

<b>Zeitschrift:</b>	Archives des sciences [1948-1980]
<b>Herausgeber:</b>	Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève
<b>Band:</b>	11 (1958)
<b>Heft:</b>	3
 <b>Artikel:</b>	Transduction des caractères Gal par le bactériophage Lambda
<b>Autor:</b>	Arber, Werner
<b>Kapitel:</b>	IV: Le phénomène de coopération et la localisation du défaut dg.
<b>DOI:</b>	<a href="https://doi.org/10.5169/seals-738815">https://doi.org/10.5169/seals-738815</a>

### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 12.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

lorsqu'il est assisté par un phage normal que lorsqu'il est seul. Lors d'une telle lysogénisation, il n'y a que des bactéries syngénotes lysogènes normales qui sont produites. Elles ne perdent jamais leur lysogénie normale, même pas lors de la perte par ségrégation des caractères Gal apportés par  $\lambda dg$ , perte qui est liée à la perte de la capacité de donner un lysat HFT, donc à la perte du prophage transducteur. On peut donc penser que les bactéries syngénotes lysogènes normales sont doublement lysogènes une fois pour un prophage  $\lambda$  normal et une seconde fois pour un prophage  $\lambda$  défectif. On ne sait cependant pas si, dans des bactéries dites doublement lysogènes, il y a réellement deux génomes phagiques entiers et s'ils sont indépendants l'un de l'autre.

## CHAPITRE IV

### LE PHÉNOMÈNE DE COOPÉRATION ET LA LOCALISATION DU DÉFAUT *dg*.

#### I. COOPÉRATION ENTRE LE PHAGE $\lambda$ NORMAL ET LE PHAGE $\lambda$ TRANDUCTEUR.

##### 1. *Localisation du défaut dg par des expériences de recombinaison génétique.*

Toutes les expériences décrites ci-dessous ont été faites avec des bactéries syngénotes lysogènes défectives qui ont été induites, puis surinfectées par le phage normal. On étudie alors l'interaction génétique entre prophage défectif induit et génome du phage surinfectant. La surinfection peut être faite avec une très petite m.i., de sorte que toutes les bactéries surinfectées n'adsorbent qu'un seul phage; les bactéries non surinfectées ne produisent pas de phages, elles n'entrent en effet pas en ligne de compte pour la composition du lysat.

Lorsqu'on surinfecte immédiatement après l'induction, toutes les bactéries surinfectées sont capables de former un centre infectieux. A partir de 30 minutes après la dilution des

bactéries induites dans du milieu nutritif, le nombre des centres diminue, et après 50 minutes il n'est presque plus possible d'obtenir encore la synthèse de phages actifs avant que la bactérie se lyse. Ces résultats ont été obtenus en surinfectant des cultures carencées, mais on obtient les mêmes résultats pour les cultures en croissance exponentielle, surinfectées en milieu nutritif avec des phages mutants  $\lambda h$ , qui s'adsorbent relativement bien en tryptone.

Le complexe formé par induction et surinfection de bactéries syngénotes lysogènes défectives donne lieu à la production de phages recombinants. Il est facile de chercher les recombinants actifs: on a en effet pu retrouver dans les phages actifs recombinés les marqueurs  $p_4^+$ ,  $c^+$  et  $m_6^+$  provenant du prophage défectif  $\lambda dg$ . En admettant que le défaut  $dg$  puisse être localisé comme caractère génétique sur la carte des marqueurs de  $\lambda$ , on peut essayer de déterminer son endroit en se servant des fréquences de recombinants. Nous avons fait deux séries d'expériences en surinfectant des souches syngénotes lysogènes défectives induites portant le prophage  $\lambda dg m_6^+ c^+ p_4^+$ , une fois avec des phages actifs  $\lambda m_6 c$  et une fois avec  $\lambda cp_4$  (tableau VI). Dans la première expérience, avec le phage  $m_6 c$ , il y a trois séquences possibles des caractères:  $dg — m_6 — c$ ;  $m_6 — dg — c$ ;  $m_6 — c — dg$ . Le dernier cas, où l'on s'attend à trouver plus de recombinants  $+++$  (1 croisement) que de  $m_6++$  (2 croisements) et le premier cas, où l'on s'attend à trouver plus de recombinants  $+++$  que de  $++c$  sont infirmés par les résultats expérimentaux. On trouve 10% de recombinants actifs  $m_6++$  (1 croisement), 3% de  $++c$  (1 croisement) et 1% de  $+++$  (2 croisements), ce qui confirme l'ordre  $m_6 — dg — c$ . La région  $dg$  doit être située entre le locus  $m_6$  et le locus  $c$  et doit être plus près de  $m_6$  que de  $c$ .

Les résultats des croisements entre le prophage défectif  $dg++$  et le phage  $+ c p_4$  confirment la séquence  $dg — c — p_4$ , ce qui est en accord avec la séquence  $m_6 — dg — c$ .

Pour localiser d'une façon plus précise la région  $dg$ , des croisements ont été faits en utilisant les marqueurs  $h$ ,  $g_1$  et  $m_5$  qui sont situés entre  $m_6$  et  $c$ . Dans le premier cas, des bactéries hétérogénées lysogènes défectives portant un prophage

défectif provenant d'un mutant  $\lambda h$  ont été induites et surinfectées avec des phages actifs  $h^+ cp_4$ . Les fréquences des recombinants  $h^+ c^+ p_4$ ,  $h^+ c p_4$  et  $h^+ c^+ p_4^+$  ont été les mêmes que celles trouvées dans les croisements entre le prophage défectif  $h^+ c^+ p_4^+$  et le phage surinfectant  $h^+ c p_4$ . Mais il n'y a pas de recombinants actifs  $h$  (fréquence inférieure à  $10^{-7}$ ). Pour voir s'il y avait des phages phénotypiquement  $h^+$  mais génotypiquement  $h$ , le lysat a été adsorbé sur des bactéries C600 qui étaient ensuite étalées sur gélose en présence d'indicateur CR63. Par ce traitement les génotypes  $h$  auraient dû s'exprimer, mais l'expérience n'a montré qu'un nombre de phages  $h$  correspondant à la fréquence des mutants  $h$  spontanés (environ  $10^{-7}$ ).

Dans une autre expérience, des bactéries syngénotes lysogènes défectives dont le prophage provenait d'une souche lysogène normale pour  $\lambda g_1$  ont été induites et surinfectées avec des phages actifs du type sauvage  $g_1^+$ . Toute la descendance a été du type parental actif. La fréquence des recombinants entre le prophage défectif  $dg g_1$  et le phage surinfectant  $dg^+ g_1^+$  est inférieure à  $3 \cdot 10^{-4}$ .

Finalement une souche syngénote lysogène défective a été préparée à partir d'un lysat LFT provenant d'une souche C600 ( $\lambda m_5$ ). Induites et surinfectées avec des phages actifs  $m_5^+ c$ , ces bactéries n'ont pas donné de recombinants actifs  $m_5$  (fréquence inférieure à  $5 \cdot 10^{-4}$ ).

La distance entre  $h$  et  $g_1$  sur la carte des caractères génétiques du phage  $\lambda$  est de 1,2, celle entre  $g_1$  et  $m_5$  de 1 en unités de pourcent de recombinants. Comme il n'a pas été possible de trouver de recombinants actifs ni avec  $h$  ni avec  $g_1$  ou  $m_5$  lors des croisements entre le prophage défectif et des phages surinfectants,  $dg$  ne peut pas être situé à un endroit limité, mais semble couvrir toute une région. On ne sait cependant pas si les caractères  $m_5$ ,  $g_1$  et  $h$  manquent chez le prophage défectif ou s'ils sont empêchés de s'exprimer.

## 2. Coopération dans la multiplication du génome défectif.

Des lysats obtenus par induction et surinfection de bactéries syngénotes lysogènes défectives ont été testés quant à leur

capacité de transduire (tableau VII). Le rapport entre le nombre des phages transducteurs et celui des phages actifs dans le lysat des bactéries induites et surinfectées varie approximativement de 0,1 à 1. Il est probable que ces variations sont dues à plusieurs facteurs, tels que l'avantage de certains mutants dans la multiplication, la multiplicité de la surinfection, l'état de la culture bactérienne et la concentration de celle-ci. La valeur de ce rapport correspond à celle qu'on trouve dans les lysats HFT des cultures syngénotes lysogènes normales induites. On voit donc que la multiplication du matériel génétique défectif doit se faire à peu près à la même vitesse que celle du matériel génétique du phage normal.

### 3. *Défaut de multiplication végétative du génome défectif.*

Dans le chapitre II on a montré que les bactéries syngénotes lysogènes défectives induites par le rayonnement UV ne sont capables de produire ni des phages morphologiquement intacts ni des structures liées à la production de phages (membranes de têtes et queues) pas plus que du matériel neutralisant le sérum anti- $\lambda$ . La question se pose de savoir si le matériel génétique du phage se multiplie. Cette même question a déjà été étudiée par Jacob et Wollman (1956a) et Jacob, Fuerst et Wollman (1957) pour des phages défectifs des souches du type K12 ( $\lambda$  déf.). Ces auteurs ont surinfecté avec des phages normaux à différents temps après l'induction des souches lysogènes défectives. Ils ont trouvé deux classes de souches: pour la première le rapport de recombinaison «nombre de phages actifs recombinants/nombre de phages du type surinfectant» augmente en fonction du temps de la surinfection après l'induction, indiquant que le génome défectif s'est multiplié végétativement déjà avant la surinfection. Pour la seconde classe, ce rapport reste constant pour tous les temps de surinfection, ce qui fait supposer qu'un pool de génomes végétatifs ne s'est pas formé. Dans le cas de nos souches syngénotes lysogènes défectives, une mesure encore plus directe de ce pool est possible par la détermination du rapport entre le nombre des phages transducteurs

TABLEAU VI.

*Recombinaison génétique entre le prophage λdg des bactéries syngénotes lysogènes défectives et un phage actif surinfectant.*

Prophage défectif	Phage surinfectant	Temps de la surinfection	Phages actifs trouvés dans la descendance					
			Types parentaux		Types recombinants			
				Nom- bre	%		Nom- bre	%
+ dg + (souche c)	$m_6 + c$	0 min	$m_6 + c$	1487	86	$m_6 ++$ $++ c$ $+++$	172 54 17	10 3,1 1,0
+ dg + (souche c)	$m_6 + c$	35 min	$m_6 + c$	1467	89	$m_6 ++$ $++ c$ $+++$	138 29 17	8,4 1,8 1,0
+ dg + (souche d)	$m_6 + c$	0 min	$m_6 + c$	1246	83	$m_6 ++$ $++ c$ $+++$	184 52 25	12,2 3,4 1,7
+ dg + (souche d)	$m_6 + c$	35 min	$m_6 + c$	1463	86	$m_6 ++$ $++ c$ $+++$	170 46 19	10 2,7 1,1
$dg ++$ (souche d)	$+ cp_4$	0 min	$+ cp_4$	1264	87	$++ p_4$ $+ c +$ $+++$	17 34 142	1,2 2,3 9,8
$dg ++$ (souche d)	$+ cp_4$	35 min	$+ cp_4$	2109	91	$++ p_4$ $+ c +$ $+++$	25 42 130	1,1 1,8 5,7
$h dg ++$	$++ cp_4$	0 min	$++ cp_4$	1163	88	$+++ p_4$ $++ c +$ $+++$ $h + ..$	23 23 112 0	1,7 1,7 8,5 0
$g_1 dg$	$++$ (sauvage)	0 min	++	3730	100	$g_1 +$	0	0
$m_5 dg$	$++ c$	0 min	$++ c$	1863	93	$+++$ $m_5 + c$ $m_5 ++$	168 0 0	7,3 0 0

TABLEAU VI *suite.*

Des bactéries syngénètes lysogènes défectives  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/\text{ex Gal}^+ \lambda$  à  $3 \cdot 10^8$  bactéries/ml sont centrifugées, resuspendues en milieu d'adsorption et irradiées avec une dose de 100 secondes de rayonnement UV. Selon le temps de la surinfection au cours de la période latente, les traitements suivant sont appliqués: *a*) surinfection à 0 minutes: les bactéries induites sont carencées à l'obscurité pendant une heure à 37° et mises ensuite en contact pendant 20 minutes avec les phages surinfectants (multiplicité d'infection 0,05). Dans ces conditions, l'adsorption est d'au moins 99%. Après une dilution de 50 fois en tryptone, le tube de croissance est aéré à 37° jusqu'à ce que les bactéries se soient lysées ( $2\frac{1}{2}$  heures); *b*) surinfection à 35 minutes: les bactéries induites sont diluées 1 : 1 en tryptone deux fois concentré et aérées à 37° pendant 35 minutes. La culture est alors refroide à 0°, centrifugée, lavée une fois en milieu d'adsorption et carencée pendant une heure à 37°. La suite des opérations est semblable à celle décrite sous *a*). Les deux souches *c* et *d* proviennent de transductions par le lysat HFT 78.

et celui des phages actifs dans le lysat. Il augmentera en fonction du temps de surinfection, si une multiplication du génome défectif a lieu entre l'induction et la surinfection.

Nous avons résumé dans les tableaux VI et VII les résultats de nos expériences faites avec des surinfections, soit à 0 minute, soit à 35 minutes après dilution des bactéries induites en tryptone. Ni la proportion des recombinants actifs, ni celle des phages transducteurs n'augmentent entre ces deux temps de surinfection. On note au contraire une baisse insignifiante de ces proportions. Tout se passe donc comme si le génome défectif ne pouvait pas se multiplier avant l'arrivée du phage surinfectant et que seule l'aide de ce dernier lui permettait d'accomplir les premiers pas menant à l'établissement du pool végétatif.

4. *Génotype des phages transducteurs reproduits.*

Dans les lysats obtenus par coopération entre un phage transducteur et un phage normal nous avons trouvé, suivant les caractères génétiques choisis, qu'environ 10% des phages actifs portent certains caractères provenant du génome défectif. Il est probable qu'il y a autant de recombinants parmi les phages défectifs. Pour pouvoir les mesurer il faudrait rendre les bactéries lysogènes, donc transduites, pour ces phages défectifs.

TABLEAU VII.

*Production de phages transducteurs par des bactéries syngénotes lysogènes défectives induites et surinfectées avec des phages actifs.*

Prophage défectif	Phage surinfectant	Temps de la surinfection	Centres infectieux/ml	Lysat		
				Phages actifs/ml	Phages transducteurs/ml	Rapport phages transducteurs/phages actifs
<i>dg</i> + + (souche <i>c</i> )	+++	0 min 35 min	1 · 10 <sup>6</sup> 4 · 10 <sup>5</sup>	1,5 · 10 <sup>7</sup> 6,6 · 10 <sup>6</sup>	1,1 · 10 <sup>7</sup> 3,5 · 10 <sup>6</sup>	0,73 0,53
<i>dg</i> + + (souche <i>c</i> )	+ <i>m</i> <sub>6</sub> <i>c</i>	0 min 35 min	1 · 10 <sup>6</sup> 4 · 10 <sup>5</sup>	5 · 10 <sup>7</sup> 1,4 · 10 <sup>7</sup>	1,0 · 10 <sup>7</sup> 2,5 · 10 <sup>6</sup>	0,20 0,18
<i>dg</i> + + (souche <i>d</i> )	+ <i>m</i> <sub>6</sub> <i>c</i>	0 min 35 min	2,2 · 10 <sup>5</sup> 9 · 10 <sup>4</sup>	1,1 · 10 <sup>7</sup> 4,2 · 10 <sup>6</sup>	6 · 10 <sup>6</sup> 2,0 · 10 <sup>6</sup>	0,55 0,47
<i>dg</i> + + (souche <i>d</i> )	+ <i>c p</i> <sub>4</sub>	0 min 35 min	2,3 · 10 <sup>5</sup> 7 · 10 <sup>4</sup>	1,8 · 10 <sup>7</sup> 5,8 · 10 <sup>6</sup>	4,5 · 10 <sup>6</sup> 1,0 · 10 <sup>6</sup>	0,25 0,17

Des bactéries syngénotes lysogènes défectives Gal<sub>1</sub><sup>-</sup> Gal<sub>2</sub><sup>-</sup>/ex Gal<sup>+</sup>-λ sont induites au rayonnement UV et surinfectées avec une m.i. de 0,05 phages actifs, soit au temps 0, soit 35 minutes après induction et remises en culture (comme décrit dans le texte du tableau VI). Les centres infectieux et le titre en phages actifs dans le lysat sont déterminés par également avec C600 et les titres en phages transducteurs par la méthode de transduction avec surinfection, en tenant compte de l'efficacité de lysogénisation de λ dg (20%), qui a été déterminée pour les conditions choisies par un contrôle fait avec le lysat HFT 78.

Cela exclut qu'on puisse reconnaître des caractères empêchant une bonne lysogénisation comme par exemple les caractères *c*, *p*<sub>4</sub> ou *m*<sub>6</sub> et qui seraient liés au génome défectif. Il a cependant été possible de trouver des phages génétiquement défectifs recombinants pour les caractères déterminant l'immunité. Ces expériences seront exposées dans le § III de ce chapitre.

Parmi les caractères qui n'empêchent pas une bonne lysogénisation, les marqueurs *m*<sub>5</sub>, *g*<sub>1</sub> et *h* coïncident avec la région du défaut *dg*. L'apparition d'un phage recombinant qui à la

fois porterait un de ces caractères et serait encore défectif, indiquerait que la recombinaison génétique entre le génome purement phagique et la région Gal, de provenance bactérienne, serait possible. Une telle recombinaison pourrait être accompagnée, d'une part, d'une diminution du défaut et, d'autre part, d'une disparition de certains caractères Gal. Dans l'expérience suivante nous avons cherché de tels recombinants génétiquement défectifs et portant le caractère *h*.

Le lysat HFT 78 (irradié à une survie de 5% pour augmenter la fréquence de recombinaison que nous désirons étudier) a été adsorbé sur des bactéries 3110 ( $\lambda h$ ) induites et le lysat ainsi obtenu utilisé pour transduire différentes souches réceptrices ( $Gal_1^-$ ,  $Gal_2^-$ ,  $Gal_4^-$ ,  $Gal_b^-$ ). Après sélection pour des prophages ayant transduit la bactérie réceptrice, nous avons recherché si le caractère *h* était présent dans le génome du prophage. Nous n'en avons cependant pas trouvé parmi 180 phages transducteurs ainsi testés.

##### 5. *Phénotype des phages transducteurs reproduits.*

Nous n'avons pas pu récupérer le caractère *h* par recombinaison entre un phage transducteur et un phage *h*<sup>+</sup> actif. A l'aide de ce résultat nous avons localisé le défaut *dg* comme couvrant l'endroit *h*. On peut cependant se demander si, quoique non retrouvable par recombinaison génétique, ce caractère subsiste sur le génome du phage défectif et peut diriger des synthèses lors de la multiplication du phage défectif par coopération. Pour répondre à cette question, l'expérience suivante a été faite :

Des bactéries syngénotes lysogènes défectives dont le prophage provient d'un phage  $\lambda h^+$  ont été induites et surinfectées par des phages actifs  $\lambda h$ . On trouve que toute la progéniture, soit en phages actifs, soit en phages défectifs, peut être adsorbée par l'indicateur CR63. Tous les phages sont donc phénotypiquement *h*. Des résultats analogues ont été obtenus avec un prophage défectif provenant d'un lysat LFT *h*. Dans ce cas on obtient, après surinfection d'une souche K12/ex  $Gal^+ \cdot \lambda h$  induite avec des phages  $\lambda h^+$ , une progéniture purement *h*<sup>+</sup>.

Ces résultats indiquent que le génome de  $\lambda dg$ , même lorsqu'il se multiplie par coopération d'un phage normal, n'est pas capable de produire sa « propre » substance  $h$  déterminant l'adsorption.

#### 6. Coopération entre le phage $\lambda dg$ et un phage surinfectant lors de la lysogénisation.

Dans le chapitre III nous avons montré que l'efficacité de lysogénisation du phage défectif  $\lambda dg$  est environ vingt fois plus petite que celle du phage normal, mais qu'avec l'aide d'un phage normal le phage  $\lambda dg$  arrive à s'établir comme prophage avec la même probabilité que le phage normal. Ceci indique que le phage défectif et le phage surinfectant coopèrent pour la lysogénisation. D'une telle coopération résultent toujours des bactéries syngénotes lysogènes normales. Le phage actif doit donc s'établir comme prophage normal, pour rendre plus efficace la transduction. Il ne suffit pas qu'il soit présent dans la bactérie.

Nous appellerons  $f$  ce facteur par lequel l'efficacité de la lysogénisation est multipliée par la coopération entre le phage défectif et le phage surinfectant. Plusieurs expériences de transduction de bactéries sensibles carencées infectées à basse m.i. ( $10^{-3}$ ) avec un lysat HFT avec et sans surinfection simultanée ont donné des valeurs de  $f$  entre 15 et 30.

On peut se demander pendant combien de temps un phage défectif infectant une bactérie peut encore être aidé par un phage actif alors que la bactérie métabolise. Pour cela nous avons infecté des bactéries sensibles  $Gal_1^- Gal_2^-$  carencées à  $5 \cdot 10^8/\text{ml}$  avec le lysat HFT 78 (m.i. =  $2 \cdot 10^{-3}$  phages défectifs par bactérie). Après 30 minutes d'adsorption à  $37^\circ$ , au temps  $t = 0$ , la suspension a été diluée en tryptone concentré deux fois et aérée à  $37^\circ$ . À différents temps  $t$ , des échantillons ont été prélevés et surinfectés avec une m.i. de 5 phages  $\lambda h$  actifs par bactérie. Après 10 minutes à  $37^\circ$ , 98% des phages surinfectants étaient adsorbés et les bactéries ont alors été diluées dix fois en tryptone contenant du sérum anti- $\lambda$  ( $k = 5$ ). À  $t = 90$  minutes, différentes dilutions ont été étalées sur boîtes TTC-

galactose. Des contrôles sans surinfection ont été soumis au même traitement. Tandis que le facteur  $f$  était de 28 pour l'échantillon surinfecté avant la dilution en milieu nutritif,  $f$  tombait à 13 si la surinfection était effectuée au moment de la dilution en tryptone ( $t = 0$ ). A  $t = 10$  minutes, la valeur de  $f$  était encore de 4 et elle variait entre 1 et 2 pour les temps à partir de la vingtième minute. On voit que l'aide que le phage surinfectant apporte au phage défectif pour la lysogénisation a encore une certaine efficacité pendant le début de la période latente, mais devient très vite inefficace.

## II. COOPÉRATION ENTRE DEUX PHAGES DÉFECTIFS PORTANT LEUR DÉFAUT A DIFFÉRENTS ENDROITS.

On sait que le défaut des phages défectifs du type non transducteur — provenant de K12 ( $\lambda$  déf.) non syngénote — peut être localisé en un point de la carte des caractères génétiques (Jacob, Fuerst et Wollman, 1957) contrairement à  $dg$  qui couvre environ un quart de la longueur totale. On peut se demander, si dans une bactérie doublement lysogène pour un phage défectif du premier type et un phage défectif du type transducteur, la synthèse de phages complets peut avoir lieu. Pour cela des expériences ont été faites avec les souches C60 ( $\lambda i1$ ), C33 ( $\lambda i2$ ), P14 ( $\lambda d_1$ ) et G2 (la localisation des défauts de  $\lambda i1$ ,  $\lambda i2$  et  $\lambda d_1$  est indiquée sur la figure 10, le défaut du prophage de G2 n'a pas été localisé). Pour obtenir des souches  $\text{Gal}^-$  lysogènes défectives portant les prophages défectifs en question, nous avons fait des lysats des souches mentionnées en induisant et surinfectant les quatre souches avec des phages actifs, car ces phages  $\lambda$  déf. ne sont également reproductibles que par coopération avec un autre phage (Arber et Kellenberger, 1958). Avec ces lysats nous avons lysogénisé des bactéries  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (m.i. = 0,3). Ce procédé a permis d'isoler des souches lysogènes défectives que nous avons transduites ensuite à une m.i. de  $10^{-3}$  en phages actifs d'un lysat HFT. Les colonies transduites ont été isolées et nettoyées, puis testées pour leur capacité de ségrégner des  $\text{Gal}^-$ , pour leur immunité envers  $\lambda$  et pour la production de phages actifs ou défectifs après induction.

La plupart des souches isolées ainsi étaient doublement lysogènes pour le prophage défectif non transducteur qu'elles contenaient déjà avant la transduction et pour le phage transducteur. Elles ont alors les propriétés suivantes: ces souches ségrègent des bactéries  $\text{Gal}^-$ . Les ségrégeantes  $\text{Gal}^-$ , tout comme les colonies  $\text{Gal}^+$ , sont immunes envers  $\lambda c$ . La production de phages actifs dépend du prophage défectif non transducteur. Quand celui-ci est seul dans la bactérie induite, il a une certaine probabilité de muter vers la forme active. Pour les trois prophages défectifs des souches P14, C33 ( $\lambda i2$ ) et G2, cette fréquence n'est pas ou que très peu changée par la présence du phage défectif transducteur et elle est encore la même pour les ségrégeantes  $\text{Gal}^-$ . Les titres des phages transducteurs dans les lysats de ces trois souches doublement lysogènes défectives induites restent de l'ordre de grandeur des titres en phages actifs, soit  $3 \cdot 10^{-7}$  phages par bactérie induite pour P14,  $10^{-4}$  pour C33 ( $\lambda i2$ ) et  $10^{-3}$  pour G2. Pour ces trois défauts la maturation de phages défectifs ne semble donc être possible que dans les bactéries dans lesquelles se trouve un phage ayant muté vers la forme active.

Par contre, les souches  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (\lambda i1)/\text{ex Gal}^+ - \lambda$  se comportent différemment. Les résultats de l'analyse d'une de ces souches sont résumés dans les tableaux VIII et IX. Tandis que la probabilité pour une cellule induite de produire des phages actifs est de  $10^{-6}$ , aussi bien pour la souche mère  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (\lambda i1)$  que pour une souche ségrégeante  $\text{Gal}^-$  de la souche syngénote, cette fréquence passe à  $10^{-1}$  pour la souche doublement lysogène défective. Le titre en phages morphologiquement intacts d'un lysat de cette souche induite, déterminé par comptage au microscope électronique, est de  $6,1 \cdot 10^9$ . Il se compose de phages défectifs parents  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$ , de recombinants actifs  $\lambda dg^+ i1^+$  ( $5,3 \cdot 10^7$ ) et probablement de recombinants défectifs  $\lambda dg i1$ . Négligeant les recombinants qui sont de l'ordre de 1%, on peut calculer la limite supérieure du titre des phages  $\lambda i1$  comme différence entre le titre morphologique et celui de  $\lambda dg$  qui peut être déterminé par transduction. Dans le lysat analysé, un tiers des phages sont  $\lambda dg$  ( $2 \cdot 10^9$ ), de sorte que la limite supérieure du titre de  $\lambda i1$  est de  $4 \cdot 10^9$ . Une vérification de ce titre est

possible par la lysogénisation de bactéries sensibles (tableau IX). Environ 5% des bactéries infectées avec un phage morphologiquement intact sont lysogénisées et portent  $\lambda i1$ .

TABLEAU VIII.

Coopération entre  $\lambda i1$  et  $\lambda dg$ .

	Souches				
	Gal <sub>1</sub> <sup>-</sup> Gal <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\lambda i1$ ) avant la trans- duction	Gal <sub>1</sub> <sup>-</sup> Gal <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\lambda i1$ )/ ex Gal <sup>+</sup> - $\lambda$ transduite			
		Exp. 1	Exp. 2		
Nombre de bactéries induites . . . . .	2,2 · 10 <sup>8</sup>	3 · 10 <sup>7</sup>	3,8 · 10 <sup>8</sup>	3,7 · 10 <sup>7</sup>	
Survie à l'induction . . . . .	— *)	— *)	0,8%	— *)	
Centres infectieux . . . . .	2 · 10 <sup>2</sup>	2,4 · 10 <sup>6</sup>	4 · 10 <sup>7</sup>	5 · 10 <sup>1</sup>	
Centres infectieux/bact. induite . . . . .	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-6</sup>	
Phages actifs dans le lysat	2,8 · 10 <sup>3</sup>	5,8 · 10 <sup>6</sup>	5,3 · 10 <sup>7</sup>	3 · 10 <sup>2</sup>	
Rendement en phages ac- tifs par centre infec- tieux . . . . .	14	2,4	1,3	6	
Phages morphologique- ment intacts dans le lysat . . . . .	— *	— *	6,1 · 10 <sup>9</sup>	— *	
Rendement en phages morphologiquement in- tacts/bact. induite . .	— *	— *	16	— *	
Phages défectifs transduc- teurs dans le lysat . .	0	1,5 · 10 <sup>8</sup>	2 · 10 <sup>9</sup>	0	

\* — = pas observé.

La souche lysogène défective Gal<sub>1</sub><sup>-</sup>Gal<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\lambda i1$ ) est transduite à basse m.i. par un lysat HFT contenant des phages défectifs  $\lambda dg$ . La souche Gal<sub>1</sub><sup>-</sup>Gal<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\lambda i1$ )/ex Gal<sup>+</sup>- $\lambda$  ainsi obtenue, une souche ségrégeante Gal<sub>1</sub><sup>-</sup>Gal<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\lambda i1$ ) de celle-ci et la souche mère sont induites par une dose de 60 secondes d'UV. Le nombre des centres infectieux est déterminé 40 minutes après l'induction. Après la lyse des cultures, les titres en phages actifs et en phages défectifs transducteurs sont déterminés, ces derniers par la méthode de transduction avec surinfection. En outre, le titre des phages morphologiquement intacts du lysat de Gal<sub>1</sub><sup>-</sup>Gal<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\lambda i1$ )/ex Gal<sup>+</sup>- $\lambda$  est déterminé par comptage au microscope électronique.

En admettant que deux tiers des phages sont  $\lambda i1$ , on trouve que la probabilité de lysogénisation pour  $\lambda i1$  est d'environ 8%. Lors d'un contrôle, dans les mêmes conditions, les phages mutants actifs de  $\lambda i1$  ont lysogénisé avec une probabilité de 25%. En admettant que les phages défectifs  $\lambda i1$  ont la même efficacité de lysogénisation que les phages actifs, on obtient un titre pour les phages  $\lambda i1$  défectifs trois fois plus petit ( $1,3 \cdot 10^9$ ) que celui qu'on a calculé précédemment, ce qui représente la limite inférieure possible du titre. Il est probable cependant — et ceci sera discuté plus loin — que l'efficacité de lysogénisation du phage défectif  $\lambda i1$  n'est pas aussi grande que celle de son mutant actif, de sorte que le titre réel en  $\lambda i1$  serait voisin de celui de  $\lambda dg$  ou même supérieur.

TABLEAU IX.

*Lysogénisation de la souche sensible  $Gal_1^- Gal_2^-$  par le lysat de la souche  $Gal_1^- Gal_2^- (\lambda i1)/ex Gal^+ - \lambda$ .*

Multiplicité d'infection en phages morphologiquement intacts . . . . .	4	1	0,2
Multiplicité d'infection en phages actifs	0,045	0,011	0,0022
Bactéries survivantes après infection (sensibles et lysogénisées) . . . . .	35%	60%	100%
Nombre de colonies testées:			
sensibles . . . . .	740	2500	5200
lysogènes déf. pour $\lambda i1$ et $\lambda dg$ ( $Gal^+$ )	35	20	1
lysogènes déf. pour $\lambda dg$ ( $Gal^+$ ) . . . .	0	1	4
lysogènes déf. pour $\lambda i1$ ( $Gal^-$ ) . . . .	110	74	49
lysogènes normales ( $Gal^-$ ) . . . .	8	4	2
Pourcentage des bactéries infectées qui sont lysogénisées par $\lambda i1$ . . . . .	5,8	3,5	5,4

Le lysat de la souche  $Gal_1^- Gal_2^- (\lambda i1)/ex Gal^+ - \lambda$  analysé dans le tableau VIII est adsorbé pendant 20 minutes à 37° sur des bactéries sensibles  $Gal_1^- Gal_2^-$  carencées en milieu d'adsorption. Des dilutions adéquates sont étalées à la surface de boîtes TTC-galactose contenant du sérum anti- $\lambda$ . Après 16 heures d'incubation, les colonies sont testées par la méthode des répliques sur C600 et  $\lambda c$ .

Si l'on considère le rapport entre les titres de  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$  qui se situe entre 0,5 et 1, on constate qu'il correspond au rapport entre phages défectifs  $\lambda dg$  et phages actifs trouvés dans le lysat HFT ordinaire.

Le titre des bactéries survivantes dans une culture infectée avec le lysat contenant  $\lambda i1$  et  $\lambda dg$  correspond à ce qu'on s'attend à trouver pour la m.i. calculée à partir des phages morphologi-

quement intacts du lysat. Ceci prouve que les phages  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$ , quand ils ne lysogénisent pas la bactérie infectée, sont capables de la tuer.

Des observations au microscope électronique de lyses individuelles ont montré que toutes les bactéries induites d'une souche doublement lysogène défective pour  $\lambda i1$  et  $\lambda dg$  libèrent des phages morphologiquement complets. Les deux phages défectifs coopèrent donc pour la synthèse et la maturation de la progéniture, qui contient en proportions égales le matériel génétique de chacun des parents. La fréquence des recombinants actifs est légèrement inférieure à 1% et ce n'est que dans une sur dix bactéries lysées que se trouvent de ces recombinants actifs, ce qui se révèle lors de la mesure des centres infectieux. Le rendement moyen en phages actifs par centre infectieux est de deux, ce qui montre bien qu'il s'agit de recombinants produits au cours de la multiplication végétative.

### III. COOPÉRATION ENTRE LE PHAGE DÉFECTIF $\lambda dg$ ET UN PHAGE APPARENTÉ À $\lambda$ .

Des phages apparentés à  $\lambda$  ont été décrits par Jacob et Wollman (1956b). Les phages 82 et 434 sont sensibles à un sérum anti- $\lambda$ , mais ils s'adsorbent sur des bactéries résistantes par adsorption à  $\lambda$ . Ils se multiplient sur des bactéries K12 ( $\lambda$ ), immunes envers  $\lambda$ . Lors de la lysogénérisation, leur prophage se place à un endroit différent mais voisin de l'endroit du prophage  $\lambda$  sur le génome bactérien. 82 et 434 produisent des recombinants avec le phage  $\lambda$ . Nous nous sommes demandés si ces phages sont capables de transduire des caractères Gal, s'ils peuvent coopérer dans la multiplication et la lysogénérisation du phage  $\lambda dg$  et s'ils peuvent produire des recombinants avec ce dernier.

Il ne nous a pas été possible de trouver des phages transducteurs pour les caractères  $Gal_1^+$   $Gal_2^+$  dans des lysats obtenus par induction de C600 (82) et C600 (434). La fréquence de la formation éventuelle de phages transducteurs pour les caractères  $Gal_1^+$   $Gal_2^+$  ne peut donc pas être supérieure à  $10^{-7}$  par phage du lysat.

Des bactéries syngénotes lysogènes défectives  $\text{Gal}^-/\text{ex Gal}^+ \cdot \lambda$  ont été induites, puis surinfectées avec les phages 82 ou 434. Dans les deux cas il y a eu production de phages transducteurs en quantités comparables à celle des phages surinfectants reproduits. Les phages 82 et 434 ont donc la possibilité d'apporter les fonctions qui manquent à  $\lambda dg$  pour se multiplier.

Des bactéries sensibles  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  ont été infectées à une m.i. de  $10^{-3}$  phages transducteurs du lysat HFT 78 et surinfectées simultanément avec une m.i. de 4 phages normaux 82. Après également sur des boîtes TTC-galactose et incubation pendant 24 heures à  $37^\circ$ , on a trouvé une probabilité de transduction par phage  $\lambda dg$  de 15%. Le phage 82 coopère donc également pour la lysogénisation de  $\lambda dg$ . Les bactéries transduites sont immunes envers 82 et  $\lambda$ ; elles ségrègent des colonies  $\text{Gal}^-$  immunes envers 82, mais sensibles à  $\lambda$ . Elles sont donc  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (82)/\text{ex Gal}^+ \cdot \lambda$ .

Une souche  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (82)/\text{ex Gal}^+ \cdot \lambda$  obtenue par lysogénisation de  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/\text{ex Gal}^+ \cdot \lambda$  avec le phage 82 a été induite et le lysat soumis aux contrôles suivants: sur un indicateur résistant par adsorption à  $\lambda$  ( $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/\lambda$ ) on a la même efficacité d'également que sur l'indicateur C600. Par contre, sur la souche  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/82$ , résistante par adsorption à 82, il ne se forme pas de plages (moins de  $10^{-4}$ ). Les phages actifs du lysat sont donc phénotypiquement 82. Après un cycle de multiplication, soit sur la souche C600, soit sur  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/\lambda$ , ce qui permet aux génotypes de s'exprimer, on ne trouve pas non plus de phages actifs s'adsorbant sur  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-/82$  (moins de  $10^{-4}$ ). Les phages actifs produits ont donc tous la spécificité d'adsorption du phage 82 et ceci aussi bien génotypiquement que phénotypiquement.

Le lysat est HFT et les phages transducteurs ne s'adsorbent pas plus que les phages actifs sur les souches /82, comme le prouve l'expérience suivante: le lysat est mélangé avec: a) des bactéries /82 et b) des bactéries / $\lambda$ . Après 30 minutes d'adsorption à  $37^\circ$  on centrifuge les bactéries et on mesure ensuite le pouvoir transducteur des surnageants. Le lysat, après contact avec /82 avait gardé tout son pouvoir transducteur, tandis que,

après contact avec  $\lambda$ , le pouvoir transducteur avait été réduit d'un facteur de plus de 100.

Sur les boîtes de titrage du lysat de  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82)/ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$  induite, on trouve des plages de différentes tailles, tandis que les plages de 82 utilisé pour la lysogénisation sont toutes d'une taille uniforme. Il se produit donc des recombinants entre le phage 82 et le phage défectif  $\lambda dg$ , en dehors de  $dg$ . Il est intéressant de chercher s'il est possible de croiser l'immunité entre  $\lambda dg$  et 82, c'est-à-dire de retrouver des phages actifs conférant l'immunité envers  $\lambda$  et donc capables de se multiplier dans une bactérie immune envers 82. Des gouttes du lysat de  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82)/ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$  sont déposées sur des boîtes ensemencées par  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82) ou par  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (\lambda)$ . Après incubation à 37° des zones de lyse se forment sur les deux souches à l'endroit du dépôt de la goutte. Le lysat contenait donc, à part les phages 82 reproduits, des phages actifs recombinants par rapport à l'immunité  $\lambda$ . Ces phages sont  $\lambda$  quant à leur caractère génétique déterminant l'immunité et 82 quant à leur caractère d'adsorption. Le phage recombinant complémentaire serait un phage défectif qui, lors de la transduction de Gal, procure à la bactérie réceptrice l'immunité envers 82.

La souche sensible  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  a été transduite par le lysat HFT de la souche  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82)/ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$  (m.i. = 0,1 phages actifs). Parmi les bactéries transduites, dont les caractères d'immunité ont été testés d'après le schéma représenté dans le tableau X, nous avons trouvé les souches suivantes:  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82)/ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$ ;  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (\lambda)$ /ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$ ;  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$  (82)/ex  $\text{Gal}^+ \cdot 82$ ;  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^- (\lambda)$ /ex  $\text{Gal}^+ \cdot 82$  et  $\text{Gal}_1^- \text{Gal}_2^-$ /ex  $\text{Gal}^+ \cdot \lambda$ . L'existence d'un prophage transducteur capable de ségrégier, qui a les caractères d'immunité de 82 est donc confirmée. Ce génome provient très probablement d'une recombinaison lors de la multiplication de  $\lambda dg$  et de 82 actif.

#### DISCUSSION.

##### 1. *Le défaut dg.*

Nous avons déjà vu que le génome transducteur n'est pas capable de synthétiser des structures liées à la production de

TABLEAU X.

*Schéma pour le test des caractères d'immunité de souches transduites par un lysat HFT provenant d'une souche  $Gal_1^- Gal_2^- (82)/ex Gal^+ \lambda$  induite.*

Souche	( $\lambda$ ) /ex $\lambda$	( $\lambda$ ) /ex 82	(82) /ex $\lambda$	(82) /ex 82	/ex $\lambda$	/ex 82
<i>Souche syngénote <math>Gal^+</math>:</i>						
Ségrégation des $Gal^-$ . . .	+	+	+	+	+	+
Test par stries						
immune à $\lambda$ . . .	+	+	+	—	+	—
immune à 82 . . .	—	+	+	+	—	+
Goutte de la culture irradiée aux UV forme zone de lyse sur						
W3110 sensible . . .	+	+	+	+	—	—
W3110 ( $\lambda$ ) . . . .	—	+	+	+	—	+ <sup>2</sup>
W3110 (82) . . . .	+	+	+	—	+ <sup>1</sup>	—
<i>Souche ségrégeante <math>Gal^-</math>:</i>						
Test par stries						
immune à $\lambda$ . . .	+	+	—	—	—	—
immune à 82 . . .	—	—	+	+	—	—
Goutte de la culture irradiée aux UV forme zone de lyse sur						
W3110 sensible . . .	+	+	+	+	—	—
W3110 ( $\lambda$ ) . . . .	—	—	+	+	—	—
W3110 (82) . . . .	+	+	—	—	—	—

<sup>1</sup> La bactérie  $Gal_1^- Gal_2^- /ex Gal^+ \lambda$  induite adsorbe des phages 82 libérés spontanément de W3110 (82). De la recombinaison résultent des phages actifs conférant l'immunité envers  $\lambda$  se multipliant sur W3110 (82). Lorsqu'on fait le même test avec le lysat au lieu de la culture induite, on n'obtient pas de zone de lyse.

<sup>2</sup> Constatation analogue à 1.

phages et visibles au microscope électronique, pas plus que du matériel bloquant le sérum anti- $\lambda$ . Les proportions constantes, soit de phages recombinants actifs, soit de phages transducteurs par rapport aux phages actifs, dans les lysats après des surinfections à des temps différents au cours de la période latente, indiquent que le génome défectif seul ne se multiplie pas végé-

tativement. On peut se demander si le défaut  $dg$  intéresse un seul locus qui commande une étape très précoce du développement du phage, bloquant ainsi toutes les réactions ultérieures, ou si  $dg$  couvre une région étendue des caractères de  $\lambda$ . L'impossibilité de former des recombinants actifs entre le génome défectif et des phages actifs pour les caractères  $h$ ,  $g_1$  et  $m_5$  semble prouver que  $dg$  est relativement étendu et que cette région  $dg$  se situe sur la carte des caractères génétiques de  $\lambda$  (figure 10) entre  $m_6$  et  $c$ . Le même résultat est obtenu par

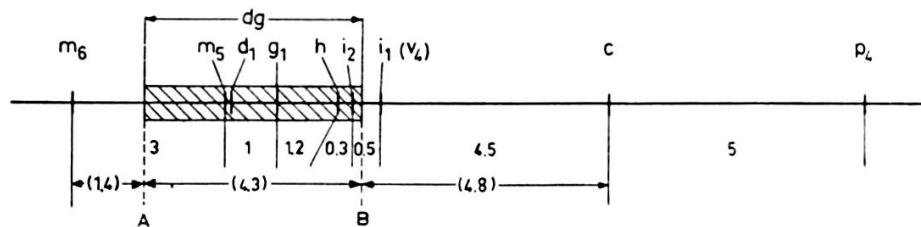


Fig. 10.

Position de la région  $dg$  dans le groupe de liaison des caractères génétiques de  $\lambda$ .

Distances en pour-cent de recombinants dans des croisements entre deux phages non irradiés. Pour la localisation des caractères  $m_6$ ,  $m_5$ ,  $g_1$ ,  $h$ ,  $v_4$ ,  $c$  et  $p_4$ , voir figure 1. L'endroit de  $d_1$ , responsable du défaut du prophage de la souche P14, a été déterminé par Jacob et Wollman (1956a), tandis que nous avons calculé les positions de  $i_1$  et  $i_2$ , responsables des défauts des phages défectifs  $\lambda i_1$  et  $\lambda i_2$ , à partir des résultats de croisements faits par Whitfield et Appleyard (1958).

l'analyse des fréquences de recombinaison après un croisement entre le génome défectif  $\lambda dg$  et des phages actifs  $\lambda m_6 c$  ou  $\lambda c p_4$ . Enfin, l'impossibilité de former des recombinants actifs entre le génome défectif  $\lambda dg$  et un des génomes défectifs  $\lambda d_1$  et  $\lambda i_2$ , dont les mutations peuvent être situées en des endroits restreints, confirme notre localisation de la région  $dg$ .

Nos expériences ne permettent pas de connaître la nature de ce défaut. On peut s'imaginer qu'il s'agit d'une délétion et que tous les caractères situés normalement sur ce segment manquent. Ils ne peuvent, en effet, jamais être récupérés par recombinaison ; il est donc peu probable qu'ils soient rendus inefficaces par l'effet d'un suppresseur. Quant aux caractères Gal, portés par le phage transducteur, ils pourraient être liés ou non au génome phagique. Selon la première possibilité, ils pourraient être substitués ou branchés à l'endroit des caractères

phagiques manquant. Cela n'impliquerait nullement que la longueur de la région des caractères Gal corresponde à la longueur de la région *dg*, qui est par définition celle des caractères absents du génome phagique. La seconde possibilité que les caractères Gal ne soient pas liés du tout au génome phagique est moins probable, car 1<sup>o</sup> le génome d'un phage transducteur est toujours défectif, la capacité de transférer des caractères Gal et la défectuosité sont donc liées, 2<sup>o</sup> lors de la ségrégation du prophage défectif les bactéries syngénètes lysogènes défективes perdent toujours à la fois l'immunité envers  $\lambda$  et la diploïdie des caractères Gal.

Nos données expérimentales permettent de déterminer approximativement les limites de la région *dg*. Appelons A la limite gauche du côté  $m_6$  et B la limite droite du côté *c* (fig. 10). Nous avons déjà vu qu'on obtient des recombinants actifs entre  $\lambda dg$  et le mutant virulent  $\lambda 2$ . Un ( $v_4$ ) des quatre caractères déterminant ensemble la virulence se situe entre *c* et *h*, plus près de ce dernier. B doit donc se trouver entre *h* et  $v_4$ . Une localisation plus précise est possible par le fait que  $\lambda dg$  n'est pas capable de coopérer et de former des recombinants actifs avec le phage défectif  $\lambda i2$ , ce qu'il est à même de faire avec le phage défectif  $\lambda i1$ . Il est donc très probable que B se situe entre *i1* et *i2*. La fréquence d'environ 1% de recombinants entre *i1* et *dg* après irradiation de la bactérie doublement lysogène défective correspond à une fréquence de recombinaison entre deux phages non irradiés (Jacob et Wollman, 1955) qui est en tout cas plus petite que 0,5.

Admettons donc que B se situe à 4,8 unités à gauche de *c*. Pour placer B plus précisément, il faudrait comparer les fréquences de recombinaison entre  $\lambda i1$  et  $\lambda dg$  avec celle de  $\lambda i1$  et  $\lambda i2$  en les mesurant dans les deux cas pour des bactéries doublement lysogènes induites. Connaissant la distance B — A, on peut calculer approximativement la distance  $m_6$  — A en se basant sur les fréquences des recombinants actifs trouvés dans le croisement  $m_6^+ dg c^+ \times m_6 dg^+ c$ . Ne considérons que  $m_6^+ dg^+ c$  et  $m_6 dg^+ c^+$  résultant d'un seul crossing-over et admettons que ces recombinants se multiplient à la même vitesse, comme c'est le cas pour ces mêmes recombinants

$m_6^+ c$  et  $m_6 c^+$  dans un croisement entre les deux phages actifs  $\lambda m_6 c$  et  $\lambda m_6^+ c^+$  (Kaiser, 1955). Si l'on suppose qu'il n'y a pas de crossing-over sur la distance AB ou alors qu'il en résulte des phages défectifs, les recombinants  $m_6 dg^+ c^+$  peuvent être attribués à un crossing-over dans la région B — c et les recombinants  $m_6^+ dg^+ c^+$  à un crossing-over dans la région  $m_6$  — A. La proportion entre les deux fréquences de recombinants correspond donc à la proportion formée par les deux distances :

$$\frac{\text{fréquence } m_6 dg^+ c^+}{\text{fréquence } m_6^+ dg^+ c} = \frac{\text{distance B} — c}{\text{distance } m_6 — A}.$$

Elle est en moyenne de 3,4 lorsque la surinfection est effectuée à 0 minute (tableau VI). La distance B — c étant de 4,8 unités on trouve pour la distance  $m_6$  — A 1,4 unités. La distance A — B, donc la longueur de la région dg est alors de 4,3 unités.

La précision de cette estimation est limitée par les faits suivants: a) on ne peut pas mesurer les recombinants complémentaires du fait qu'ils ne sont pas actifs; b) on a négligé une influence éventuelle de la dose d'induction UV sur la vitesse de multiplication des recombinants; c) on a négligé les recombinants ayant fait deux croisements.

La distance totale entre les deux caractères extrêmes connus jusqu'à présent ( $m_6$  et  $p_4$ ) sur la carte des caractères génétiques de  $\lambda$  est de 15,5 unités. D'après notre estimation, le défaut dg couvre plus d'un quart de cette longueur totale.

La question se pose de savoir si tous les phages transducteurs d'origine indépendante (lysats LFT de souches K12 ( $\lambda$ ) indépendantes) portent la région défective au même endroit sur la carte génétique et si elle a toujours la même extension. Des expériences cherchant à fixer la limite B à l'aide de l'effet de coopération entre  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$  et de non-coopération entre  $\lambda dg$  et  $\lambda i2$  indiquent que B est toujours à l'endroit indiqué (observations non publiées), car dix souches doublement lysogènes défectives (contenant  $\lambda i1$  et  $\lambda dg$  provenant de lysats LFT indépendants), coopérant dans la multiplication des phages  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$ , donnent toujours les mêmes fréquences de recombinants actifs. Cette recherche s'est révélée difficile parce que, pour tester s'il y a coopération, on est obligé d'utiliser des

bactéries doublement lysogènes défectives pour les deux sortes de prophages défectifs en question. Il faut donc, par exemple, transduire des bactéries déjà lysogènes pour  $\lambda i1$ . Mais on ne sait pas quel est le mécanisme de fixation d'un second prophage dans une bactérie déjà lysogène et il est possible qu'il y ait interaction entre le prophage et le phage infectant avant ou lors de l'établissement de la double lysogénie. Dans les expériences citées, nous avons également trouvé un certain nombre de souches doublement lysogènes défectives pour  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$  qui n'étaient pas capables de coopérer; on pourrait penser que la limite B de  $dg$  est dans ces cas entre  $i1$  et  $c$ . Mais il nous semble plus probable que le phage  $\lambda dg$  ait fait une recombinaison avec le prophage  $\lambda i1$  lors de la fixation comme second prophage et qu'il soit ainsi devenu doublement défectif  $dg$  et  $i1$ . Il serait alors évidemment incapable de coopérer avec  $i1$ . Cette hypothèse est appuyée par le fait que des souches capables et incapables de coopérer ont été obtenues à partir de phages transducteurs provenant du même génome défectif.

## 2. *Le phénomène de coopération.*

Le phage défectif est incapable de se reproduire seul, mais dès qu'un phage surinfectant apporte les fonctions qui lui manquent, il peut se multiplier. Il n'est pas nécessaire de surinfecter par un phage  $\lambda$  actif, comme le prouve l'effet de coopération entre  $\lambda dg$  et le phage défectif  $\lambda i1$ , ou même que le phage surinfectant soit un phage  $\lambda$ , car les phages 82 et 434 apparentés à  $\lambda$  peuvent apporter cette fonction. Le fait qu'il y a coopération entre  $\lambda dg$  et  $\lambda i1$  montre d'une part que le phage  $\lambda dg$  peut procurer à  $\lambda i1$  les fonctions qui lui manquent pour produire des phages infectieux, d'autre part que  $\lambda i1$  accomplit les fonctions qui manquent à  $\lambda dg$  et qui sont nécessaires pour la multiplication du génome  $\lambda dg$ . On peut en conclure que la synthèse de phages infectieux est assurée par un jeu complet de gènes phagiques mais que ceux-ci ne doivent pas nécessairement être apportés par le même phage ni par un recombinant génétique.

La plupart des phages défectifs résultant de la multiplication par coopération ne se distinguent pas génotypiquement de leur parent défectif. L'existence de recombinants défectifs ayant

croisé avec le phage surinfectant peut être démontré en surinfectant avec le phage 82. Dans ce cas, on trouve des phages défectifs conférant à la bactérie réceptrice l'immunité envers 82 lors de la lysogénisation.

Nous n'avons pas trouvé dans les lysats obtenus par coopération entre  $\lambda$  normal et  $\lambda dg$  des phages ayant recombiné à l'intérieur de la région *dg*. Par contre le phage défectif peut, lors de sa multiplication, échanger des caractères Gal avec la bactérie (Arber, Kellenberger et Weigle, 1957).

Les propriétés d'adsorption du phage défectif transducteur sont toujours celles du phage coopérant: de la coopération entre  $\lambda dg$  et  $\lambda h$  actif ne résultent que des phages phénotypiquement *h*, de la coopération entre  $\lambda dg$  et  $\lambda h^+$  actif uniquement des phénotypes *h<sup>+</sup>*. Les phages d'un lysat obtenu par coopération entre  $\lambda dg$  et le phage 82 actif ont tous les propriétés d'adsorption du 82. Le caractère *h* et les caractères de  $\lambda dg$  déterminant la non-adsorption sur des bactéries résistantes ne peuvent donc pas fonctionner, même en présence d'un phage coopérant, et il est très probable que ces caractères manquent sur le génome  $\lambda dg$ . C'est alors uniquement le phage assistant qui dirige la synthèse des protéines responsables de l'adsorption.

Le phage défectif  $\lambda dg$  lysogénise vingt à trente fois moins bien que le phage actif dont il provient, différence qui disparaît lorsqu'on surinfecte simultanément la culture réceptrice avec des phages normaux. Pour expliquer cette différence on pourrait supposer que la faible probabilité de lysogéniser du phage  $\lambda dg$ , quand il infecte seul une bactérie, est en relation avec l'incapacité de  $\lambda dg$  de se multiplier végétativement. Admettons qu'un génome phagique ait une certaine probabilité par unité de temps d'établir la lysogénie. Si le matériel génétique du phage ne se multiplie pas, il n'y a que peu de bactéries qui établissent la lysogénie. Si, par contre, on a une multiplication du génome phagique, la chance de lysogéniser augmente avec le nombre de copies.  $\lambda$  normal, s'il surinfecte après le premier tiers de la période latente une bactérie ayant adsorbé un phage  $\lambda dg$ , n'aide que peu à la lysogénisation par  $\lambda dg$ . Ce fait permet de penser que la probabilité de lysogéniser est la plus grande immédiatement après l'infection et qu'elle diminue plus tard.

Elle serait donc une fonction du temps au cours de la période latente. Dans une bactérie surinfectée simultanément avec  $\lambda$  normal,  $\lambda dg$  se multiplie par coopération aussi bien que  $\lambda$  normal. Notre hypothèse pourrait donc expliquer pourquoi  $\lambda dg$  assisté par  $\lambda$  normal lysogénise aussi fréquemment que  $\lambda$  normal. Une autre possibilité serait que  $\lambda dg$  s'associe au phage normal coopérant avant ou lors de la fixation de ce dernier comme prophage. Jacob, Fuerst et Wollman (1957) trouvent parmi leurs phages génétiquement défectifs des phages lysogénisant bien et d'autres qui lysogénisent mal. Ces résultats semblent confirmer notre hypothèse. En effet, ceux qui lysogénisent bien sont ceux qui multiplient végétativement leur génome, tandis que ceux qui n'effectuent pas de multiplication n'établissent que rarement la lysogénie. Nous avons vu nous-mêmes que le phage  $\lambda i1$ , dont la multiplication végétative a lieu mais à un rythme ralenti (Whitfield et Appleyard, 1957) a une probabilité de lysogéniser inférieure de peu seulement à celle du phage homologue actif.

Les bactéries lysogénisées par  $\lambda dg$  seul sont toutes syngénotes lysogènes défectives. Les bactéries lysogénisées par  $\lambda dg$  assisté par un phage actif sont toutes syngénotes lysogènes normales. Il semble très probable qu'il s'agit alors de bactéries doublement lysogènes, une fois pour le prophage actif et l'autre fois pour le prophage défectif transducteur: *a)* ces souches donnent après induction des lysats HFT exactement semblables aux lysats des bactéries infectées simultanément par des phages défectifs et des phages actifs; *b)* la ségrégation en  $Gal^-$  est accompagnée dans la plupart des cas par la perte du prophage défectif, mais la bactérie reste lysogène normale pour le prophage actif; son lysat après induction n'est alors plus HFT; *c)* de la transduction par  $\lambda dg$  avec surinfection par le phage 82 résultent des bactéries immunes envers 82 et envers  $\lambda$ . Elles sont lysogènes normales pour le prophage 82 et syngénotes lysogènes défectives pour le prophage  $\lambda dg$ .

La fréquence élevée de bactéries doublement lysogènes après infection mixte avec des phages transducteurs et des phages normaux ne permet pas de conclure quant au mécanisme spécial éventuel de fixation du prophage défectif. En effet, on

obtient également une grande proportion ( $\frac{1}{3}$ ) de bactéries doublement lysogènes K12 ( $\lambda h$ ,  $\lambda h^+$ ) lors d'une infection mixte de bactéries sensibles avec  $\lambda h$  et  $\lambda h^+$ . Il semble donc assez normal de trouver plus d'un prophage fixé lors d'une infection simultanée.

L'effet de coopération dans la lysogénisation permet une titration des phages transducteurs relativement précise et assez simple: par infection à basse m.i. ( $10^{-3}$ ) avec des phages transducteurs et surinfection (m.i. = 5) de toutes les bactéries avec des phages normaux, on obtient des conditions de lysogénisation relativement constantes. Tenant compte de la probabilité de lysogénisation, on peut alors déterminer les titres par comptage des colonies transduites. D'autres méthodes de titration ont été discutées dans le chapitre premier.

## CHAPITRE V

### TRANSDUCTION PAR LE PHAGE $\lambda dg$ IRRADIÉ AU RAYONNEMENT UV

Garen et Zinder (1955) ont trouvé qu'un lysat du phage P22 de *Salmonella typhimurium* ne perd pas sa capacité de transduire après irradiation aux UV, bien qu'une grande proportion des phages soient inactivés. Morse (communication personnelle) a fait la même constatation pour  $\lambda dg$ . Dans certaines conditions ces auteurs obtiennent même une augmentation de la transduction, après une faible dose d'UV. Comme le phage  $\lambda$  inactivé aux UV ne lysogénise pas (G. Kellenberger, communication personnelle), on peut se demander par quel mécanisme la transduction par un lysat HFT irradié se produit. Nous avons essayé de répondre à cette question par les expériences suivantes:

Le pouvoir transducteur de notre lysat HFT 78 Gal<sup>+</sup> irradié par des doses variables d'UV a été déterminé et les résultats sont représentés sur la figure 11. On a utilisé les