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: II: Examen de souches syngénotes lysogènes défectives
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: 13.07.2025

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

obtient directement le nombre de phages transducteurs étalés sur les boîtes. Malheureusement, il s'est révélé que la concentration en bactéries est très difficile à choisir. Quand on dépasse une certaine quantité de bactéries, celles-ci ne sont pas multiplement infectées après la première lyse; quand on n'en met pas assez, les bactéries sensibles ont le temps de former des microcolonies avant d'être atteintes par les phages libérés à une certaine distance: il n'y a pas alors infection multiple. Pour cette raison, cette méthode n'est pas indiquée pour l'usage courant, bien qu'elle ait donné occasionnellement le même titre que d'autres méthodes.

Une autre façon de déterminer la somme des titres en phages actifs et en phages transducteurs d'un lysat HFT se base sur la capacité des phages génétiquement défectifs de recombiner avec des phages apparentés 82 ou 434. Le lysat HFT est par exemple adsorbé sur des bactéries lysogènes normales K12 (434) induites par les UV. Après adsorption, mais avant la lyse, on étale en présence de bactéries K12 (434) non induites sur des boîtes gélosées. Les bactéries K12 (434) ayant été infectées par un phage λ actif forment une plage. Une plage se forme également à l'endroit où l'on a déposé une bactérie K12 (434) infectée par un phage λ défectif, à condition qu'au moins un λ recombinant actif puisse se produire. Cette condition n'est cependant pas toujours remplie.

Le comptage du lysat HFT au microscope électronique permet de déterminer le titre en phages morphologiquement intacts.

Chapitre II

EXAMEN DE SOUCHES SYNGÉNOTES LYSOGÈNES DÉFECTIVES

I. Manifestations du prophage dans les bactéries syngénotes lysogènes défectives.

Dans les bactéries lysogènes normales le prophage se manifeste: *a)* par l'immunité de la bactérie envers un phage homologue infectant et *b)* par la libération de phages infectieux normaux lors de la lyse après induction soit spontanée soit provoquée par des agents inducteurs.

Par définition, les bactéries syngénotes lysogènes défectives sont également immunes, mais elles ne libèrent pas de phages. D'autres manifestations moins directes telles que l'apparition de recombinants actifs après surinfection des bactéries lysogènes défectives induites par des phages normaux génétiquement marqués permettent cependant de prouver l'existence d'un prophage.

1. *Immunité.*

Comme déjà dit, le prophage défectif est toujours capable de conférer à la bactérie syngénote lysogène défective l'immu-

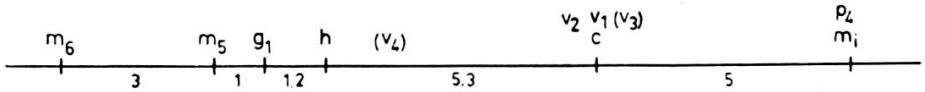

Fig. 1.

Schéma du groupe de liaisons des caractères utilisés du bactériophage λ.

Distances en pour-cent de recombinants dans des croisements de deux facteurs entre deux phages non irradiés, selon Jacob et Wollman (1954), Kaiser (1955) et Appleyard, McGregor et Baird (1956).

nité envers le phage λ et ses mutants à l'exception du mutant virulent λ2. Il n'y a donc pas de différence en ce qui concerne l'immunité entre les bactéries syngénotes lysogènes défectives et les bactéries lysogènes normales.

2. *Restauration par les bactéries syngénotes lysogènes défectives des phages virulents λ2 inactivés par le rayonnement UV.*

Les phages virulents λ2 irradiés par le rayonnement UV donnent une proportion de phages survivants plus grande quand ils sont étalés avec des bactéries portant un prophage λ qu'avec des bactéries sensibles (Jacob, 1954; Jacob et Wollman, 1956*a*; Arber et Kellenberger, 1958). La figure 2 montre que cette réactivation du λ2 irradié est également produite par les souches syngénotes lysogènes défectives, mais qu'elle est plus petite qu'avec les bactéries lysogènes normales. Il n'y a pas de différence entre le pouvoir réactivant des souches syngénotes lysogènes normales et celui des souches lysogènes normales non syngénotes.

3. *Recombinaison génétique entre le prophage défectif* λdg *et le phage λ2 irradié aux UV et surinfectant.*

Dans les lysats de souches syngénotes lysogènes défectives Gal^-/ex Gal^+-λ infectées avec λ2 irradié on trouve des recombinants actifs non virulents. Ainsi pour une irradiation de

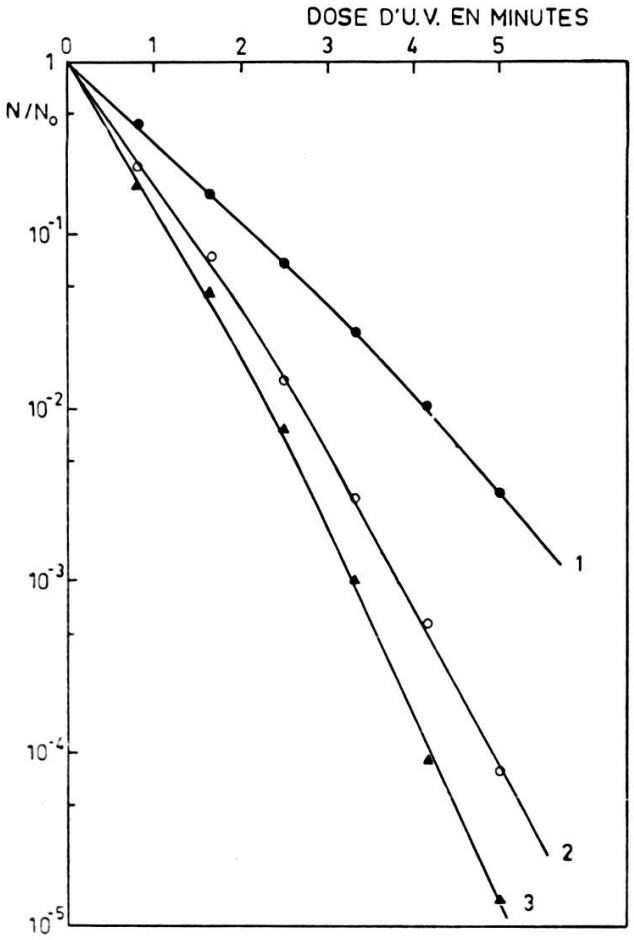

Fig. 2.

Capacité des phages virulents λ2 irradiés au rayonnement UV de former des plages.

Un stock de λ2 de 1,4 · 10^8 phages/ml est irradié à une distance de 55 cm de la lampe UV. Pour différentes doses d'UV un échantillon est dilué, les phages adsorbés sur des bactéries indicatrices carencées et ensuite étalés sur gélose. En abscisse: dose de rayonnement UV en minutes. En ordonnée: fraction des phages capables de former une plage sur la souche indicatrice (1; ●) syngénote lysogène normale, (2; ○) syngénote lysogène défective et (3; ▲) sensible.

300 secondes (correspondant à une survie de λ2 — étalé sur une souche sensible — de 1,3 . 10^{-5}), on trouve 16% de recombinants actifs $\lambda 2^+$.

II. Induction a la lyse et produits de lyse.

1. *Inductibilité.*

Les bactéries lysogènes normales et les bactéries syngénotes lysogènes défectives, irradiées avec la même dose optimale de rayonnement UV, se lysent après le même temps de latence,

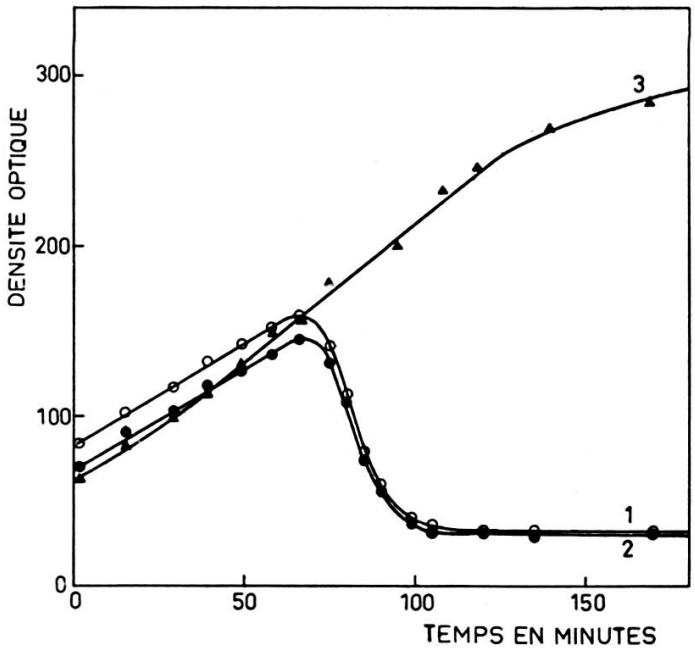

Fig. 3.

Inductibilité par le rayonnement UV d'une souche hétérogénote lysogène défective (1; ○), d'une souche hétérogénote lysogène normale (2; ●) et d'une souche sensible (3; ▲) ségrégeante de la souche lysogène défective.

Des cultures de $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml sont centrifugées, resuspendues en tampon à la même concentration, irradiées avec une dose de 60 secondes de rayonnement UV et diluées quatre fois en tryptone. La densité optique de ces cultures aérées à 37° est mesurée en fonction du temps après l'induction à l'aide d'un photomètre Meunier.

tandis qu'une culture sensible ne se lyse pas après le même traitement (figure 3).

Des essais avec le dichlorène ont montré que les souches lysogènes normales et les souches syngénotes lysogènes défectives sont également inductibles, au même degré, par des agents inducteurs chimiques.

2. *Analyse des produits de lyse.*

Dans les lysats obtenus par induction de souches syngénotes lysogènes défectives on ne trouve jamais de particule infectieuse ni de particule capable de transduire. L'analyse de ces lysats au microscope électronique ne montre pas de structures liées à la production de phages, c'est-à-dire de phages morphologiquement intacts, de membranes de têtes vides ou de queues, ce qui permet d'exclure qu'il y ait plus de 10^{-2} de ces structures par bactérie induite et lysée. Ces résultats ont été obtenus par l'analyse de plusieurs souches isolées à partir de lysats LFT indépendants, ainsi que par l'examen, au microscope électronique, de plus de 100 lyses individuelles.

Des lysats de bactéries syngénotes lysogènes défectives (induites à $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml) ont été examinés quant à leur contenu en matériel neutralisant le sérum anti-λ (SBP). Dans aucun cas il n'a été possible de trouver du SBP en quantité mesurable, tandis que les lysats de souches lysogènes normales préparés dans les mêmes conditions ont montré une grande quantité de SBP.

3. *Recombinaison du phage défectif induit avec un phage surinfectant.*

Dans les lysats obtenus par induction de souches syngénotes lysogènes défectives suivie de surinfection par des phages normaux $\lambda m_6\, c$, on trouve qu'environ 10% des phages actifs sont du type $m_6\, c^+$, 3% $m_6^+\, c$ et 1% $m_6^+\, c^+$. Le phage surinfectant $\lambda m_6\, c$ a donc recombiné avec le phage défectif $\lambda m_6^+\, c^+$; on peut en conclure que les marqueurs m_6 et c ont été perpétués avec le génome du prophage défectif de la bactérie syngénote lysogène défective.

4. *Courbe d'induction.*

La surinfection, par des phages génétiquement marqués, de bactéries syngénotes lysogènes défectives induites est un moyen d'obtenir une courbe d'induction en considérant, en fonction

de la dose UV appliquée sur les bactéries lysogènes défectives: *a)* soit la présence de recombinants actifs dans les centres infectieux, *b)* soit la disparition de l'immunité envers les phages surinfectants, c'est-à-dire la capacité de la bactérie surinfectée de donner lieu à la formation d'un centre infectieux.

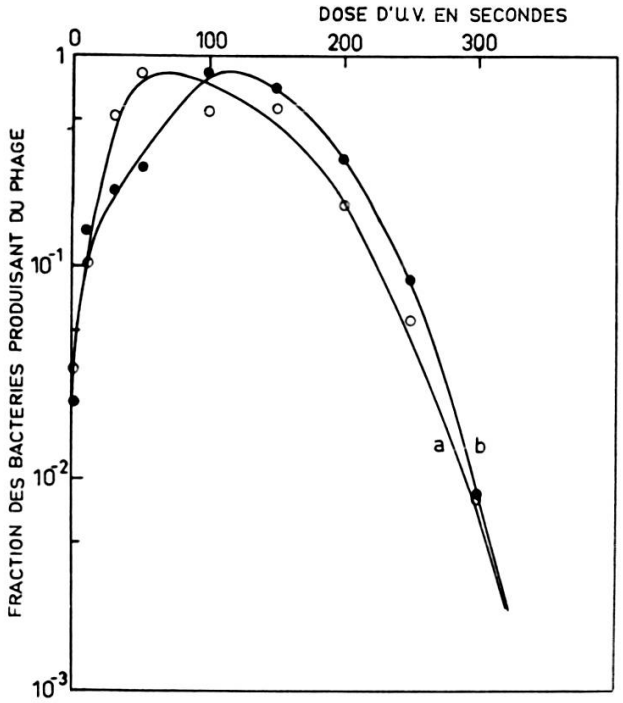

Fig. 4.

Courbes d'induction par le rayonnement UV d'une souche hétérogénote lysogène normale 112 Gal_b^- (λ)/ex Gal^+-λ avec et sans carence préalable en 0,01 M $MgSO_4$.

Une culture de $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml est divisée en deux parties *a)* et *b)*. (*a*; ○) est centrifugée, reprise en tampon à $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml et irradiée avec des doses variables de rayonnement UV. Un échantillon est prélevé après chaque irradiation et dilué cinquante fois en tryptone à 37°. 40 minutes plus tard, le nombre des centres infectieux est déterminé par étalement sur gélose avec des bactéries indicatrices. (*b*; ●) est centrifugée, reprise en 0,01 M $MgSO_4$ à $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml, carencée pendant 1 heure à 37° et irradiée avec des doses variables d'UV. La suite du traitement de *b)* après l'irradiation est la même que pour *a)*. En abscisse: dose d'UV en secondes. En ordonnée: fraction des bactéries productrices de phages.

Pour obtenir une bonne adsorption des phages surinfectants, les bactéries ont été carencées en 0,01 M $MgSO_4$ (Kaiser, 1957) avant l'induction. L'influence de cette carence sur la courbe d'induction a été étudiée avec des bactéries lysogènes normales (figures 4 et 5). Tandis que la dose optimale de rayonnement UV pour les bactéries non carencées est de 50 à 60 secondes, une dose de 110 à 130 secondes est nécessaire pour obtenir une induction optimale dans le cas des bactéries carencées.

La durée de la période latente n'est pas sensiblement prolongée chez les bactéries carencées et induites avec la dose optimale. Par contre le rendement en phages est plus faible (environ 50 phages par bactérie lysée) que chez les bactéries non carencées. On ne sait pas si cela est dû à la carence même ou à la dose plus forte de rayonnement UV.

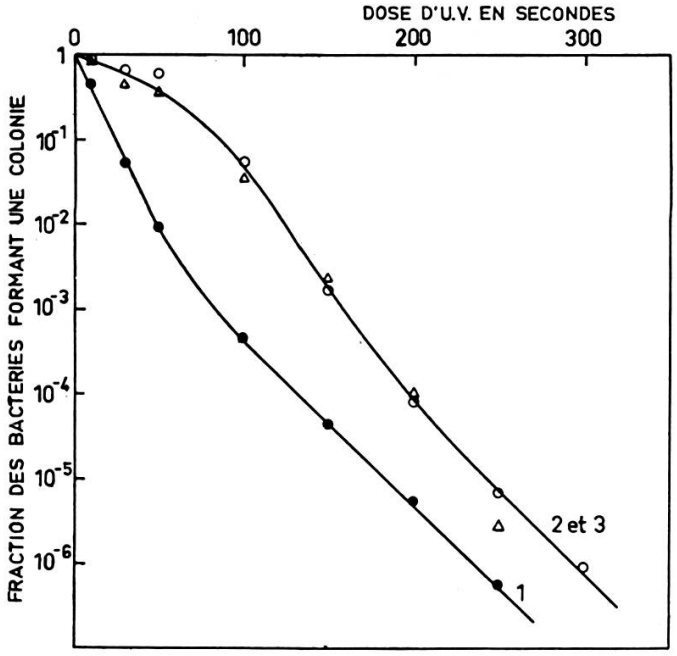

Fig. 5.

Sensibilité des souches au rayonnement UV.

(1; ●) 112 Gal_b^- (λ)/ex Gal^+-λ hétérogénote lysogène normale en tampon sans carence; (2; △) 112 Gal_b^- (λ)/ex Gal^+-λ hétérogénote lysogène normale après carence en 0,01 M $MgSO_4$ et (3; ○) 112 Gal_b^-/ex Gal^+-λ hétérogénote lysogène défective après carence en 0,01 M $MgSO_4$.

(1) a subi le traitement décrit sous *a)* dans le texte de la figure 4. (2) et (3) ont subi le traitement décrit sous *b)* dans le texte de la figure 4. Le nombre des bactéries survivantes est déterminé par étalement sur gélose. En abscisse: dose de rayonnement UV en secondes. En ordonnée: fraction des bactéries survivantes.

En outre, on a pu montrer qu'on obtient des courbes d'induction identiques lorsque la carence est faite avant l'induction (comme décrit dans le texte de la figure 4) ou lorsqu'elle la suit immédiatement. Des essais ont été faits pour voir si l'on peut interrompre par une carence durant la période latente le développement des phages dans les bactéries lysogènes induites. Un tel traitement est possible sans perte de centres infectieux et sans diminution considérable du rendement en phages pendant les quarante premières minutes qui suivent l'induction. Les bactéries ainsi traitées peuvent être conservées pendant plusieurs heures à 4° et le développement des phages reprend dès qu'elles sont diluées en tryptone.

Des bactéries hétérogénotes lysogènes défectives carencées Gal⁻/ex Gal⁺-λ portant le prophage $\lambda dg\ m_6^+\ c^+$ ont été irradiées avec des doses croissantes de rayonnement UV et surinfectées

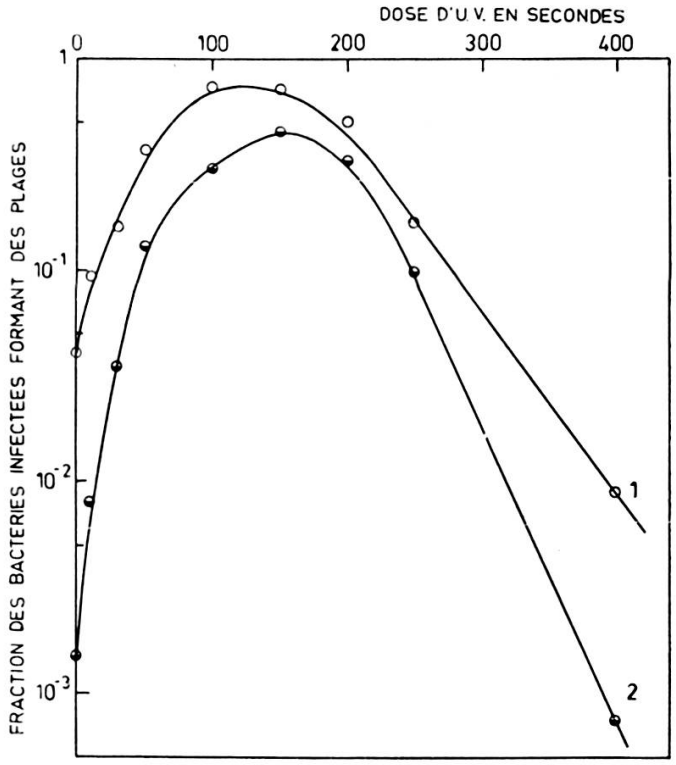

Fig. 6.

Courbe d'induction par le rayonnement UV d'une souche hétérogénote lysogène défective 112 Gal_b^-/ex Gal^+-λ_{++} par la méthode de surinfection.

Une culture de $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml est centrifugée et resuspendue en milieu d'adsorption. Après une heure de carence à 37°, les bactéries à une concentration de $5 \cdot 10^8$ sont irradiées avec des doses variables de rayonnement UV. Après chaque irradiation, 0,5 ml sont prélevés et mis en contact à 37° avec 0,05 ml d'un stock de phages $\lambda m_6\ c$ d'une concentration de $2{,}5 \cdot 10^8$ phages/ml. Après 10 minutes, 0,05 ml de sérum anti-λ ($k = 15$) sont ajoutés pour neutraliser les phages non adsorbés. 5 minutes plus tard, des dilutions sont étalées sur gélose avec C600. Après incubation, le total des centres infectieux (○) ainsi que le nombre des centres infectieux tachetés (◒) sont déterminés. En abscisse: dose d'UV en secondes. En ordonnée: fraction des bactéries infectées produisant un centre infectieux.

avec des phages actifs $\lambda m_6\ c$. Le nombre de centres infectieux a été déterminé en fonction de la dose UV (figure 6, courbe 1). La dose optimale est la même que celle que l'on a trouvée pour les bactéries lysogènes normales dans les mêmes conditions de carence. La sensibilité aux UV des souches syngénotes lysogènes défectives est également la même que celle des souches syngé-

notes lysogènes normales (figure 5). Le nombre relativement grand (4%) de bactéries non immunes à $\lambda m_6\, c$ pour la dose 0 s'explique par le fait que la culture Gal^-/ex Gal^+-λ utilisée contenait 4% de bactéries ségrégeantes sensibles. La moitié environ des plages contenait des secteurs troubles (figure 6, courbe 2); ces centres infectieux contenaient donc un ou plusieurs phages recombinants actifs c^+.

5. *Photorestauration de l'induction.*

L'expérience représentée par la figure 7 montre que les bactéries syngénotes lysogènes défectives sont photorestaurables après l'induction UV, comme le sont les lysogènes normales (Jacob, 1954; Jacob et Wollman, 1955). Dans les conditions

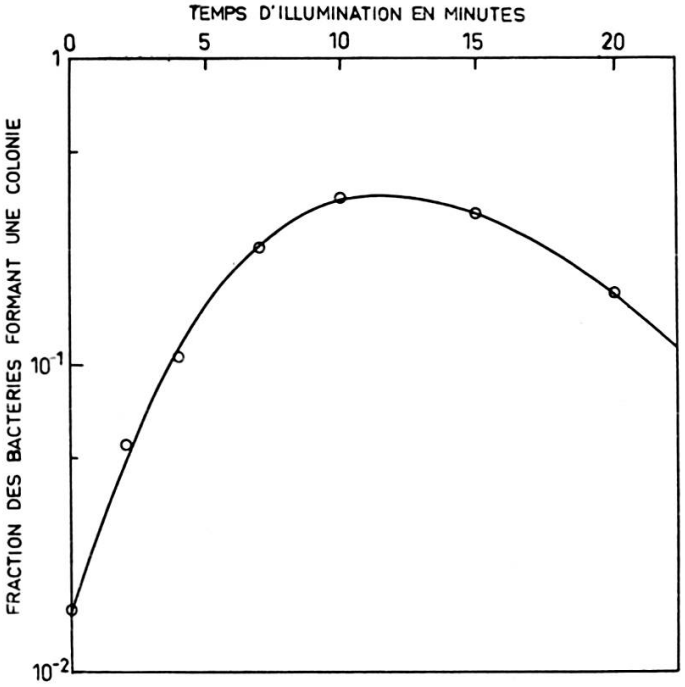

Fig. 7.

Photorestaurabilité d'une souche hétérogénote lysogène défective après induction par le rayonnement UV.

Une culture de $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml est diluée cent fois en tampon, induite avec une dose de 40 secondes de rayonnement UV, diluée dix fois en tryptone et maintenue à 37° à l'obscurité. Après 8 minutes, le tube de croissance est exposé à la lumière visible dans un bain à 37°. A des temps d'illumination variables, un échantillon est prélevé et remis à l'obscurité à 37°. 50 minutes après l'induction, des dilutions de chaque échantillon sont étalées sur gélose. En abscisse: temps d'illumination par la lumière visible en minutes. En ordonnée: fraction des bactéries formant des colonies.

choisies, le titre des bactéries irradiées formant des colonies est plus de vingt fois plus élevé après illumination avec la dose optimale de lumière visible que sans photorestauration. La photorestauration ne peut se faire qu'au premier tiers de la période latente. Après ce temps, la fraction de bactéries photorestaurables diminue fortement. On trouve les mêmes facteurs de photorestaurabilité après des doses d'induction UV relativement faibles (40 secondes) et relativement fortes (200 secondes).

La proportion des bactéries survivantes après induction aux UV et photoréactivation avec la dose optimale de lumière correspond à la proportion de survie des bactéries sensibles — qui elles ne sont pas photorestaurables dans ces conditions — irradiées par la même dose d'UV.

III. Comportement du prophage lors de la multiplication des bactéries syngénotes.

Il est très rare qu'une bactérie lysogène normale pour le phage du type de référence λ devienne sensible. Parmi 10^4 colonies testées par la méthode de réplique d'une souche K12 (λ)/λ toutes étaient lysogènes normales. La fraction des bactéries sensibles ayant perdu leur prophage a donc été moins de 10^{-4}. Les bactéries étant résistantes à λ par adsorption, on peut exclure que les ségrégeantes sensibles éventuelles soient lysogénisées à nouveau par les phages provenant de lyses spontanées. Les sept souches lysogènes défectives du type K12 (λ déf.) qui n'ont pas le défaut *dg*, décrites par Arber et Kellenberger (1958), sont également stables. Cependant, certains mutants de λ, par exemple λp_4, produisent des lysogènes instables qui, au cours de leur multiplication, ségrègent des bactéries sensibles.

Les cultures de bactéries syngénotes lysogènes défectives contiennent toujours des ségrégeantes sensibles, même lorsque le prophage défectif provient du type de référence λ. La perte de l'immunité est souvent accompagnée de la perte par la bactérie de la capacité de fermenter le galactose. Le tableau I donne les résultats de l'étude de la ségrégation dans les souches hétérogénotes lysogènes défectives 112 Gal_b^-/ex Gal^+-λ. Sur 12.325 colonies testées, on en a trouvé 242 de sensibles dont

TABLEAU I.

Produits de ségrégation de souches hétérogénotes lysogènes défectives.

Souche n°	Nombre de Gal^+ lysogènes défectives	Nombre de Gal^+ sensibles	Nombre de Gal^- lysogènes défectives	Nombre de Gal^- sensibles
4	823	9	2	19
11	648	7	0	7
12	496	5	0	6
13	687	3	0	1
14	540	9	0	2
15	478	1	0	15
16	208	2	0	3
17	380	1	0	8
18	625	6	0	10
19	618	9	0	3
20	717	3	0	6
21	558	3	1	8
22	426	3	0	4
23	521	4	0	5
24	425	1	0	5
25	426	0	0	3
26	576	6	0	10
27	798	10	0	1
28	514	2	0	8
29	996	6	0	13
30	620	9	0	6
Total	12.080	99	3	143

De chacune des 21 souches hétérogénotes lysogènes défectives 112 Gal_b^-/ex Gal^+-λ différentes, une colonie Gal^+ est repiquée en 10 ml de tryptone et aérée à 37° jusqu'à une concentration de $5 \cdot 10^8$ bactéries/ml. Des dilutions de ces cultures sont étalées sur des boîtes EMB-galactose. Après 20 heures d'incubation, on analyse les colonies par la méthode des répliques.

143 étaient Gal^- et portaient donc au locus considéré le caractère endogénote, tandis que 99 des colonies sensibles étaient Gal^+, porteuses du caractère exogénote.

La proportion des bactéries parmi les ségrégeantes sensibles qui montre le caractère Gal exogénote dépend du caractère Gal que l'on considère. Dans une culture de la souche Gal_1^- Gal_2^-/

ex Gal^+-λ on a trouvé parmi 3840 colonies testées 3716 syngénotes lysogènes défectives, dont 5 Gal^- (homogénotes), et 124 ségrégeantes sensibles, dont 19 Gal^+ et 105 Gal^-. 48 des ségrégeantes sensibles Gal^- ont été analysées quant aux caractères Gal_1 et Gal_2: 43 étaient Gal_1^- Gal_2^- et 5 Gal_1^+ Gal_2^-.

Les ségrégeantes sensibles Gal^+ sont stables; elles ne ségrègent jamais de bactéries Gal^-. Cette stabilité indique que la bactérie n'est plus diploïde pour le Gal après la ségrégation de l'immunité. Le génome de la bactérie ségrégeante porte des caractères endogénotes et exogénotes, ce qui peut être expliqué comme le résultat d'une recombinaison génétique entre ces caractères homologues.

Plusieurs ségrégeantes sensibles Gal^+ et Gal^- ont été examinées pour voir si une partie du prophage subsiste dans la bactérie, c'est-à-dire si la perte de l'immunité est toujours accompagnée par la perte des autres marqueurs du prophage ou pas. Aucune des souches n'a été inductible à la lyse par le rayonnement UV. Après infection des ségrégeantes sensibles — induites ou non induites — avec des phages génétiquement marqués, il n'a jamais été possible de retrouver par recombinaison des marqueurs (c^+, mi^+) provenant des prophages qui se trouvaient, avant la ségrégation, dans les bactéries lysogènes défectives. Les lysats ainsi obtenus n'étaient jamais HFT. Si l'immunité est perdue, les autres propriétés détectables du prophage défectif ne se manifestent donc plus.

Parmi les ségrégeantes Gal^- se trouvent exceptionnellement des bactéries lysogènes défectives (1 à 10% des ségrégeantes Gal^-, suivant les caractères Gal^- considérés). Elles ségrègent des sensibles avec la même fréquence que le font les hétérogénotes lysogènes défectives. Leurs lysats, obtenus après induction aux UV et surinfection avec des phages normaux (Arber, Kellenberger et Weigle, 1957), sont capables de transduire à haute fréquence. Il s'agit donc d'homogénotes Gal^-/ex Gal^--λ.

Les lysats — obtenus par induction et surinfection avec du λ normal — de trois souches ségrégeantes Gal^- lysogènes défectives qui provenaient d'une souche lysogène défective Gal_1^- Gal_2^-/ex Gal_1^+ Gal_2^+-λ ont été analysés quant à leur capacité de transduire (tableau II). Aucun des lysats n'était

capable de transduire les souches sensibles Gal_1^- Gal_2^- et Gal_2^-. Deux des trois lysats (c50 et c53) ont transduit à haute fréquence les souches Gal_1^- et Gal_4^-. Les deux souches lysogènes défectives sont donc homogénotes pour Gal_2^-. Le lysat obtenu de la souche c44 n'a pas transduit la souche sensible Gal_1^-, mais il a transduit la souche Gal_4^-. La souche c44 doit être

TABLEAU II.

Analyse des caractères Gal de trois souches ségrégeantes Gal⁻ restées syngénotes lysogènes défectives.

Lysat de la souche	Souche réceptrice sensible			
	Gal_1^- Gal_2^-	Gal_1^-	Gal_2^-	Gal_4^-
c44	—	—	—	+
c50	—	++	—	++
c53	—	++	—	++

Des bactéries ségrégeantes Gal^- provenant d'une souche syngénote lysogène défective Gal_1^- Gal_2^-/ex Gal_1^+ Gal_2^+-λ, et qui sont restées syngénotes lysogènes défectives après la ségrégation, sont induites aux UV et surinfectées avec des phages normaux. Les lysats sont examinés quant à leur capacité de transduire les différentes souches Gal^- par le dépôt de gouttes sur des boîtes TTC-galactose ensemencées avec les bactéries réceptrices.

— = pas de transduction.
++ = transduction HFT.
\+ = transduction HFT, mais moins fréquente que ++.

homogénote Gal_1^- Gal_2^-/ex Gal_1^- Gal_2^--λ. La transduction du lysat c44 sur Gal_4^- était moins efficace que celle des lysats c50 et c53. Cela s'explique par l'effet de position cis-trans de Gal_1 Gal_4 (Morse, Lederberg et Lederberg, 1956*b*).

La ségrégation du prophage défectif a lieu également chez les souches syngénotes lysogènes normales, qui se comportent comme des souches doublement lysogènes pour un prophage normal actif et un prophage défectif (Arber, Kellenberger et Weigle, 1957). Le prophage actif n'est jamais perdu lors de ces ségrégations, si bien que les ségrégeantes sont toujours des lysogènes normales ne donnant plus de lysats HFT et stables

pour les caractères Gal, lesquels peuvent être Gal^- ou Gal^+ comme chez les ségrégeantes de souches syngénotes lysogènes défectives. Morse, Lederberg et Lederberg (1956*a*, *b*) n'ont étendu leur étude des ségrégations de souches hétérogénotes lysogènes normales que sur les ségrégeantes Gal^-. Ils ont déterminé la fréquence de ségrégation de Gal^- de cultures Gal^- (λ)/ex Gal^+-λ, et ont obtenu une probabilité de ségrégation par division bactérienne de $2{,}6 \cdot 10^{-3}$. Utilisant la même méthode que ces auteurs, nous avons déterminé la probabilité de ségrégation de sensibles dans une culture homogénote lysogène défective 112 Gal_b^-/ex Gal_b^--λ et trouvé une valeur de $5{,}5 \cdot 10^{-3}$ (tableau III). Cette valeur est en accord avec le résultat de Morse et al., étant donné que ces auteurs n'ont cherché que les ségrégeantes Gal^-.

Discussion.

Comparons les propriétés des trois souches lysogènes suivantes: lysogènes normales K12 (λ), lysogènes défectives K12 (λ déf.) et syngénotes lysogènes défectives Gal^-/ex Gal^+-λ. Les trois sortes de souches sont immunes envers λ mais non envers le mutant virulent λ2.

Dans les lysats de K12 (λ) on trouve 100 à 200 phages actifs par bactérie lysée capables de former des plages. Arber et Kellenberger (1958) ont en outre trouvé des structures liées à la production de phages: environ 100 membranes de têtes vides et 100 queues par bactérie lysée; on trouve également du matériel qui neutralise le sérum anti-λ et qui en partie n'est pas lié aux phages ou aux queues.

Les souches K12 (λ déf.) sont défectives soit dans la synthèse de certains constituants du phage, soit dans l'assemblage final du phage intact. La défectuosité est spécifique pour chaque souche lysogène défective étudiée. Les caractères défectifs peuvent être localisés sur la carte génétique de λ. Des réversions vers la synthèse de phages actifs semblent se produire.

Les souches syngénotes lysogènes défectives Gal^-/ex Gal^+-λ ne sont capables de produire ni des phages normaux, ni des constituants morphologiquement reconnaissables tels que têtes vides ou queues, ni du matériel neutralisant le sérum anti-λ.

TABLEAU III.

Fréquence de ségrégation de bactéries sensibles à partir d'une souche syngénote lysogène défective.

Une culture de $3 \cdot 10^8$ bactéries homogénotes lysogènes défectives 112 Gal_b^-/ex Gal_b^--λ par ml est diluée à 14 bactéries par ml. Des pipettes de 0,1 ml sont remplies avec cette suspension et déposées horizontalement à 37°. Après 190 minutes de culture, le contenu de chaque pipette et les 0,1 ml de tryptone provenant du lavage sont étalés sur gélose. Après 16 heures d'incubation à 37°, des répliques sur λ*c* permettent de distinguer les colonies sensibles parmi les colonies lysogènes défectives.

Nombre de colonies lysogènes défectives	Nombre de colonies sensibles
20	0
182	16
9	0
97	0
46	0
59	0
168	1
101	0
88	40
95	13
Total 865	70

Nombre de pipettes: 12.

Nombre de pipettes sans bactérie: 2.

Nombre de pipettes avec des bactéries uniquement lysogènes défectives: 6.

Nombre de pipettes avec des bactéries lysogènes défectives et des bactéries sensibles: 4.

Proportion de pipettes ne contenant pas de sensibles: $p_0 = 0{,}6$.

« Clone-size » moyen: $N = 93{,}5$.

La probabilité de ségrégation *a)* par division bactérienne est calculée d'après la formule utilisée par Morse, Lederberg et Lederberg (1956*a*):

$$a = \frac{2{,}3}{N} \log \frac{1}{p_0} = 5{,}5 \cdot 10^{-3}$$

Malgré ce défaut, la bactérie est inductible, et la lyse a lieu au même moment que celle des bactéries lysogènes normales.

Apparemment l'endolysine (Jacob, Fuerst et Wollman, 1957) provoquant la lyse est synthétisée. Cette synthèse peut être interrompue (comme celle des matériaux phagiques par des bactéries lysogènes normales) par la carence au cours de la période latente; elle repart dès qu'on replace les bactéries en milieu nutritif.

La restauration du mutant virulent λ2 inactivé par le rayonnement UV est possible aussi bien avec les souches Gal^-/ex Gal^+-λ et K12 (λ déf.) qu'avec K12 (λ). Dans les deux premiers cas, le pouvoir réactivant est moins grand que celui des bactéries lysogènes normales.

Le génome λ*dg* semble être incapable de se multiplier végétativement après induction (Arber, Kellenberger et Weigle, 1957). Cependant, aussi longtemps qu'il est lié à la bactérie dans l'état de la lysogénie, il se propage au rythme de la multiplication bactérienne. Ce n'est que dans une division sur 200 qu'il se perd et qu'il en résulte une bactérie sensible.

Il peut sembler que le nombre de ségrégeantes sensibles est augmenté par irradiation au rayonnement UV et ceci surtout quand on évite la photorestauration. Mais on a pu montrer que cette augmentation du rapport entre le nombre de bactéries sensibles et de bactéries lysogènes défectives parmi les bactéries survivantes à l'irradiation n'est due qu'à la sensibilité différente des bactéries. Le rapport initial est retrouvé dans les cultures induites qui ont été photorestaurées avec la dose optimale de lumière visible, et cela aussi bien pour les doses d'UV faibles que pour de fortes doses.

Les bactéries ségrégeantes sensibles sont toujours stables. Leurs caractères Gal sont si fréquemment de provenance exogénote qu'il se pourrait que chaque bactérie ségrégeante ait fait une recombinaison génétique entre endo- et exogénote et ceci probablement au stade de division à chromatides multiples. Les expériences ne permettent pas de savoir si une telle recombinaison a déjà eu lieu dans la bactérie syngénote lysogène défective avant la perte du prophage.

Examinons les différentes explications possibles de l'apparition de ségrégeantes sensibles recombinées dans la région Gal:

1. Admettons que le prophage défectif soit fixé sur la région Gal elle-même ou assez près de celle-ci pour qu'il lui soit possible de faire des recombinaisons avec l'endogénote sans être obligé de se détacher de son propre endroit:

   a) Il est alors possible que des recombinaisons se fassent fréquemment lors des divisions bactériennes, de sorte que l'on arrive finalement à un équilibre où 50% des caractères sont échangés entre endo- et exogénote. Après la perte du prophage, laquelle ne serait pas en relation avec la recombinaison, on trouvera autant de caractères Gal exogénotes qu'endogénotes dans la bactérie sensible. Si cette explication était juste un lysat Gal^- (λ)/ex Gal^+-λ serait équivalent à un lysat de Gal^+ (λ)/ex Gal^--λ quant à son pouvoir transducteur, ce qui n'est pas le cas (Morse, Lederberg et Lederberg, 1956*b*);

   b) Il est possible que chaque recombinaison entre les caractères endo- et exogénotes ait pour conséquence la perte du prophage défectif.

2. Admettons que le prophage défectif soit fixé à un endroit assez éloigné de la région Gal, de sorte qu'il soit obligé de se détacher pour recombiner avec la région Gal endogénote. Ce détachement aurait lieu environ une fois sur 200 divisions bactériennes et ne correspondrait pas à une induction, puisque la bactérie ne se lyse pas. Le prophage détaché pourrait alors se lier aux caractères Gal endogénotes et recombiner avec ceux-ci. Un mécanisme analogue pourrait expliquer comment le phage λ*dg* irradié aux UV transduit une bactérie réceptrice en une bactérie sensible stable Gal^+ (voir chapitre V).

Parmi les ségrégeantes Gal^- d'une souche hétérogénote lysogène défective, 1 à 10% restent syngénotes lysogènes défectives. Si l'on part d'une souche Gal^-/ex Gal^+-λ, on obtient en choisissant les colonies lysogènes défectives Gal^- des souches homogénotes Gal^-/ex Gal^--λ. Si l'on part de la souche Gal_1^- Gal_2^-/ex Gal_1^+ Gal_2^+-λ, on peut obtenir des homogénotes pour l'un des deux caractères Gal ou pour les deux. On a ainsi

une méthode simple pour isoler des souches Gal⁻ homogénotes lysogènes défectives.

Morse, Lederberg et Lederberg (1956*b*) ont expliqué par une division mitotique la possibilité qu'a la bactérie syngénote de se multiplier en maintenant endo- et exogénotes inchangés; une division réductionnelle aurait pour conséquence la perte de l'exogénote après une recombinaison de celui-ci avec la partie homologue endogénote. L'automixis permet d'expliquer l'apparition de bactéries homogénotes pour certains caractères Gal.

Ces explications, données pour la propagation et la recombinaison des caractères Gal exogénotes, peuvent être maintenues pour les deux hypothèses 1. *b)* et 2. déjà exposées, expliquant ainsi l'apparition de ségrégeantes sensibles recombinées dans la région Gal. Selon 1. *b)* une division réductionnelle des caractères Gal entraînerait la perte du prophage, lequel pourrait cependant se maintenir après l'automixis. Selon 2., où le détachement du prophage est la condition pour que la recombinaison ait lieu, la réduction serait le cas où le phage est perdu. L'automixis permettrait au phage de survivre à la recombinaison et de se fixer à nouveau sur le génome bactérien.

Chapitre III

DÉFECTUOSITÉ DU PHAGE λ TRANSDUCTEUR DE GAL

I. Lysogénisation et transduction des caractères Gal par un lysat HFT.

Nous avons pu montrer (Arber, Kellenberger et Weigle, 1957) qu'il est rare d'obtenir des bactéries syngénotes lysogènes défectives lorsque la lysogénisation par un lysat HFT est faite à une multiplicité d'infection (m.i.) de cinq phages actifs par bactérie sensible. Dans ce cas, toutes les bactéries transduites sont des syngénotes lysogènes normales. Par contre, lors d'une lysogénisation à une m.i. de 10^{-3} phages actifs, presque toutes