

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 3 (1972)

Artikel: Transformation chez les Eucaryotes inférieurs
Autor: Ojha, Mukti
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099318>

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: 17.04.2026

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

Transformation chez les Eucaryotes inférieurs

MUKTI OJHA

RÉSUMÉ

Le transfert du caractère épigyne ou hypogyne, dans les espèces réceptrices, a été démontré par le traitement du DNA hétérologue d'*Allomyces* (*A. arbusculus*- hypogyne, *A. macrogynus*- épigyne). La centrifugation dans le CsCl montre l'existence de trois fractions de DNA différentes par leur densité.

SUMMARY

Heterologous DNA in *Allomyces* have been shown to transfer epigynous or hypogynous characteristics in the receiving species depending upon the sexual polarity of the donor (*A. arbusculus*- hypogynous, *A. macrogynus*- epigynous). CsCl centrifugation of the total cellular DNA from both species shows the existence of three types of DNA, separating as three distinct peaks depending upon their density.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Übertragung der epigynen oder hypogynen Merkmale, auf die Empfängerarten, wurde bei *Allomyces* durch Behandlung der heterologen DNS nachgewiesen (*A. arbusculus*- hypogynus, *A. macrogynus*- epigynus). Die Zentrifugation in Caesiumchlorid zeigt das Vorhandensein von drei Fraktionen mit verschiedenen Dichten.

Plusieurs mécanismes existent pour la recombinaison génétique chez les organismes vivants. La méthode habituelle, à la fois dans la nature et le laboratoire, était la conjugaison de deux organismes de polarité sexuelle opposée qui permettait la recombinaison de certains de leurs caractères dans leur descendance. C'est ce mécanisme qui a permis l'évolution naturelle de plusieurs espèces. En effet, on trouve souvent plusieurs hybrides naturels (*Allomyces javanicus*, par exemple est un hybride naturel de *A. arbusculus* x *A. macrogynus*, Emerson & Wilson 1954).

L'autre mécanisme, qui aboutit au même résultat, est la méthode de transduction qui utilise un virus tempéré comme transporteur de marqueurs génétiques. Cette méthode, comportant l'introduction d'un génôme étranger dans une cellule réceptrice, a été utilisée avec facilité dans divers laboratoires, mais réservée aux seuls bactériologistes (Campbell 1964). Ces dernières années, cette technique s'est développée de façon remarquable. D'importants articles (Munyon & al. 1971; Qasba & Aposhian 1971; Merrill & al. 1971, etc.) récemment publiés montrent le transfert et la correction de déficience métabolique spécifique chez des cellules eucaryotiques réceptrices de virus portant le gène défectif dans ces cellules.

La méthode de transformation, mécanisme de transfert de gène cependant le plus élégant, a eu peu de succès chez les Eucaryotes pour des raisons inconnues. Cette méthode a été particulièrement bien démontrée chez les Procaryotes. Le principe de celle-ci est basé sur l'introduction de matériel génétique défini et isolé chimiquement dans des cellules vivantes, dans des conditions déterminées permettant l'intégration dans le génôme. Pour que cette transformation réussisse les conditions suivantes doivent être réunies:

1. Nécessité d'un attachement irréversible entre le DNA exogène et les cellules réceptrices.
2. Pénétration de molécules de DNA exogène dans les cellules.
3. Transport à travers le cytoplasme jusqu'au noyau.
4. Intégration dans le génôme recepneur.
5. Expression de marqueurs du donneur dans la descendance des cellules réceptrices.

Les conditions permettant d'obtenir le maximum d'efficacité des étapes ci-dessus ont été bien déterminées chez les procaryotes et résumées en détail dans plusieurs publications (Ravin 1961; Schaeffer 1964; Hayes 1964; Braun 1965; Spizizen & al. 1966; Tomasz 1971 and Erikson 1970).

Le fait du succès restreint de cette transformation pour un nombre limité de procaryotes (Pneumococci, Haemophilus et Bacilli) et occasionnellement pour des eucaryotes pose la question de connaître les facteurs responsables de cet insuccès. Il ne semble pas que le problème de la pénétration du DNA exogène en soit le facteur responsable; cette pénétration, provenant de sources variées a été suffisamment démontrée chez les eucaryotes (Stroun & al. 1967; Anker 1969) et a fait l'objet d'un récent symposium (Ledoux 1971). Un point qui mérite une attention spéciale à propos de différence entre eucaryotes et procaryotes est la présence d'histones. Celles-ci semblent être absentes chez les cellules procaryotiques. Bonner & al. (1968) et Paul (1970) ont montré que les histones règlent la transcription génétique par masquage de gènes qui, ainsi, ne sont pas disponibles pour la transcription.

Les champignons, comme eucaryotes inférieurs, représentent un matériel idéal si, en effet, les histones contrôlent l'efficacité de la transformation. De récents examens pour la présence d'histones chez les champignons ont été négatifs (Dwivedi & al. 1969; Leighton & al. 1971).

Shamoian & al. (1961) ont montré que la souche auxotrophe Pyr 1298 de *Neurospora crassa* est capable de révertir avec une fréquence de 0.1 à 2% lorsque les conidies de cette souche sont traitées avec le DNA du type sauvage. Schockley

& Tatum (1962) ont répété les expériences ci-dessus avec des tests supplémentaires et ont conclu qu'après 43 expériences avec des mutants (2 morphologiques et 7 auxotrophiques) on ne pouvait que supposer, sans évidence définie, l'existence de cette transformation. Bucknall & Morton (1964) ont utilisé des mutants morphologiques de *Penicillium chrysogenum*: A.C.C. 1529 qui sporule faiblement mais produit beaucoup de pénicilline et A.C.C. 1532 qui a une faible production de pénicilline mais une forte sporulation. Ils concluent de ces expériences qu'il n'y a aucune évidence de transformation.

Oppenworth (1960, 1962) présenta ses résultats montrant qu'il est possible de changer les caractéristiques des fermentations et autres par traitement d'une souche de levure avec le DNA d'une autre souche. Les essais de répétitions de ces expériences par Laskowski & Lochmann (1961) n'ont pas réussi. Tuppy & Wildner (1965) ont utilisé les sphéropastes dans leurs essais de transformation d'une souche "petite" (à respiration déficiente) en une souche normale par le DNA mitochondrial. Cependant ces résultats sont difficiles à évaluer en l'absence de contrôles adéquats.

Sen & al. (1969) ont trouvé une réversion de quelques mutants biochimiques d'*Aspergillus niger* lorsqu'ils sont traités avec le DNA du type sauvage. Leurs conditions expérimentales, les témoins et les courbes de réponse à la dose fournie, suggèrent que la réversion est due à la transformation.

Chez l'*Allomyces*, un champignon aquatique, nous avons obtenu (Turian & Ojha 1969a, 1969b) une indication de transformation interspécifique, confirmée par une autre série d'expériences (Ojha & Turian 1971).

Notre objectif est le suivant:

- a) comprendre les étapes de la transformation, par exemple: pénétration de DNA, transport jusqu'au noyau, intégration dans le génôme récepteur et finalement expression du marqueur. A ce point de vue, l'*Allomyces* est un matériel idéal parce que son état réceptif a lieu lorsqu'il se trouve sous forme de protoplaste (zoospore) sans paroi cellulaire, avec un flagelle qui, lors de la germination, est réabsorbé. L'autre avantage est qu'il est uninucléé durant le bref état de repos de la cellule. Le déclenchement du cycle cellulaire dès la germination (réplication du DNA et division du noyau) donnerait alors les états physiologiques nécessaires pour l'intégration du DNA exogène;
- b) utiliser la transformation comme moyen de localiser, tester et finalement isoler le facteur génétique responsable de la position des gamétanges entre nos deux espèces. Nous pensons que l'utilisation de la transformation comme test biologique et le fractionnement du DNA vont nous permettre d'isoler le facteur responsable de la polarité gamétangiale.
 - Transfert du marqueur hypogyne sur une souche épigyne (pl. Ia): représente l'arrangement de quelques couples gamétangiaux chez une souche habituellement épigyne. Le thalle provenant de méiospores est traité avec du DNA d'*A. arbusculus*. Le sporange terminal est caractérisé par la taille, la forme, la couleur et la grandeur de la couronne lipidique caractéristique du gamétange femelle.
 - Transfert du marqueur épigyne sur une souche hypogyne (pl. Ib): montre les colonies dérivées de méiospores traitées avec du DNA d'*A. macrogynus*. Dans ce cas la grandeur et la forme des gamétanges sont maintenues, mais

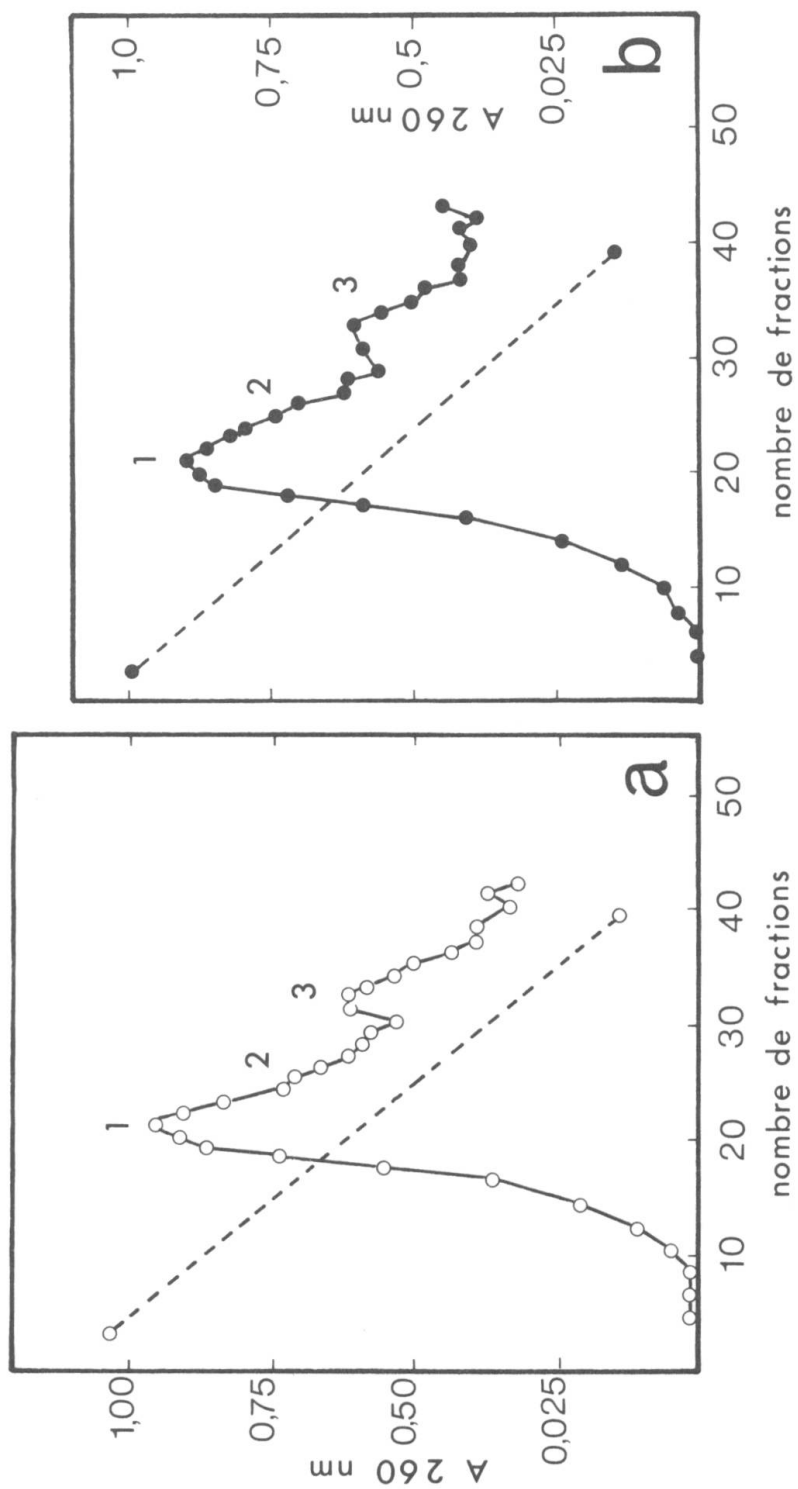


Fig. 1. — Centrifugation en CsCl_2 (tampon Tris 0.01 M pH 7.4) (tampon Tris 0.01 M pH 7.4) de DNA purifié; rotor: 50, 40,000r.p.m. pendant 65 h. La densité des composants se situe environ à: 1.710, 1.700 et 1.683 respectivement.

a) *A. arbusculus* et b) *A. macrogynus*

les gamétanges terminaux sont oranges avec de petites couronnes lipidiques, caractéristiques des gamétanges mâles.

Nos expériences de transformation ont été faites en employant le DNA cellulaire total. Nous poursuivons l'étude de l'hétérogénéité de notre préparation de DNA dans le but d'examiner la possibilité de l'existence extranucléaire de facteurs de polarité (Ojha 1971). Les investigations biochimiques et les propriétés ultrastructurales de la souche hybride mâle et celles obtenues par induction avec l'acridine (mâles) comparées à la souche femelle ont montré que les souches mâles ont une respiration déficiente (Turian & al. 1969), situation analogue à celle des mutants "petites" des levures. Chez ces levures, le facteur de déficience respiratoire est localisé dans le cytoplasme, et est associé avec le suppresseur qui altère le DNA mitochondrial, entraînant la suppression du développement normal des mitochondries.

Les résultats des expériences, obtenues par centrifugation au $CsCl_2$, sont présentés dans la fig. 1a, 1b. La bande principale de DNA a une densité de ~ 1.718 . Il y a encore au moins deux autres pics s'équilibrant aux densités de ~ 1.700 et ~ 1.683 . Un de ces pics mineurs est celui du DNA mitochondrial.

Les résultats ci-dessus indiquent qu'il y a chez *Allomyces* quelque effet stable dans les caractères transportés par les DNA donneurs chez les souches réceptrices. Celles-ci furent maintenues pendant six mois en culture.

Nous n'avons pas étudié la distribution de ces caractères dans la descendance. Nous pensons cependant avoir éliminé l'effet mutagène du DNA comme cela avait été démontré chez la drosophile (Fahmy & Fahmy 1966). L'addition de DNA homologue aussi bien que celle de thymus de veau n'ont en effet donné aucune induction.

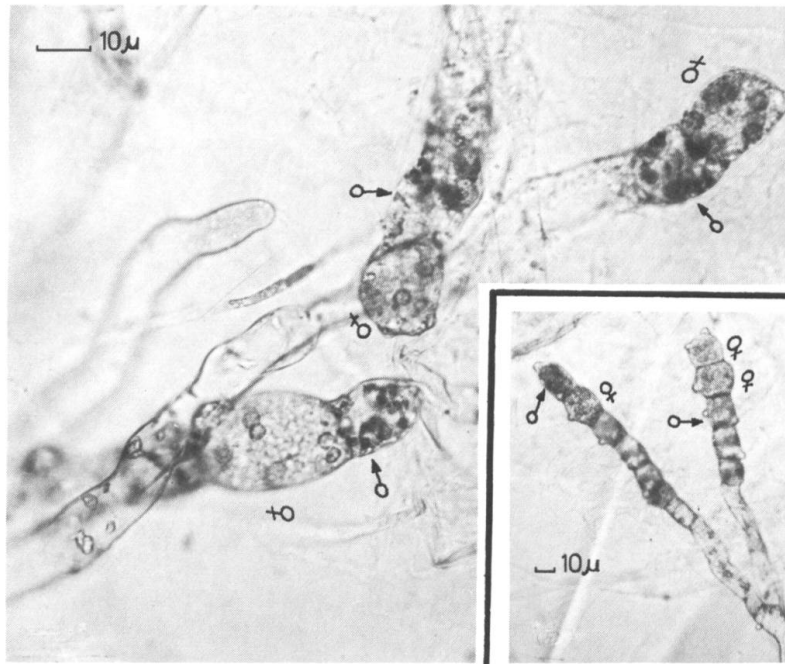
L'auteur désire témoigner sa profonde reconnaissance à M. le Prof. G. Turian pour ses conseils et encouragements donnés tout au long de ce travail; il remercie également le Prof. G. Combépine pour l'aide qu'il a apportée à la préparation du manuscrit.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

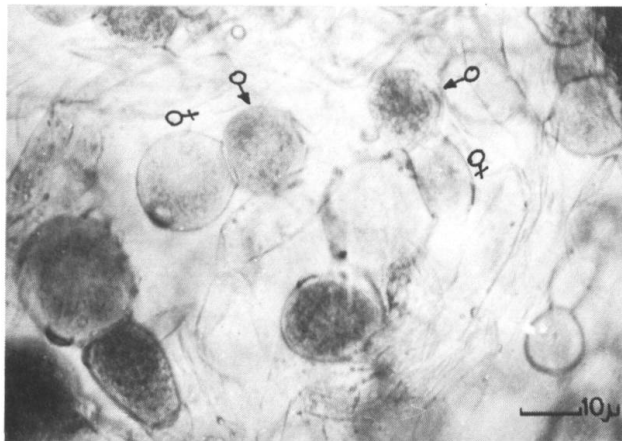
- Anker, P. (1969) *Sort du DNA bactérien introduit chez Solanum lycopersicum esc.*: 118-122. (Thèse) Université de Genève.
- Bonner, J., M. E. Dahmus, D. Fambrough, R. C. Huang, K. Marushige & D. Y. H. Tuan (1968) The biology of isolated chromatin. *Science* 159: 47-56.
- Braun, W. (1965) *Bacterial Genetics Philadelphia*. W. B. Saunders & Co.
- Bucknall, R. A. & A. G. Morton (1964) Attempted genetic transformation in *Penicillium chrysogenum*. *Nature* 201: 57-58.
- Campbell, A. (1964) *Transduction*, in *Bacteria* vol. V: 49-85. Acad. Press, New York.
- Dwivedi, R. S., S. K. Dutta & D. Bloch (1969) Isolation and characterization of chromatin from *Neurospora crassa*. *J. Cell. Biol.* 43: 51-58.

- Emerson, R. & C. M. Wilson (1954) Interspecific hybrid and the cytogenetics and cytotoxicology of *Euallomyces*. *Mycologia* 46: 393-434.
- Erickson, R. J. (1970) *New ideas and data on competence and DNA entry in transformation of Bacillus subtilis*, in *Current topics in Microbiology and Immunology* 53: 149-199.
- Fahmy, O. G. & M. J. Fahmy (1966) The nature and distribution of the mutations induced by unirradiated and irradiated heterologous deoxyribonucleic acid in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 54: 1123-1138.
- Hayes, W. (1964) *The genetics of Bacteria and their viruses*. Oxford.
- Kniep, H. (1929) *Allomyces javanicus* n. sp., ein anisogamer Phycomycet mit Planogameten. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 47: 199-212.
- Laskowski, W. & E.-R. Lochmann (1961) Über Irrtumsmöglichkeiten bei Versuchen mit transformierenden Extrakten bei Hefen. *Naturwiss.* 48: 225.
- Ledoux, L. G. H. (ed.) (1971) *Informational molecules in biological systems*. North Holland Co.
- Leighton, T. J., B. C. Dill, J. J. Stock & C. Philips (1971) Absence of histones from chromosomal proteins of fungi. *Proc. Natl. Acad. U. S. A.* 68: 677-680.
- Merrill, C. R., M. R. Geier & J. C. Petricciani (1971) Bacterial virus gene expression in human cells. *Nature* 233: 398-400.
- Munyon, W., E. Kraiselbrud, D. Davis & J. Mann (1971) Transfer of Thymidine Kinase to Thymidine Kinaseless L. cells by infection with ultraviolet-irradiated herpes simplex virus. *J. Virol.* 7: 813-820.
- Ojha, M. (1971) *DNA and differentiation in Blastocladiales*. In the symposium on "Genetic control of morphogenesis in Fungi". First International Congress of Mycology: 71.
- & G. Turian (1971) Interspecific transformation and DNA characteristics in *Allomyces*. *Mol. Gen. Genetics* 112: 49-59.
- Oppenworth, W. F. F. (1960) Modification of the hereditary characters of yeast by ingestion of cell free extract. *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. Serol.* 26: 129.
- (1962) Transformation in yeast: Evidence of a real genetic change by the action of DNA. *Nature* 193: 706.
- Paul, J. (1970) *DNA masking in mammalian chromatin: a molecular mechanism of determination of cell type*. In *Current topics in developmental biology*. Acad. Press, New York.
- Qasba, P. K. & H. V. Aposhian (1971) DNA and gene therapy: transfer of mouse DNA to human and mouse embryonic cells by Polyoma pseudovirion. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 68: 2345-2349.
- Ravin, A. W. (1961) The genetic transformation. *Advances Genet.* 10: 61-163.
- Schaeffer, P. (1964) *Transformation*, in *Bacteria* vol. V: 87-153. Acad. Press, New York.
- Sen, K., P. Nandi & A. K. Misra (1969) Transformation of a nutritionally deficient mutant of *Aspergillus niger*. *J. Gen. Microbiol.* 55: 195-200.
- Shamoiian, C. A., A. Canzanelli & J. Melrose (1961) Back mutation of *Neurospora crassa* mutant by a nucleic acid complex from a wild type strain. *Biochim. Biophys. Acta* 47: 208-211.
- Schockley, T. E. & E. L. Tatum (1962) A search for genetic transformation in *Neurospora crassa*. *Biochim. Biophys. Acta* 61: 567-572.
- Spizizen, J., B. E. Reilly & E. H. Evans (1966) Microbial transformation and transfection. *Annual Rev. Microbiol.* 20: 371-400.
- Stroun, M., P. Anker & L. Ledoux (1967) *DNA replication in Solanum lycopersicum* esc. after absorption of bacterial DNA. *Currents in Mod. Biol.* 1: 231-234.
- Tomasz, A. (1971) *Cell physiological aspects of DNA uptake during genetic transformation in bacteria*, in *Informational molecules in biological system*: 4-18. North Holland Co.

- Tuppy, H. & G. Wildner (1965) Cytoplasmic transformation: Mitochondria of wild-type Baker's yeast restoring respiratory capacity in the respiratory deficient "petite" mutant. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 20: 733-738.
- Turian, G. & M. Ojha (1969a) Indications of an interspecific transformation in *Allomyces*. *Experientia (Basel)* 25: 79-81.
- & M. Ojha (1969b) Figures d'hybridation interspécifique chez l'*Allomyces macrogynus*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 268: 431-433.
 - M. Ojha, R. Scheps & N. Oulevey (1969) Oxidative deficiencies and some ultrastructural features of acridine-induced male strains of *A. arbusculus*. *Arch. Mikrobiol.* 69: 92-100.



a



b

a, rameaux gamétophytiques d'une colonie d'*A. macrogynus* (accepteur épigyne 100%) traités avec le DNA d'*A. arbusculus* (donneur hypogyne) pendant 24 h. et repiqués ensuite sur milieu GCY.

A droite couple gamétangial normal épigyne de l'accepteur; gamétange femelle clair, à larges couronnes de granules lipidiques périnucléaires. A gauche couple terminal avec l'arrangement gamétangial du donneur, c'est-à-dire avec un petit gamétange mâle hypogyne, repérable à sa teinte foncée due aux nombreuses et étroites couronnes lipidiques caroténifères. L'insertion montre un rameau représentant un cas semblable à celui figuré dans la publication de Kniep (1929) pour l'hybride naturel (*A. javanicus*).

b, rameaux gamétophytiques d'une colonie d'*A. arbusculus* (accepteur hypogyne 100%) traités avec le DNA d'*A. macrogynus* (donneur épigyne) comme mentionné ci-dessus.

Remarquer le maintien de la forme habituelle du gamétange terminal malgré l'augmentation de la présence de carotènes. Les couronnes lipidiques sont relativement petites et nombreuses.