Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]

Herausgeber: Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

Band: 11 (1958)

Heft: 3

Artikel: Transduction des caractères Gal par le bactériophage Lambda

Autor: Arber, Werner

Kapitel: V: Transduction par le phage dg : irradié au rayonnement UV

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-738815

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: 20.11.2025

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

obtient également une grande proportion ($\frac{1}{3}$) de bactéries doublement lysogènes K12 (λh , λh^+) lors d'une infection mixte de bactéries sensibles avec λh et λh^+ . 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

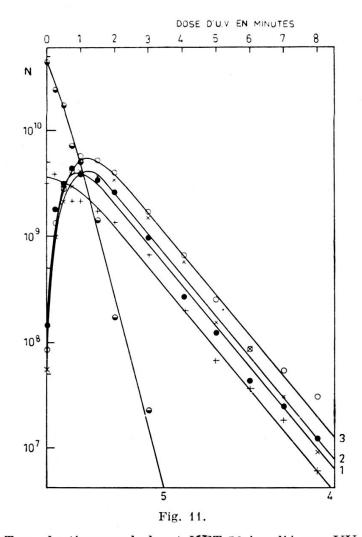
TRANSDUCTION PAR LE PHAGE \(\lambda dg \) IRRADIÉ AU RAYONNEMENT UV

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 λdg . Dans certaines conditions ces auteurs obtiennent même une augmentation de la transduction, après une faible dose d'UV. Comme le phage λ 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⁺ irradié par des doses variables d'UV a été déterminé et les résultats sont représentés sur la figure 11. On a utilisé les

souches réceptrices suivantes: 1° Gal₁-Gal₂- sensible, 2° Gal₁-Gal₂-/ex Gal₁-Gal₂-λ homogénote lysogène défective et 3° Gal₁-Gal₂-(λ) lysogène normale.

Après une faible irradiation le pouvoir transducteur du lysat HFT augmente fortement pour atteindre un maximum



Transduction par le lysat HFT 78 irradié aux UV.

Le lysat HFT contenant $4,4 \cdot 10^{10}$ phages actifs et $2,3 \cdot 10^{10}$ phages transducteurs par ml est irradié avec des doses variables de rayonnement UV à une distance de 55 cm de la lampe. La survie des phages actifs est mesurée pour chaque dose (courbe 5; \bigcirc). Le lysat irradié est adsorbé pendant 30 minutes à 37° sur des bactéries (1; \bigcirc) sensibles $\mathrm{Gal_1}^-\mathrm{Gal_2}^-$, (2; \times) homogénotes lysogènes défectives $\mathrm{Gal_1}^-\mathrm{Gal_2}^-$ /ex $\mathrm{Gal_1}^-\mathrm{Gal_2}^-$ - λ et (3; \bigcirc) lysogènes normales $\mathrm{Gal_1}^-\mathrm{Gal_2}^-$ (λ). Les multiplicités d'infection sont (1) $3 \cdot 10^{-3}$, (2) $4,1 \cdot 10^{-3}$ et (3) $4,4 \cdot 10^{-3}$ phages morphologiquement intacts par bactérie. Après adsorption, des dilutions adéquates sont étalées sur des boîtes TTC-galactose. Après 20 heures d'incubation, les colonies transduites en Gal^+ sont comptées. La courbe 4 (+) représente la proportion des bactéries transduites après le même traitement, mais avec surinfection simultanée par 10 phages actifs par bactérie réceptrice sensible. En abscisse: dose UV en minutes. En ordonnée: N = nombre de bactéries transduites par ml du lysat HFT 78 (courbe 1 à 4) ou nombre de phages actifs survivants par ml du lysat HFT (courbe 5).

à une dose de 60 secondes environ (survie de λ actif = 10^{-1}). Après une irradiation plus forte le pouvoir de transduction diminue exponentiellement en fonction de la dose. La sensibilité apparente des caractères $\operatorname{Gal}_1^-\operatorname{Gal}_2^-$ serait d'environ trois fois moindre que celle du phage λ actif.

La transduction par le lysat HFT irradié aux UV est un peu meilleure sur des récepteurs lysogènes que sur les sensibles. L'analyse des colonies transduites aidera à comprendre ces différences.

1. Souche réceptrice sensible.

Infectées à une m.i. de $3 \cdot 10^{-3}$ phages morphologiquement intacts, les bactéries transduites par le lysat HFT non irradié sont la plupart hétérogénotes lysogènes défectives (tableau XI).

Tableau XI. Analyse des colonies transduites en Gal^+ après adsorption du lysat HFT 78 irradié au rayonnement UV sur des bactéries réceptrices $Gal_1^- Gal_2^-$ sensibles.

Dose UV secondes	Colonies transduites testées			
	Total	Hétérogénotes lysogènes normales	Hétérogénotes lysogènes défectives	Sensibles
0 15 30 60	20 12 12 12	2 1 0 0	17 6 1 0	1 5 11 12

Des colonies transduites en Gal⁺ sont isolées des boîtes d'étalement TTC-galactose de l'expérience décrite dans le texte de la figure 11. Elles sont nettoyées deux fois et testées ensuite quant à leur ségrégation, à leur production de phages actifs et à leur immunité envers λc .

Après une dose de 15 secondes d'irradiation déjà, la moitié des bactéries transduites sont sensibles et après des doses plus fortes on ne retrouve plus que des sensibles Gal⁺. Celles-ci sont stables et ne ségrègent jamais de Gal⁻. En multipliant lytique-

ment des phages λ dans une telle souche, on n'obtient jamais de phages transducteurs, même si l'on irradie les bactéries avant l'infection avec une dose d'induction de rayonnement UV. De même, après lysogénisation par λ , ces souches sont toujours lysogènes normales non syngénotes et ne donnent pas de lysat HFT.

Il doit probablement se produire une incorporation stable des caractères Gal du phage transducteur dans le génome de la bactérie; ce que l'expérience suivante semble confirmer: un lysat HFT Gal₁-Gal₂-λ provenant d'une souche Gal⁺ (λ)/ ex Gal₁-Gal₂-λ a été irradié aux UV à une survie de 1% des phages actifs. Ensuite, les phages irradiés ont été adsorbés sur des bactéries W3110 Gal⁺ carencées et celles-ci étalées sur des boîtes TTC-galactose. Après 16 heures d'incubation à 37° on a trouvé des colonies transduites en Gal⁻. Parmi 20 colonies Gal⁻ testées, 8 étaient Gal₁-Gal₂- sensibles, 8 Gal₁-Gal₂+ sensibles, 3 Gal₁+Gal₂- sensibles et une était Gal⁻ pour un autre caractère. Cette dernière pourrait être due à une mutation spontanée.

2. Souche réceptrice homogénote lysogène défective.

La transduction du lysat HFT non irradié sur la souche réceptrice homogénote lysogène défective $Gal_1^-Gal_2^-/ex Gal_1^-Gal_2^--λ$ est environ trois fois moins efficace que sur la souche sensible $Gal_1^-Gal_2^-$. Parmi douze colonies transduites examinées, toutes étaient restées syngénotes lysogènes défectives.

Par de faibles doses d'UV l'efficacité de transduction est fortement augmentée, dans les mêmes proportions que chez les récepteurs sensibles. Pour les fortes doses, elle diminue parallèlement à la survie des caractères Gal constatée sur les récepteurs sensibles.

Parmi 12 colonies transduites avec le lysat HFT irradié pendant 7 minutes (survie des phages actifs = $2 \cdot 10^{-7}$) on a trouvé 10 syngénotes lysogènes défectives, ségrégeant toutes des Gal⁻, et 2 sensibles Gal⁺ stables. Ces dernières peuvent être produites par transduction de bactéries ségrégeantes sensibles Gal⁻ se trouvant dans la culture réceptrice, et il est probable que les bactéries syngénotes lysogènes défectives restent

toujours syngénotes lysogènes défectives lors de la transduction par le lysat HFT irradié.

3. Souche réceptrice lysogène normale.

L'efficacité de transduction du lysat HFT non irradié sur la souche lysogène normale $\operatorname{Gal}_1^-\operatorname{Gal}_2^-(\lambda)$ est un peu plus petite que celle de la souche sensible. Les colonies transduites sont hétérogénotes du type $\operatorname{Gal}_1^-\operatorname{Gal}_2^-(\lambda)/\operatorname{ex} \operatorname{Gal}_1^+\operatorname{Gal}_2^+-\lambda$. Le phage défectif se fixe donc en établissant une double lysogénie.

Si l'on irradie des phages défectifs, ils transduisent les bactéries réceptrices lysogènes normales avec plus d'efficacité qu'ils ne transduisent les bactéries sensibles. La majorité (10 sur 12) des colonies transduites par le lysat HFT irradié avec la dose de 7 minutes d'UV (survie des phages actifs = $2 \cdot 10^{-7}$) sont syngénotes lysogènes normales et donnent après induction un lysat HFT. Ces souches sont donc devenues doublement lysogènes $\operatorname{Gal}_1^-\operatorname{Gal}_2^-(\lambda)/\operatorname{ex} \operatorname{Gal}_1^+\operatorname{Gal}_2^+-\lambda$. Les deux autres sont des souches stables Gal^+ non syngénotes $\operatorname{Gal}^+(\lambda)$.

Le phage λdg ayant été fortement irradié, il est difficile de comprendre pourquoi les caractères Gal apportés par ce phage se trouvent dans la bactérie transduite en position exogénote et liés à un prophage λdg apparemment non lésé par les UV. Il faut s'imaginer que le phage λdg irradié a une grande affinité pour le prophage λ de la bactérie réceptrice lysogène normale et qu'il est capable de se rétablir avec l'aide du bon prophage tout en laissant ce dernier intact. On devrait donc trouver sur le prophage λdg de la bactérie transduite les caractères génétiques du prophage de la bactérie réceptrice ou une partie au moins de ceux-ci. Ne connaissant pas de marqueurs génétiques de λ qui à la fois lysogénisent bien et ne sont pas inclus dans la région dg, nous avons cherché si, après transduction par le phage λdg irradié d'une souche lysogène normale portant le prophage 82, on trouve l'immunité envers 82 ou envers λ associée au prophage défectif.

Une culture $\operatorname{Gal}_1^-\operatorname{Gal}_2^-(82)$ a été transduite par le lysat HFT 78 irradié aux UV pendant 7 minutes. Parmi vingt-quatre colonies transduites testées nous avons trouvé deux hétéro-

génotes lysogènes normales donnant un lysat HFT après induction. Les autres souches étaient Gal^+ (82) stables. La proportion des bactéries dans lesquelles les caractères Gal ont été incorporés d'une façon stable dans le génome bactérien est donc plus grande chez la souche lysogène pour 82 que chez celle qui est lysogène pour λ . Les deux souches syngénotes lysogènes normales étaient du type Gal^- (82)/ex Gal^+ -82. L'immunité du prophage défectif provenait donc dans les deux cas du prophage actif 82 tandis que l'immunité envers λ n'a dans aucun cas pu être retrouvée. On peut donc penser que le phage défectif λdg irradié peut se compléter avec les caractères du « bon » prophage pour devenir un prophage défectif transducteur.

4. Souche réceptrice sensible surinfectée avec λ actif.

La courbe 4 de la figure 11 est plus basse que la courbe obtenue sans surinfection parce qu'il y a une proportion constante de bactéries qui sont lysées par le phage surinfectant, alors que les phages inactivés par irradiation ne tuent pas les bactéries à eux seuls.

Les colonies transduites par le lysat HFT non irradié avec surinfection simultanée sont toutes hétérogénotes lysogènes normales. Parmi les colonies transduites par des phages défectifs fortement irradiés, la moitié environ est hétérogénote lysogène normale tandis que l'autre moitié est lysogène normale Gal^+ stable ne donnant pas de lysat HFT. On trouve donc, comme pour les souches réceptrices lysogènes normales, que le phage défectif λdg irradié a la possibilité de se rétablir avec l'aide du phage surinfectant actif tout en permettant l'établissement de la lysogénie normale. Dans le cas de la surinfection avec plusieurs phages, comme ici, on pourrait penser que ce n'est pas le même phage actif qui lysogénise et qui rétablit λdg .

Discussion.

La transduction par le phage λdg semble toujours être liée à l'établissement de la lysogénie pour λdg et de l'état syngénote

pour les caractères Gal. On trouve des bactéries transduites sensibles stables seulement après ségrégation, c'est-à-dire après perte du prophage λdg et de la polyploïdie du Gal, perte qui est souvent accompagnée par une recombinaison entre caractères Gal endo- et exogénotes.

Par contre les bactéries transduites par des phages \(\lambda dg\) irradiés aux UV sont toujours sensibles et stables pour les caractères Gal, lorsqu'il s'agit d'une souche réceptrice sensible. Cette stabilité des souches transduites et le fait qu'on peut même transduire des bactéries Gal⁺ en Gal⁻ par un lysat HFT Gal irradié font penser qu'il s'agit d'une incorporation dans le génome bactérien des caractères Gal apportés par le phage. Une recombinaison aurait donc lieu entre les caractères endo- et exogénotes. On a déjà trouvé une situation analogue lors de la ségrégation de bactéries sensibles à partir de syngénotes lysogènes défectives. Morse, Lederberg et Lederberg (1956b) ont montré par des croisements entre bactéries que les différents caractères de la région Gal sont étroitement liés. Pour expliquer la fréquence élevée des recombinaisons entre la région Gal du phage λdg irradié et la partie homologue du chromosome bactérien, il faut admettre une forte interférence négative, c'est-à-dire que les échanges sont localement nombreux dès qu'il y a une recombinaison. Cet effet pourrait être dû au rayonnement UV.

Quand on infecte des bactéries lysogènes normales ou défectives avec λdg irradié, le phage lésé peut être restauré par le prophage et on trouvera dans la bactérie transduite un prophage défectif transducteur pour les caractères Gal apportés par λdg irradié; en conséquence, la bactérie est syngénote. Si ces bactéries étaient lysogènes normales, elles le restent après la transduction; le prophage actif ayant effectué la restauration du phage lésé est donc resté actif. Une partie cependant des bactéries infectées peuvent devenir stables pour la région Gal et non syngénotes. Il doit s'agir alors d'une recombinaison entre endo- et exogénote Gal comme chez les récepteurs sensibles, donc sans restauration de la partie phagique du génome. La proportion des bactéries réagissant de cette façon à l'infection est plus grande chez les lysogènes normales pour 82 que pour λ .

Dans le cas de la bactérie homogénote Gal⁻ défective, la transduction pourrait s'expliquer de différentes manières: on peut s'imaginer qu'il s'agit d'une recombinaison de la région Gal du phage irradié soit avec la région Gal du génome bactérien, soit avec celle du prophage défectif, ou encore qu'il s'agit d'une restauration du phage irradié par le prophage défectif et qu'il en résulte une bactérie doublement lysogène défective.

Tandis que λdg non irradié a une probabilité de transduire de 1% environ, la probabilité d'incorporation d'un morceau du phage λdg irradié et dont les caractères Gal sont «survivants » est très grande. Par extrapolation de la courbe de transduction en fonction de la dose UV à la dose 0 minute, on peut déterminer le titre des phages défectifs effectuant une telle transduction. Par extrapolation linéaire dans l'échelle exponentielle (fig. 11), on obtient ainsi pour le lysat HFT 78 le titre de $1,2 \cdot 10^{10}$ phages transducteurs pour la souche réceptrice sensible, 1,6 · 1010 pour la souche réceptrice syngénote lysogène défective et 2,5 · 1010 pour la souche lysogène normale. Le titre trouvé pour ce même lysat 78 par d'autres méthodes est de $2.3 \cdot 10^{10}$ phages transducteurs par ml. Le titre obtenu confirme les résultats des autres méthodes de titration; l'efficacité de transduction d'un phage λdg irradié, dont les caractères Gal survivent, serait alors de 100% sur la souche lysogène normale. Dans le cas des récepteurs sensibles, où l'incorporation stable des caractères Gal dans le génome bactérien est responsable de la transduction, on ne s'attend pas à trouver une efficacité de 100% vu que l'on ne compte que les bactéries transduites en Gal⁺ pour les deux caractères Gal₁ et Gal,

Nos expériences montrent que le même phage transducteur λdg peut transduire: a) par lysogénisation de la bactérie réceptrice ou b), dans son état « inactivé » par le rayonnement UV, par recombinaison entre endo- et exogénote. On ne sait pas si d'autres moyens d'inactivation que le rayonnement UV peuvent avoir un effet analogue sur λdg . Le cas a) produit des bactéries syngénotes lysogènes défectives, le cas b) des bactéries sensibles, stables pour la région Gal. Ce dernier mécanisme de transduction est comparable au type de transduction générale-

ment trouvé, découvert par Zinder et Lederberg (1952) chez $Salmonella\ typhimurium$. Demerec et Demerec (1956) décrivent cette transduction comme incorporation par recombinaison des caractères apportés par le phage PLT22 dans le génome de la bactérie réceptrice. Il semble donc que le phage défectif λdg pourrait servir de modèle non seulement pour les transductions du type dit λdg , donnant des bactéries syngénotes lysogènes défectives, mais aussi pour les transductions qui donnent des bactéries sensibles. Ces dernières n'étant pas syngénotes, il ne sera pas possible d'obtenir des lysats HFT à partir de ces bactéries transduites. Le phage défectif pourrait transduire selon l'un ou l'autre des mécanismes décrits, suivant l'état de son génome, son mode de liaison au morceau du génome bactérien porté et l'extension de son défaut.

RÉSUMÉ

Les lysats obtenus par induction de souches lysogènes normales Escherichia coli K12 (λ) contiennent environ un phage sur 104 capable de donner à des bactéries réceptrices des caractères Gal de la bactérie productrice (donatrice). Les bactéries isolées après transduction par un tel lysat LFT sont toujours syngénotes (diploïdes pour certains caractères Gal) et immunes envers le phage λ. Après induction, les souches syngénotes lysogènes normales donnent des lysats HFT contenant à peu près autant de phages transducteurs que de phages normaux. Les phages λ transducteurs se sont révélés être génétiquement défectifs (λdg). Le défaut provient de la présence des caractères Gal bactériens liés au génome phagique. Lorsque les phages λdg infectent des bactéries sensibles, environ 1% de ces phages rendent les bactéries syngénotes lysogènes défectives, tandis que les autres lysent les bactéries sans que des phages ni même des structures liées à la production de phages puissent être formés.

Les souches syngénotes lysogènes défectives contiennent un prophage défectif λdg qui les rend immunes envers les phages