi.org/10.3390/v3030172

21. Islam, M. Z., Fokine, A., Mahalingam, M., Zhang, Z., Garcia-Doval, C., van Raaij, M. J., Rossmann, M. G., & Rao, V. B. (2019). Molecular anatomy of the receptor binding module of a bacteriophage long tail fiber. *PLoS Pathogens*, *15* (12), e1008193. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008193
.