



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Respuesta del bacteriófago lambda a la respuesta SOS
de *Escherichia coli*.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

LUIS ANTONIO VÁZQUEZ COLLAZO



**DIRECTORA DE TESINA:
M en C Alina Uribe García
2017**

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria.

Con gran gratitud quiero dedicar este trabajo al laboratorio 4 de genética que se encuentra en la Unidad de Morfología y Función y a todos y cada una de las personas que lo conforman, gracias por permitir el uso constante de las instalaciones y el material para poder trabajar en un ambiente tan placentero que no me imagino fuera de ese lugar.

Mi tutora, mentora y amiga a la M En C Alina Uribe García, quien se ha tomado el arduo trabajo de transmitirme sus diversos conocimientos para poder realizar algo que creía en un principio difícil, sin mencionar que me ha ofrecido sabios consejos para formarme profesionalmente y como una mejor persona y claro su guía en los momentos más difíciles fueron lo que me han marcado para toda la vida, la estimo y aprecio demasiado, gracias maestra.

También es grato poder expresar el honor de haber trabajado a lado del Dr. Sergio Vaca Pacheco ya que sin su guía y enseñanza no se habría completado este trabajo, gracias por todo su apoyo y sobre todo su paciencia para poder transmitir ese conocimiento, sin mencionar que es una gran persona y un ejemplo a seguir.

Al Doctor Erasmo Negrete Abascal por haberme marcado en mi paso en el laboratorio con su personalidad muy propia de él como persona, gracias por su apoyo y sus palabras tan sabias cada que lo necesitaba, es admirable su trabajo y estoy agradecido por todo lo que me ha brindado.

Y claro también es un honor saber que la Dra. Gloria Luz Paniagua y el Dr. Eric Monroy Pérez formaron parte de mi comité, ya que de no haberme apoyado con su tiempo y dedicación para leerme, guiarme y sobre todo por las gratas observaciones, las cuales sirvieron para perfeccionar este trabajo.

A mi padre Héctor Vázquez Torres y a mis hermanos Héctor, Miguel Ángel y José Fidel que nunca dejaron de creer en las capacidades que tenemos todos como familia pero sobre todo a mi difunta madre Ma. Ester Collazo López de no ser por su confianza, su apoyo, sus hermosas enseñanzas y sus valores no hubiera logrado lo que me parecía un sueño muy lejano. Ojalá estuvieses aquí para ver lo que lograste como madre.

Obviamente estoy más que agradecido con la Biol. Nallely Gabriela Cortes Basurto por todo, desde el primer día que me guio para pedir una segunda oportunidad de retomar los estudios hasta el día de hoy, gracias siempre has estado ahí incondicionalmente apoyándome en cada paso que doy, no hay comparación eres una gran mujer a la cual admiro mucho, sin mencionar a la familia Cortes Basurto que también han sido una parte importante para poder culminar mi carrera en especial el señor Andrés Cortes García y a la Sra. Genoveva Basurto Miranda por sus palabras, apoyo y consejos.

Índice.

Dedicatoria	1.
Índice.	2.
1. Introducción.	3.
2. Constitución química de los fagos T2 y T4	4.
3. Formación de la “escuela del fago”	5.
4. Nacimiento de la Biología Molecular	5.
5. Ciclo Lítico	6.
6. Ciclo Lisogénico	11.
7. Respuesta SOS	16.
8. Conclusión	22.
9. Referencias	24.

1. Introducción

Los bacteriófagos son virus parásitos intracelulares obligados que infectan a bacterias. El parasitismo de los bacteriófagos ocurre a nivel genético; para multiplicarse en el interior de las bacterias utilizan los mecanismos de la bacteria para la replicación de su ácido nucleico, la transcripción genética y la traducción de sus RNAs mensajeros.

Los bacteriófagos fueron descubiertos en 1915 por el bacteriólogo inglés Frederick William Twort (Twort, 1915, Pirie, 1990), cuando observó que algunas de colonias de *Staphylococcus* eran muertas en el medio de cultivo por un agente capaz de atravesar los filtros que retenían bacterias. Dos años después los bacteriófagos fueron descubiertos, independientemente, por el microbiólogo Canadiense-Francés Félix D'Herelle (D'Herelle, 1917, D'Herelle, 2007), quien los nombró bacteriófagos o "devoradores de bacterias". Fue este investigador quien diseñó el método de titulación, que aún se utiliza para contar el número de unidades formadoras de placa (ufp) presentes en una suspensión de bacteriófagos; es decir, el número de éstos que son capaces de infectar a bacterias sensibles inmovilizadas en una caja de Petri con medio de cultivo sólido, que al lisarse y liberar la progenie de bacteriófagos que infectan a otras bacterias causan la aparición de una placa de lisis, cuyo aumento de diámetro queda limitado porque las bacterias ya no se multiplican, debido al agotamiento de los nutrimentos y por ello no producen más bacteriófagos. (Figura 1).

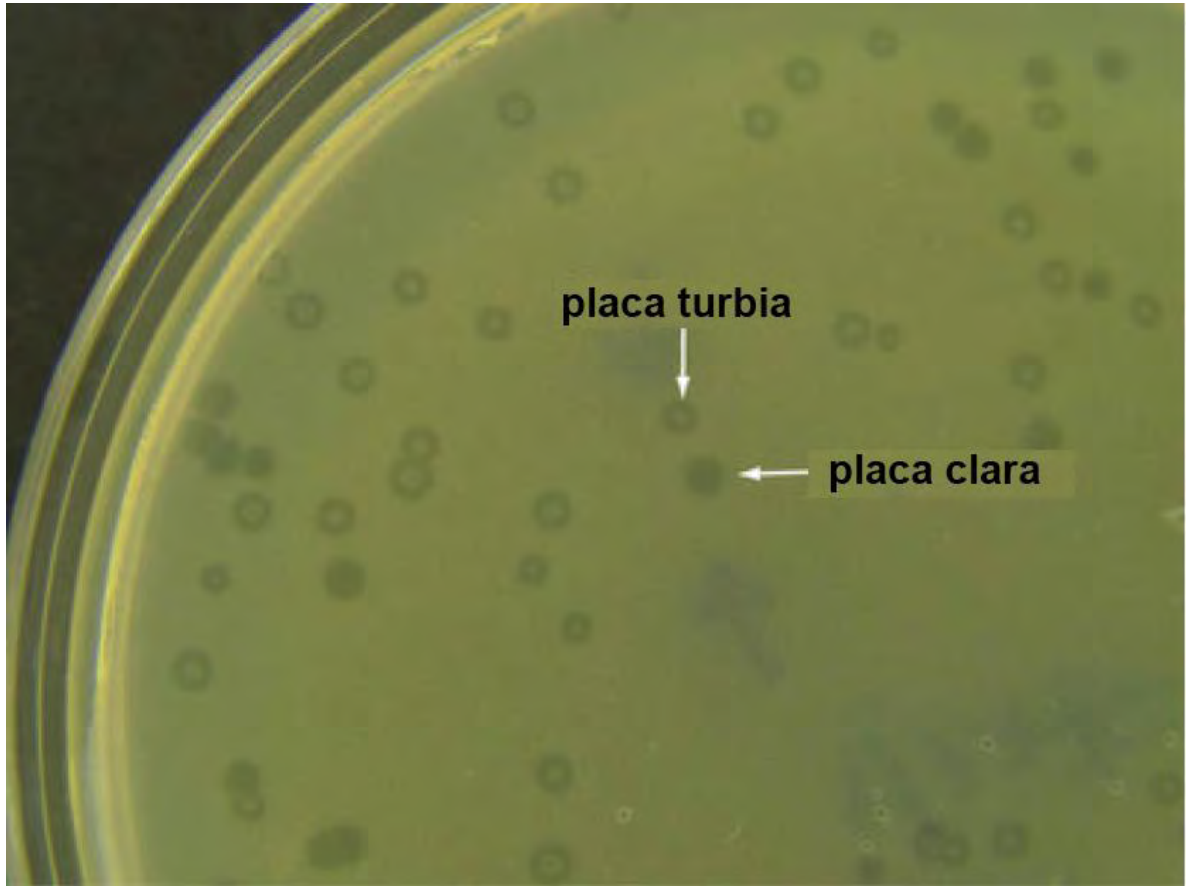


Figura 1. Unidades formadoras de placa (ufp). Los fagos temperados forman placas turbias y los fagos líticos forman placas claras. Modificado de <http://www.wwnorton.com/college/biology/microbiology2/ch/10/etopics.aspx> el 15 de marzo de 2017.

Generalmente el número de ufp es menor que el número de bacteriófagos en la suspensión, debido a que una fracción de ellos no puede infectar productivamente a las bacterias debido a que tiene algún defecto estructural, como la cápside o la cola rota.

2. Constitución química de los fagos T2 y T4

Hace ochenta y tres años Schlesinger (1934) purificó uno de los fagos T2 o T4 por centrifugación diferencial y filtración gradual de preparaciones crudas, y lo analizó

químicamente; encontró que estaban constituidos por la mitad de DNA y la mitad de proteínas.

3. Formación de la "escuela del fago"

En 1938 Max Delbrück y otros investigadores formaron "la escuela del fago", que por un poco más de 10 años estudió a los fagos T2 y T4 y contribuyó de varias maneras al conocimiento de los fagos. Hicieron el experimento de crecimiento en escalón y el ensayo sobre el crecimiento intracelular del fago. En el experimento de crecimiento en escalón se determinó el número promedio de fagos producido por cada bacteria infectada (tasa de eclosión o "burst size") y el tiempo mínimo necesario que se requiere desde el inicio de la infección hasta que se lisan las primeras bacterias del cultivo, liberando la progenie viral (periodo de latencia). En el experimento sobre el crecimiento intracelular del fago se determinó que durante parte del periodo de latencia el virus no está completo y su auto-replicación ocurre cuando los virus descendientes se ensamblan a partir de subestructuras sintetizadas previamente; el ensamble de las partículas virales ocurre después de un tiempo denominado periodo de eclipse, menor que el periodo de latencia (Ellis y Delbrück, 1939).

4. Nacimiento de la biología molecular

A partir de los trabajos del grupo de Max Delbrück nació la nueva disciplina Biología Molecular, y desde su inicio los bacteriófagos han jugado un papel relevante en su desarrollo. Con uno de ellos, el T2, se demostró que el DNA es el material genético (Hershey y Chase, 1952). Más adelante los fagos se usaron como modelo de estudio de distintos problemas de biología molecular, por ejemplo, los que tienen genoma de RNA pequeño de cadena sencilla se usaron como mRNA para estudiar la traducción *in*

in vitro en sistemas libres de células. Los fagos con DNA de cadena sencilla fueron modelo para el estudio de la replicación del DNA *in vitro* y la caracterización de muchos componentes del proceso y para el estudio de los intermediarios de replicación, que pudieron “congelarse” al no agregar el componente o los componentes necesarios para la siguiente etapa de la replicación. Muchos mecanismos de control de la transcripción fueron estudiados en los fagos de DNA de doble cadena, por ejemplo la represión, y la expresión genética secuencial.

5. Infección. Ciclo lítico

La infección comienza por el choque entre fagos y bacterias que lleva al fago a adsorberse a un receptor específico de la superficie bacteriana (Luria *et al.*, 1978). Algunos fagos, como f1 y f2, se adsorben al pilus F de *E. coli* y por ello solo infectan a las cepas F+ (Figura 2). Después de adsorberse el bacteriófago inyecta su DNA, mediante el proceso llamado inyección que comienza, en T4 (Figura 3), con la contracción de la vaina contráctil (Arscott y Goldberg, 1976; Moody, 1973) que rodea al tubo central de la cola. El tubo penetra al interior de la bacteria y a través de él pasa el DNA, desde una punta a la otra (Figura 4).

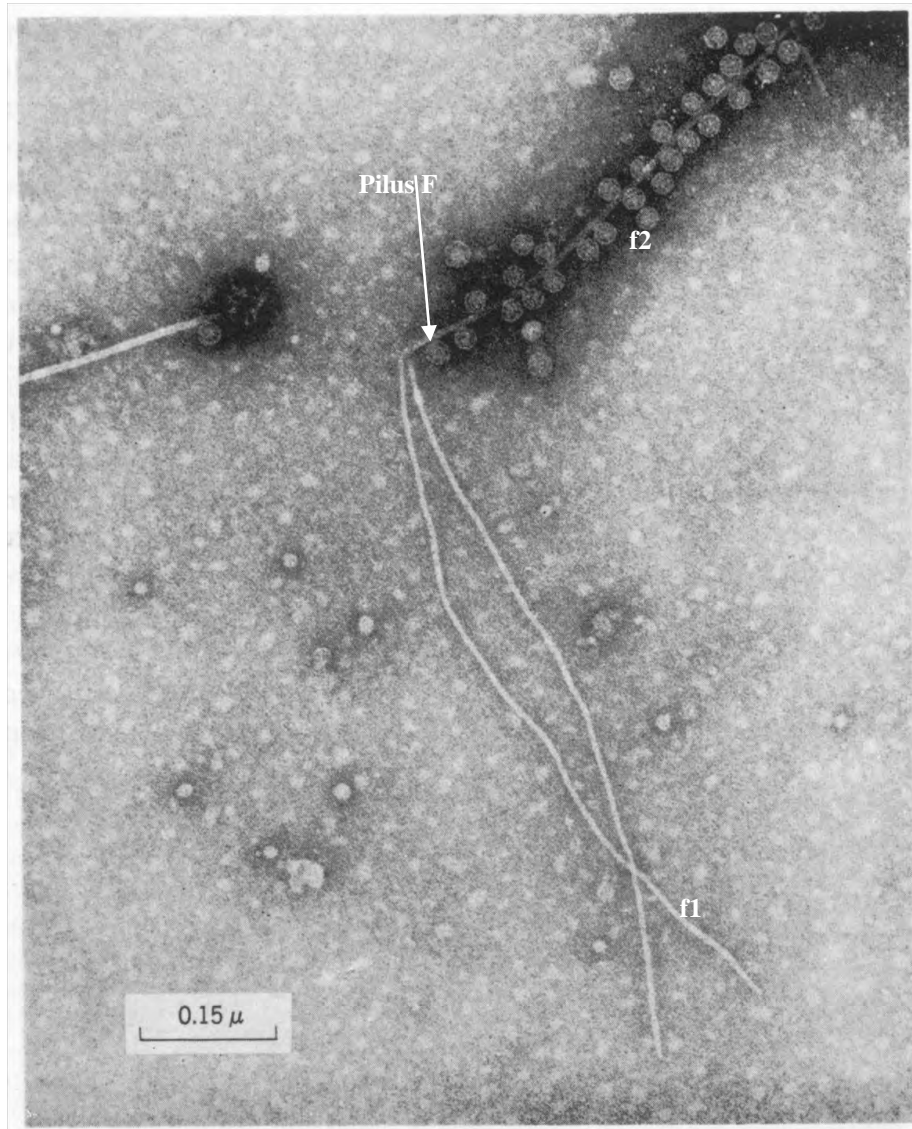


Figura 2. Adsorción de f1 y f2 al pilus F de *Escherichia coli* F+. (Tomado de Luria et al., 1978).

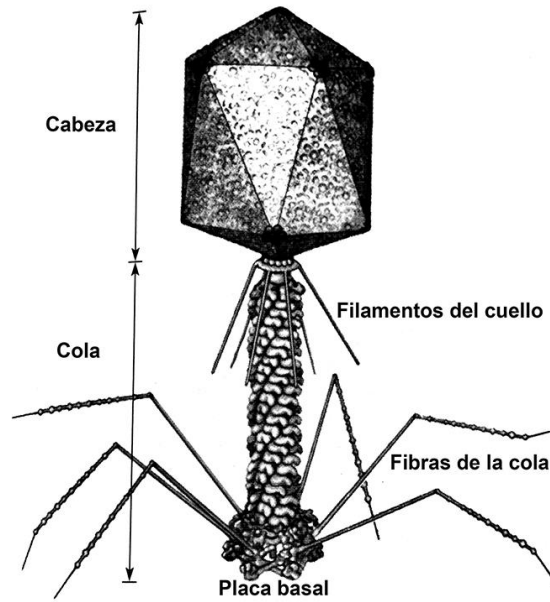


Figura 3. Representación esquemática del fago T4. El DNA está contenido en la cabeza. Modificado de: Snyder et al., 2013, p. 277).

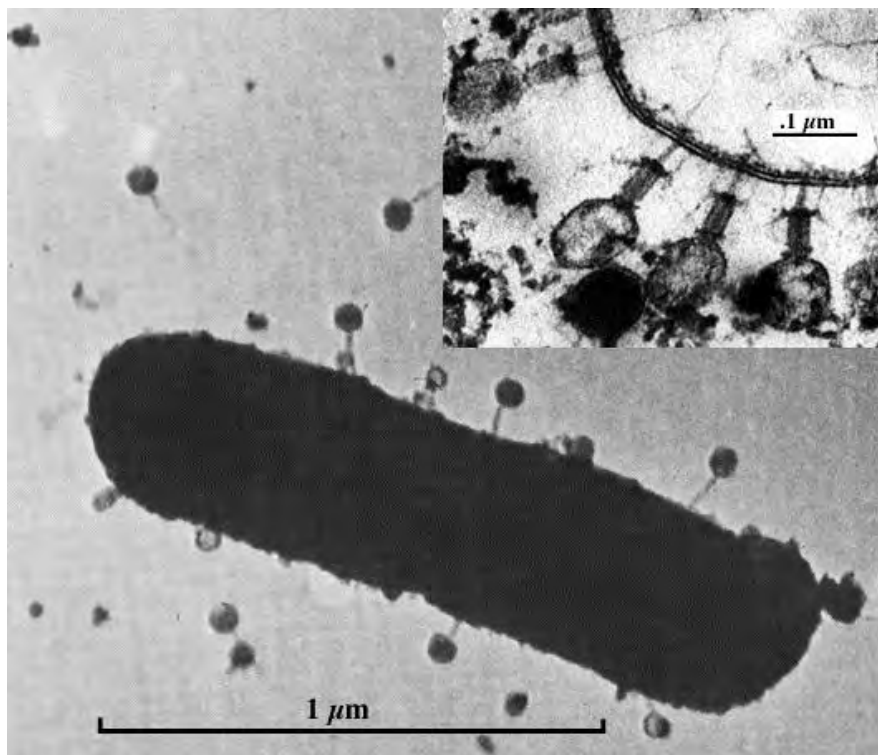


Figura 4. Adsorción del fago T4 a *Escherichia coli* e inyección de su DNA. (Tomado de Luria et al., 1978).

El DNA inyectado se replica y en la etapa final dirige la síntesis de las proteínas estructurales de cabeza y cola y de las copias de DNA que habrán de encapsidarse para formar los nuevos viriones, que serán liberados cuando se lise la bacteria por la acción de proteínas de lisis codificadas también por el genoma viral. (Figura 5).

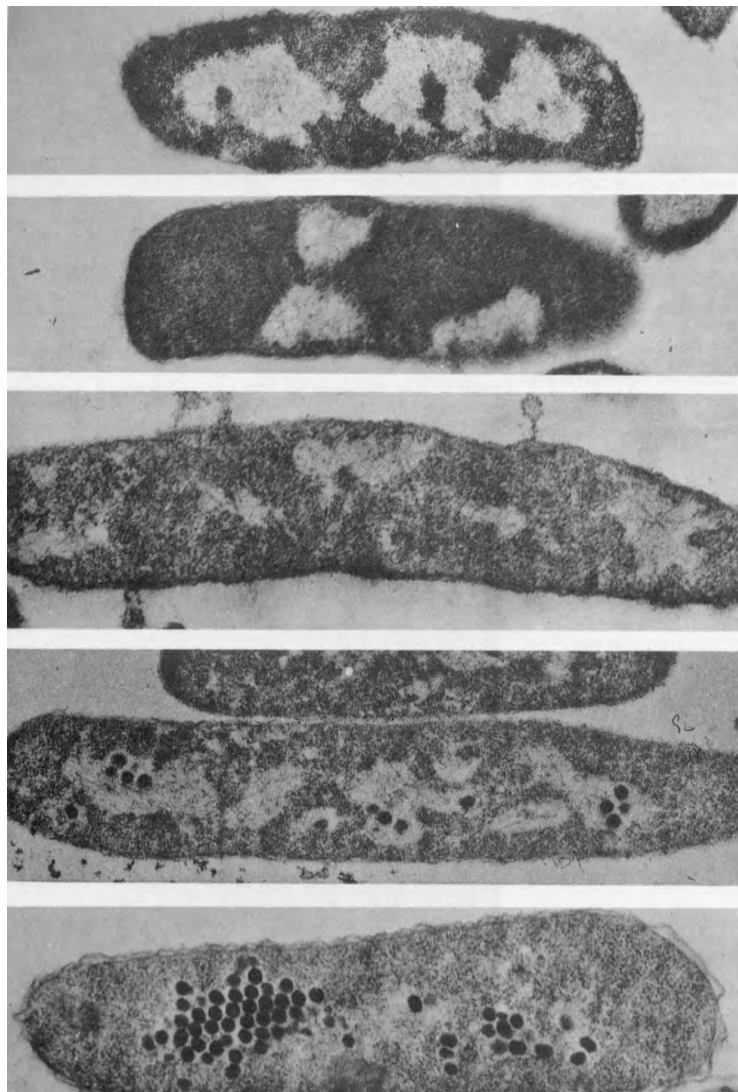


Figura 5. Ciclo temporal de infección de *Escherichia coli* T2.
De arriba a abajo: 0, 4, 10, 12, 30 minutos después de la infección. infección.
(Kellenberger et al., 1958).

Algunos fagos como T2 y T4 son solamente líticos (Figura 6), mientras otros como el fago λ (Figura 7) pueden llevar a cabo tanto el ciclo lítico como el lisogénico (Echols, 1986; Oppenheim et al., 2005).

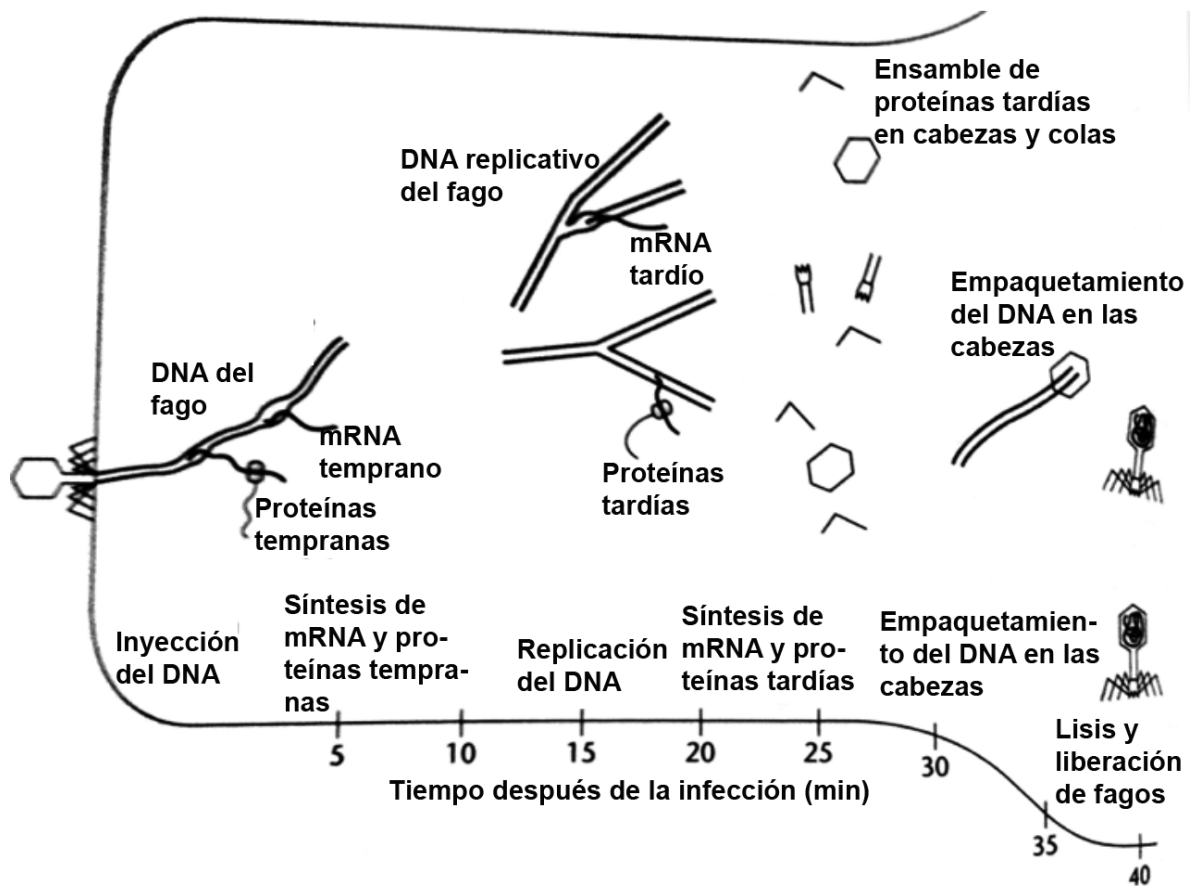


Figura 6. Representación esquemática del ciclo de vida lítico del fago T4. (Modificado de Snyder *et al.*, 2013, p. 272).

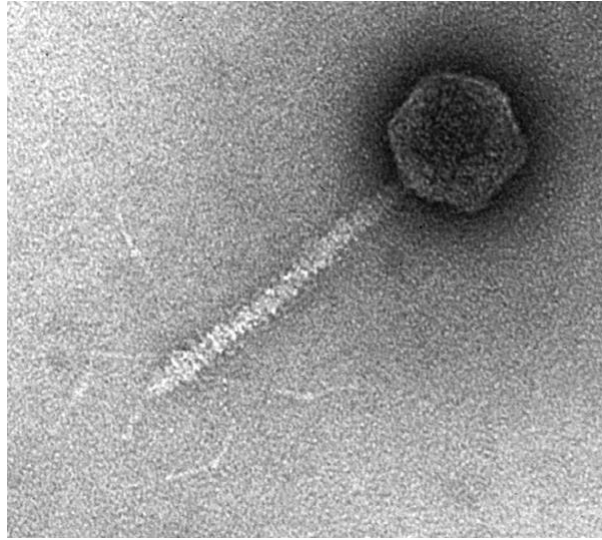


Figura 7. Micrografía del fago λ . Tomado de:

http://www.thebacteriophages.org/chapters/0270_figure_001.htm

6. Infección. Ciclo lisogénico

En la vía lisogénica, la adsorción e inyección ocurren de manera similar a como sucede en la vía lítica, pero la transcripción de los genes estructurales y de lisis se reprime por una proteína represora, codificada por el genoma viral, que se une a los operadores del cromosoma viral bloqueando que la RNA polimerasa se una a los promotores. El DNA viral reprimido se llama profago, la bacteria en la que se encuentra se llama lisógena y el proceso por el que se forma se llama lisogenización.

Algunos profagos, como λ , se integran al cromosoma bacteriano en un sitio específico, llamado att (por attachment), y se replican como un grupo de genes del cromosoma bacteriano heredándose a las bacterias hijas, tras la división celular. Algunos otros, como el fago P1 que infecta a *E. coli*, no se integran sino que se replican como plásmidos.

Los fagos temperados forman placas turbias, debido a que lisogenizan a una fracción de las células infectadas, las cuales son inmunes a la superinfección y crecen en el centro de la placa (ver más adelante). Los fagos líticos forman placas claras debido a que lisan a todas las bacterias que infectan (Figura 1).

La decisión lisis o lisogenia del fago λ se debe a la competencia entre dos proteínas represoras CI y Cro. Si se produce más CI que Cro hay lisogenia; si se produce más Cro que CI hay lisis (Figura 8; Echols, 1986; Oppenheim *et al.*, 2005).

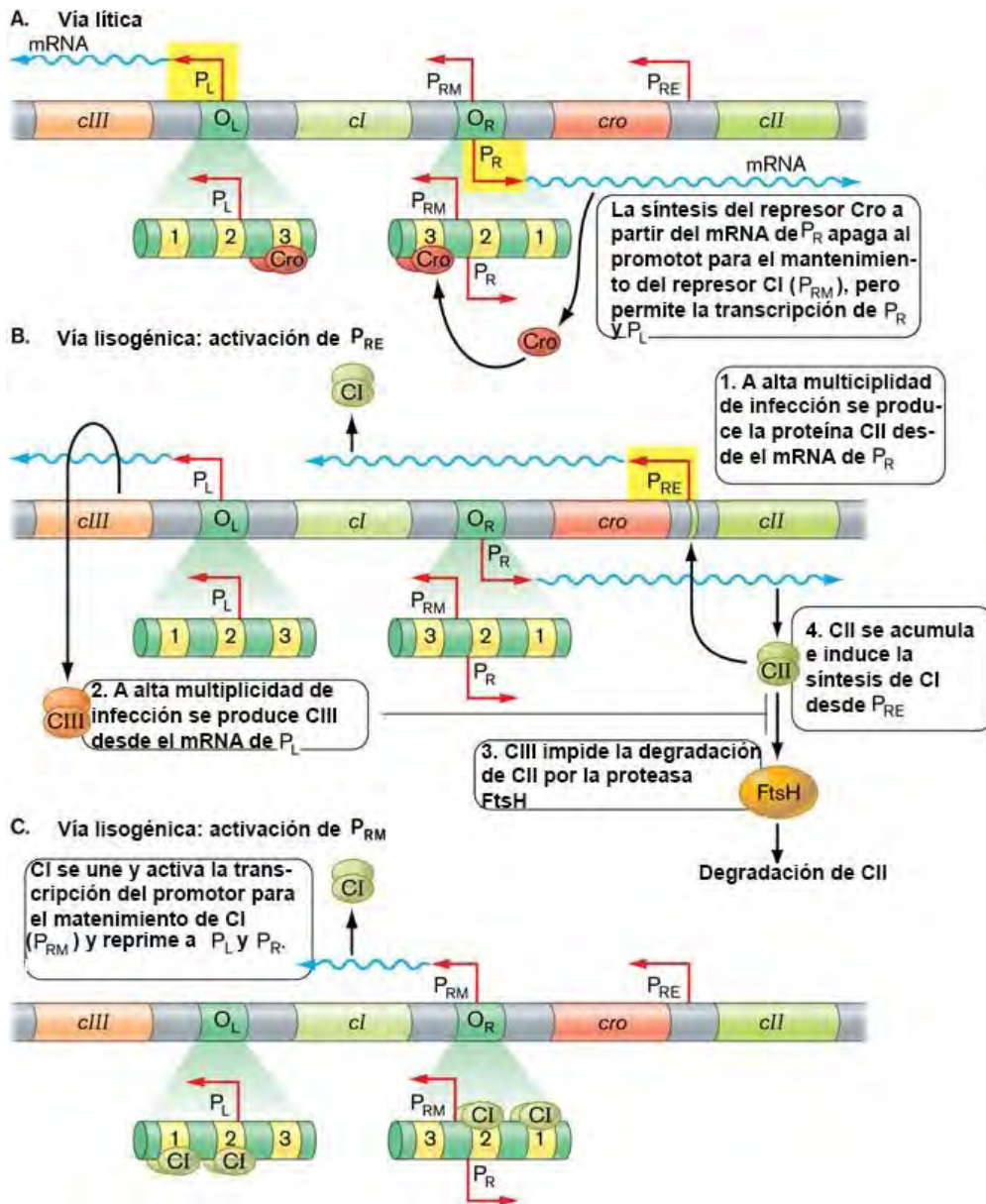


Figura 8. Decisión lisis/lisogenia del fago λ . **A.** Vía lítica. Los operadores derecho e izquierdo O_L y O_R tienen tres sitios de unión para los represores CI y Cro . La síntesis y unión de Cro a los sitios O_{R3} y O_{L3} apaga la transcripción a partir del promotor para el mantenimiento de la represión (P_{RM}). El fago se va a la vía lítica. **B.** A alta multiplicidad de infección se produce la proteína CII y activa al promotor para el establecimiento de la represión (P_{RE}). Se sintetiza CI . **C.** CI se une a los sitios O_{R1} , O_{R2} , O_{L1} y O_{L2} , lo que activa al promotor para el mantenimiento de la represión (P_{RM} , a partir del cual se transcribe el mRNA para CI) y reprime la transcripción de los promotores P_R y P_L necesarios para producir más fagos. El fago se va a la vía lisogénica.

Modificado

de:

<http://www.wwnorton.com/college/biology/microbiology2/ch/10/etopics.aspx>

Este proceso alternativo lisis-lisogenia permite que se establezca un equilibrio presa-predador entre fagos y bacterias. Cuando el número de fagos excede al de las bacterias, es decir a alta multiplicidad de infección (por ejemplo 10:1), se favorece la lisogenia y cuando la multiplicidad de infección es baja (por ejemplo 1:10) se favorece la lisis. Esto se debe a que a alta multiplicidad de infección algunas bacterias son infectadas por más de un fago y ello provoca un incremento en los niveles intracelulares de proteína CII, lo que favorece la síntesis del represor CI y, por ende, la lisogenia (Figura 8).

En una bacteria lisógena el profago se mantiene como tal debido a que codifica al represor (cuyo mRNA se transcribe a partir de P_{RM}), del cual siempre hay un exceso en el citoplasma bacteriano. Por esta razón, la lisógena es inmune a la superinfección por fagos homólogos al profago: si un fago homólogo al profago (de la misma inmunidad, con los mismos operadores, reconocidos por el mismo represor) inyecta su DNA, éste es reprimido por el represor presente en el citoplasma de la bacteria y no puede seguir ni la vía lítica ni la lisogénica. El estado lisogénico tiene 4 propiedades: 1) Heredabilidad, 2) Inducibilidad, 3) Inmunidad y 4) Curabilidad.

Heredabilidad porque una lisógena hereda su profago a las células hijas; Inducibilidad porque los mutágenos físicos o químicos inducen el profago a la vía lítica; Inmunidad porque las lisógenas son inmunes a la infección por fagos de la misma inmunidad que el profago; y Curabilidad porque cuando la represión deja de ocurrir por un corto período, la lisógena pierde el profago sin ser lisada.

El profago puede ser inducido a la vía lítica si falla la represión y se transcriben y traducen los genes virales que permiten la producción de fagos y la lisis de la bacteria. La represión falla cuando las bacterias lisógenas se exponen a la acción de agentes mutagénicos físicos o químicos que causan daños al DNA o que interfieren con su replicación. Entre estos agentes tenemos a la luz ultravioleta, y a los compuestos anticancerosos bleomicina y mitomicina C. La inducción del profago forma parte de una compleja serie de respuestas, conocida como respuesta SOS, que presentan las bacterias ante situaciones que comprometen su sobrevivencia y en la cual una actividad proteolítica inducible propicia la degradación del represor del genoma viral CI (Little y Mount, 1982).

Normalmente en un cultivo de lisógenas la des-represión ocurre espontáneamente a baja frecuencia (10^{-6}), dando origen a la presencia de fagos. Es posible también que ocurra des-represión transitoria; es decir, que falle la represión por un breve lapso y se restablezca enseguida, dando lugar a bacterias “curadas” que han perdido el profago, ya que, si éste se encontraba integrado al cromosoma, se escinde pero es incapaz de iniciar la vía lítica al restablecerse la represión, de modo que ya no se replica como parte del cromosoma bacteriano ni en forma autónoma y se pierde por dilución a medida que el cultivo crece.

7. Respuesta SOS.

La respuesta SOS es un proceso esencial que utilizan las bacterias para responder al daño severo en su DNA. Los genes que forman parte de la respuesta SOS constituyen un regulón, es decir un conjunto de unidades transcripcionales reguladas por un solo represor. La expresión de los genes de la respuesta SOS de *E. coli* está controlada por el represor LexA, proteína que se inactiva a sí misma durante el estrés, por corte proteolítico, para permitir la transcripción de genes que codifican proteínas que participan en mecanismos de reparación de daños al DNA y para retardar la división celular hasta que el daño sea reparado (Baharoglu y Mazel, 2014). Algunos profagos, como λ , se inducen al ciclo lítico como parte de la respuesta SOS. Es decir, el profago utiliza un mecanismo de emergencia de la bacteria para salir de su estado lisogénico e "irse a buscar" bacterias menos comprometidas para multiplicarse o para lisogenizarlas.

El propósito de esta tesina es describir la respuesta del fago λ a la respuesta SOS de *Escherichia coli*. (Figura 9).

MECANISMO DE LA RESPUESTA SOS

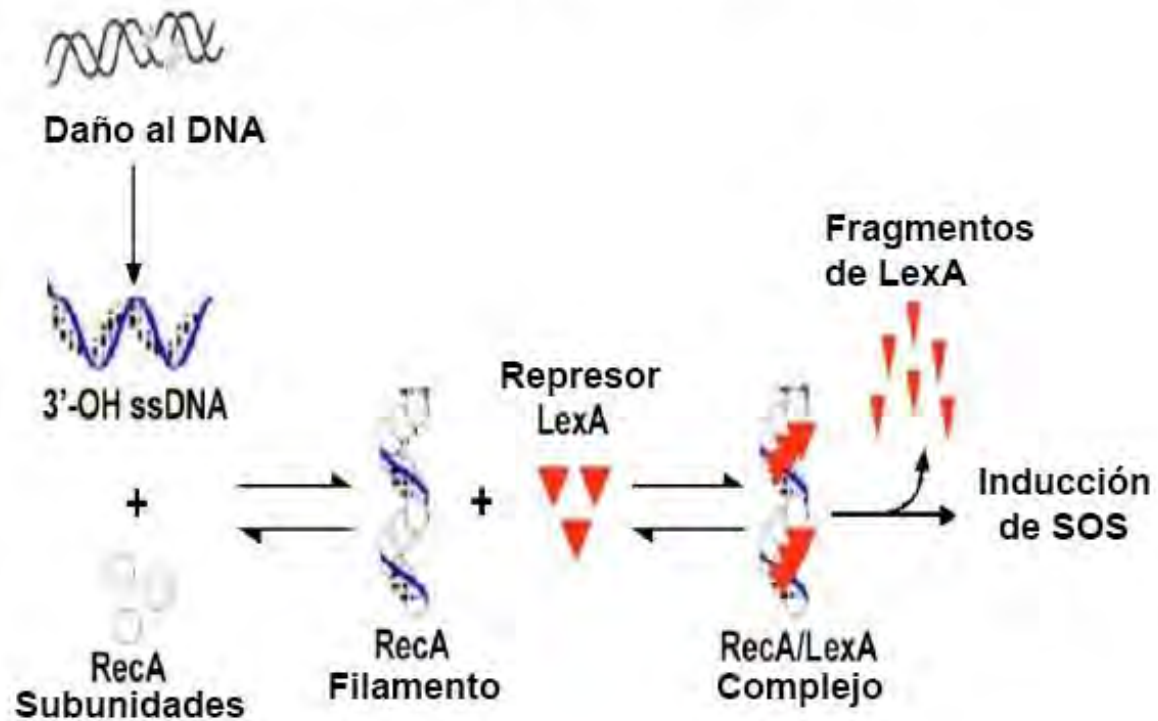


Figura 9. Mecanismo de la respuesta SOS. Cuando el DNA de una bacteria sufre daño, se generan "huecos" en el DNA lo que proporciona extremos 3'-OH de cadena sencilla que son reconocidos por la proteína RecA, formándose un filamento. Esta señal estimula la actividad proteolítica de LexA, el represor del regulón SOS, que se autodegrada y por ello deja de reprimir a los genes del regulón, con lo que se induce su expresión. Modificado de:

<http://schaechter.asmblog.org/a/6a00d8341c5e1453ef01b8d1462bf8970c-popup>

La respuesta SOS fue propuesta en los años setentas por Radman (Radman, 1974), quien la denominó así, y fue descrita por primera vez con detalle en *E. coli* diez años después (Walker, 1984). La respuesta SOS es una respuesta celular coordinada que llevan a cabo las bacterias cuando experimentan daños severos en su DNA y que está gobernada por las proteínas RecA y LexA. Ante el daño se forman regiones de DNA de cadena sencilla que son cubiertas por la proteína SSBP (Single Stranded Binding

Protein) que posteriormente son reemplazadas por RecA. Cada monómero de RecA protege solamente 3 nucleótidos, pero los monómeros de RecA se polimerizan formando largos filamentos en el DNA. La forma de filamento de RecA, conocida como RecA activada o RecA* estimula la ruptura del represor LexA, con lo que se induce la expresión de unos 40-50 genes que forman parte del regulón SOS (Figura 9). La expresión de los genes provoca que se detenga la división celular, que se induzcan mecanismos de reparación de daños al DNA y se eleve la frecuencia de mutación (Friedberg et al., 2005). Ante el DNA extensamente dañado, la DNAPol III, que comete muy pocos errores, es incapaz de replicar al DNA; la DNA pol V que se induce como parte de la respuesta SOS tiene una alta frecuencia de error, pero es capaz de replicar al DNA dañado (Figuras 10 y 11).

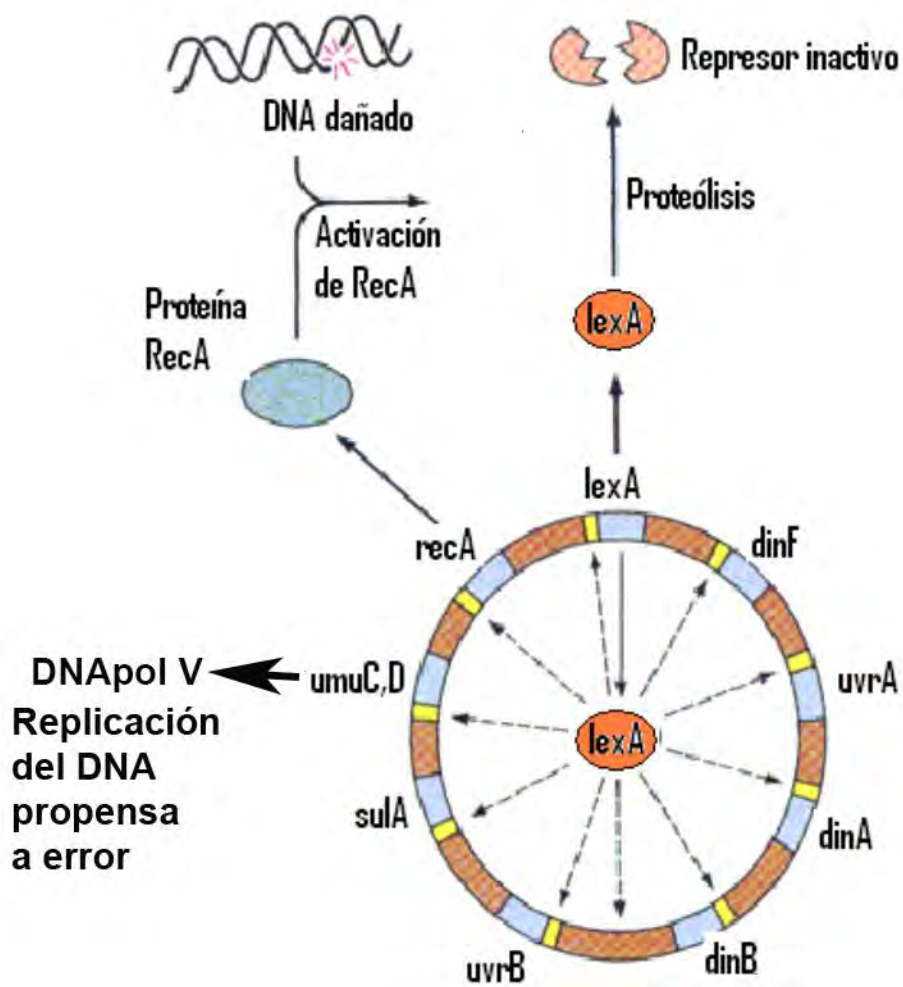


Figura 10. Representación esquemática de la inducción de la respuesta SOS. Se muestra la inducción de los genes cuyos productos constituyen la DNA polV, propensa a error. Tomado de:

http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Gene_Expression_I4-Regulation_of_Gene_Expression.htm

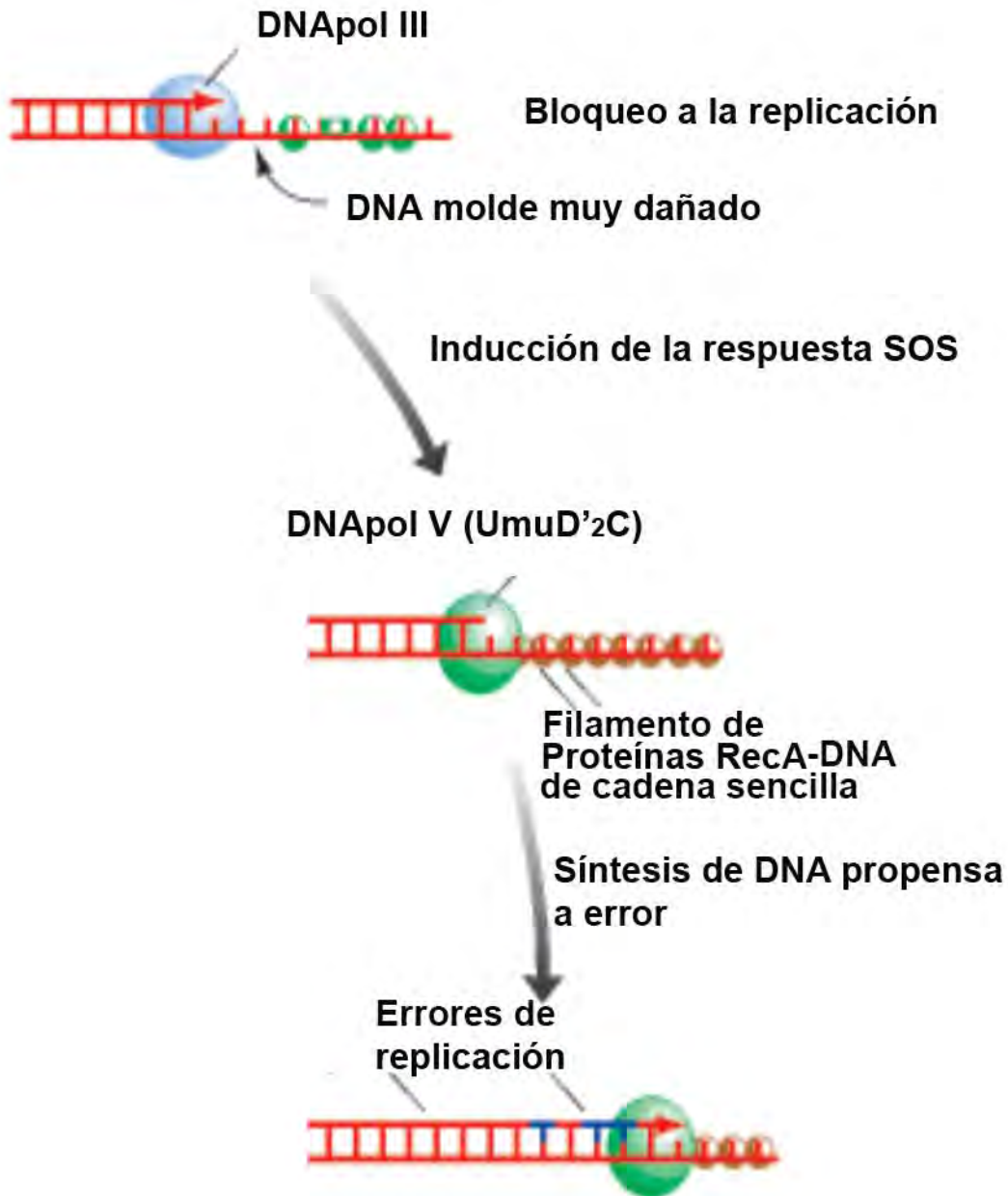


Figura 11. Representación esquemática del bloqueo a la replicación del DNA por la DNA polimerasa III debido a extensos daños en el DNA que conducen a la inducción de la respuesta SOS entre cuyos productos se encuentra la DNA polimerasa V propensa a error capaz de replicar DNA muy dañado. Modificado de: <http://www.biodiscoveryjournal.co.uk/Archive/A41.htm>

Otra de las consecuencias de la inducción de la respuesta SOS es la inducción del profago λ a la vía lítica. Esto se debe a que, al igual que LexA, la proteína represora CI del profago se autodigiere (Roberts & Roberts, 1975; Roberts *et al.*, 1975) y con ello

los genes estructurales y de lisis del bacteriófago se expresan y la proteína Cro se une a O_{R3} , reprimiendo P_{RM} e impidiendo con ello la producción de más CI (Svenningsen *et al.*, 2005; Figura 8); se lisa la bacteria y libera la progenie viral. El ciclo de vida del fago λ queda ilustrado en la figura 12.

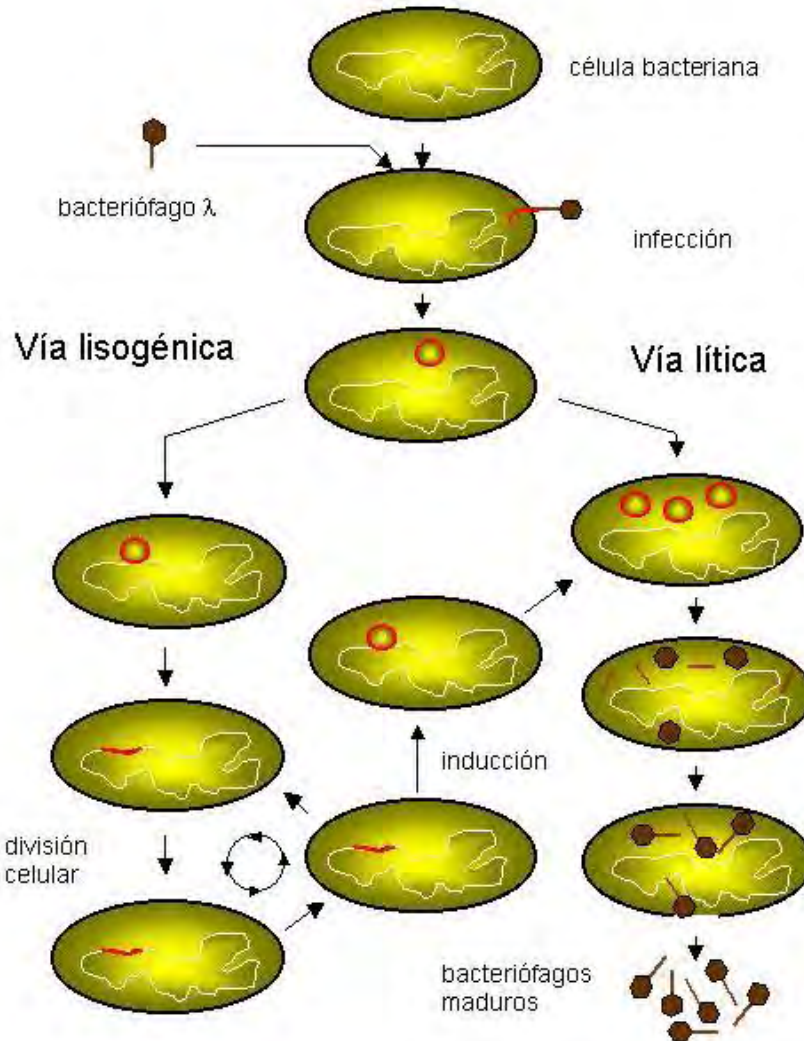


Figura 12. Ciclo de vida del bacteriófago λ . Después de la infección el fago se desarrolla siguiendo la vía lítica o la lisogénica. Tomado de Kameyama *et al.*,

De manera que se ha considerado que los profagos representan una ventaja para la población de bacterias lisógenas, ya que pueden contribuir con genes benéficos para su hospedero mediante el fenómeno llamado conversión lisogénica, y cuando una fracción de las lisógenas experimenta inducción espontánea del profago, los virus liberados lisan a las cepas competidoras susceptibles (Nanda et al., 2015). Aunque efectivamente se ha demostrado que el profago λ porta genes de virulencia benéficos para la lisógena *in vitro* (Barondes & Beckwith, 1990; Vaca et al., 1997), pocos estudios se han publicado para demostrar estos efectos en ambientes ecológicamente importantes.

Recientemente se demostró, en un modelo de intestino monoxénico de ratón, que el profago λ causa un costo significativo para sus lisógenas debido a que su inducción a la vía lítica es 50 veces mayor que *in vitro* (1-2% de los profagos se inducen vs. 0.02-0.04%). Sin embargo, cuando las lisógenas están en competencia con bacterias lisogénicas no lisógenas, sensibles al fago, el profago benefició indirectamente a las lisógenas lisando a la mayoría de las competidoras no lisógenas. La infección de las bacterias sensibles condujo al desarrollo lítico del fago en 80% de los casos y las demás bacterias sensibles infectadas fueron lisogenizadas.

Los autores concluyen que la alta tasa de inducción del profago en el intestino de ratón monoxénico indica que existe daño al DNA, el cual es responsable de la respuesta SOS que conduce a la inducción de λ (De Paepe et al., 2016).

8. Conclusión.

Concluimos este trabajo diciendo que aún falta estudiar más la respuesta del fago λ a la respuesta SOS de *E. coli* en ambientes ecológicamente relevantes para comprender esta parte de uno de los equilibrios presa-predador en bacterias y bacteriófagos.

9. Referencias

1. Arscott, J.T. & E.B. Goldberg, 1976. Cooperative action of the T4 tail fibers and baseplate in triggering conformational change and in determining host range. *Virology* **69**:15-22.
2. Baharoglu Z y Mazel D. 2014. SOS the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol. Rev.* **38**:1126-1145.
3. Barondess, J.J. & J. Beckwith. 1990. A bacterial virulence determinant encoded by lysogenic coliphage λ . *Nature* **346**:871-874.
4. De Paepe M., L. Tournier, E. Moncaut, O. Son, P. Langella & M.A. Petit. 2016. Carriage of λ latent virus is costly for its bacterial host due to frequent reactivation in monoxenic mouse intestine. *PLOS Genet.* **12(2)**: e1005861.
5. D'Herelle, F. 1917. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Comptes Rendus Académie Sciences* **165**:373-375.
6. D'Herelle, F. 2007. On an invisible microbe antagonistic toward dysenteric bacilli: brief note by Mr. F.D. Hérelle, presented by Mr. Roux. *Res. Microbiol.* **158**:553-554.
7. Echols H. 1986. Bacteriophage lambda development and the choice of lysis or lysogenia. *Trends Genet.* **2**:26-30.
8. Ellis, E.L. & M. Delbrück, 1939. The growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* **22**:365-384.
9. Friedberg E.C., G.C. Walker, W. Siede, R.D. Wood, R.A. Schultz & T. Ellenberger. 2005. The SOS responses of prokaryotes to DNA damage. En:DNA repair and

- mitogenesis pp. 463-508. American Society for Microbiology Press, Washington D.C.
10. Hershey, A.D. & M. Chase, 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.* **36**:39-56.
 11. http://www.thebacteriophages.org/chapters/0270_figure_001.htm (Tomada el 18 de marzo de 2017).
 12. Kameyama L., N. Oviedo & G. Guarneros. Bacteriófago lambda. En: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap18/capitulo.html>
 13. Kellenberger, E., A. Ryter, & Séchaud J. 1958. Electron microscope study of DNA containing Plasmids. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. *J. Biophysical and Biochem Cytol.* **4**:671-478
 14. Little, J.W & D.W. Mount, 1982. The SOS regulatory system of *Escherichia coli*. *Cell* **29**:11-22.
 15. Luria, S.E., J.E. Darnell, D. Baltimore & A. Campbell, 1978. General Virology, 3rd Ed. Wiley, N.Y.
 16. Moody, M.F., 1973. Sheath of bacteriophage T4. III. *J. Mol. Biol.* **80**:613-636.
 17. Nanda, A.M., K. Thormann & J. Frunze. 2015. Impact of spontaneous prophage induction on the fitness of bacterial populations and host-microbe interactions. *J. Bacteriol.* **197**:410-419.
 18. Oppenheim, A.B. O. Kobiler, J. Stavans, D.C. Court & S Adhya. 2005. Switches in bacteriophage lambda development. *Annu Rev Genet.* **39**:409-429.
 19. Pirie N.W., 1990. The career of F.W. Twort. *Nature* **343**:504.

20. Radman M. 1974. En: Molecular and environmental aspects of mutagenesis. pp. 128-142. Prakash L., F. Sherman, C. Miller C, C. Lawrence, & H.W. Tabor (Eds). Charlexs C. Thomas Publisher, Springfield.
21. Roberts J.W. & C.W. Roberts 1975. Proteolytic cleavage of bacteriophage lambda repressor in induction. *Proc Natl Acad Sci. USA.* **72**:147-151.
22. Roberts JW, C.W. Roberts & N.L. Craig. 1975. *Escherichia coli recA* gene product inactivates phage λ repressor. *Proc Natl Acad Sci. USA.* **75**:4714-4718.
23. Schlesinger, M., 1934. Zur Frage der chemischen Zusammensetzung des Bakteriophagen. *Biochemische Zeitschrift* **273**:306
24. Snyder, L., J.E. Peters, T.M. Henkin & Champness W., 2013. p. 272. Molecular Genetics of Bacteria. 4th Ed. ASM Press.
25. Svenningse S.L., N. Constantino, D.L. Court & S. Adhya. 2005. On the role of Cro on λ prophage induction. *Proc Natl Acad Sci. USA.* **102**:4465-4469.
26. Twort, F.W., 1915. An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruses. *Lancet* **189**:1241-1243.
27. Vaca P. S., O. García-González & G.L. Paniagua-Contreras. 1997. The lom gene of bacteriophage lambda is involved in *Escherichia coli* K12 adhesion to human buccal epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett.* **156**:129-132.
28. Walker G.C. 1984. Mutagenesis and inducible response to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* **48**:60-93.