



جامعة الاخوة منقوري قسنطينة

UNIVERSITÉ DES FRÈRES  
MENTOURI CONSTANTINE

**Université Frères Mentouri – Constantine 1 Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie**

**Département de Microbiologie**

**Parcours Master 1 : Biologie Moléculaire des Microorganismes**

**Support de cours : Bactériophages**

**Par le Dr SEKHRI-ARAFA Nedjoua : Maître de conférences A**



www.shutterstock.com · 1126283543

## Préambule

Les bactériophages, également dénommés phages, sont des virus qui infectent spécifiquement les bactéries. Ils ont été décrits pour la première fois par un chercheur anglais, Frederick Twort, en 1915 qui découvrit la transformation vitreuse de certaines colonies de microcoques. Deux ans après et de manière indépendante, Felix d'Hérelle, un chercheur Franco-Canadien découvre un agent infectieux capable de détruire des cultures de *Shigella dysenteriae* dans les selles de convalescents de dysenterie. D'Hérelle poursuivant son hypothèse d'un « microbe tueur de microbes », qu'il appellera **bactériophage**. Il envisagea immédiatement leur utilisation pour éliminer des bactéries pathogènes et traiter des infections. Il est ainsi considéré comme le précurseur de la phagothérapie (la thérapie par les phages).

Chaque type de phages reconnaît une espèce, voir une sous-espèce de bactérie. Un bactériophage ne va donc pas infecter et éliminer toutes les bactéries mais uniquement celles qui vont être reconnues par le phage et permettre sa multiplication. De par sa grande spécificité, un bactériophage ne pourra jamais infecter une de nos propres cellules.

L'importance des bactériophages est liée à leur présence dans l'ensemble de la biosphère. Les bactériophages constituent l'entité biologique la plus répandue et la plus diversifiée sur Terre. On estime leur nombre à  $10^{31}$  sur la planète. Ils jouent un rôle environnemental essentiel, notamment en régulant la croissance bactérienne mais également en contribuant à l'évolution génétique de nombreux micro-organismes. L'étude des bactériophages a contribué au développement de nos connaissances du vivant et à l'essor de la biologie moléculaire. Dans les années 1940-1960, les travaux effectués sur les bactériophages ont permis de faire de nombreuses avancées dans le domaine de la biologie moléculaire (avancées portées par Max Delbrück, dans le cadre du « groupe phage ») et ont notamment permis de découvrir que les acides nucléiques constituaient le support de l'information génétique.

Actuellement, avec l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, les phages sont considérés comme une alternative plus que prometteuse aux antibiothérapies classiques.

Ce document s'adresse aux étudiants de Master 1 de la spécialité Biologie Moléculaire des Microorganismes. Il a pour objectif principal de compléter leur formation en virologie déjà étudiée en cycle licence.

Le programme de la matière contient deux grands chapitres, le premier consacré à l'étude de L'adsorption, réplication et expression des génomes de quelques bactériophages spécifiques à ADN double et simple brin ainsi que des bactériophages à ARN simple brin. Le deuxième chapitre traite le rôle des bactériophages dans l'évolution procaryotique.

## Liste des abréviations

**ADNsb** : ADN simple brin

**ADNss** : ADN simple brin

**ARNsb** : ARN simple brin

**ARNss** : ARN simple brin

**ARNss+** : ARN simple brin de polarité positive

**ARNmc** : ARN messenger complémentaire

**gp** : glycoprotéine

**ICTV** : Comité International de Taxonomie des Virus

**OmpC** : Outer Membrane Protein C

**LTF** : Fibres caudales longues

**STF** : Fibres caudales courtes

**pb** : paires de bases

**kDa** : kilo Dalton

**RF** : forme répllicative

# Table des matières

## Préambule

## Liste des abréviations

### 1. Introduction générale

1.1 Structure et composition des bactériophages.....5

1.2 Classification.....5

1.3 Cycle infectieux d'une bactérie par un bactériophage ..... 8

### 2. Chapitre1 Adsorption, réplication et expression des génomes des bactériophages

2.1 Adsorption, réplication et expression des génomes des bactériophages lytiques à ADN double brin (T4 et T7) .....11

2.1.1 Définition ..... 11

2.1.2 Bactériophage T4 ..... 12

2.1.3 Bactériophage 7 ..... 17

2.2 Les bactériophages lytiques à ADN ou à ARN simple brin .....22

2.2.1Le phage M13 ..... 22

2.3 Multiplication des phages à ADN simple brin ..... 26

2.3.1 Le phage  $\Phi$ X174 .....26

2.4 Multiplication des phages à ARN simple brin (MS2 et Q $\beta$ ) .....31

2.5 Bactériophages tempérés P1 et Mu ..... 40

2.5.1 Le phage tempéré P1 d'*E.coli* .....41

2.5.2 Le bactériophage Mu .....43

**Chapitre 2 : Contribution des bactériophages à l'évolution des procaryotes ..... 46**

1 La transformation..... .46

2 La transduction..... .47

2-1 La transduction spécialisée..... .47

2.2 La transduction généralisée ..... 47

3 Protection contre la surinfection (lysogénie)..... 51

**Références bibliographiques .....55**

## Intitulé de la matière : Bactériophages Code : *SV/MGBM/BH*

### 1- Introduction générale

### 2- Structure et composition des bactériophages

Les bactériophages ont une taille comprise entre 20 et 200 nm (la taille d'un virus est généralement comprise entre 10 et 400 nm). Leurs descriptions ont permis de mettre en évidence une importante diversité de virus classés selon leur morphologie (morphotype), leur composition (notamment la nature de l'acide nucléique qui peut être de l'ADN ou de l'ARN, simple brin ou double brin) et leur spectre d'hôte.

### 3- Classification

Deux principales méthodes :

**3-1** Classification de David Baltimore, prix Nobel 1975, basée sur le type d'acide nucléique des virus (ADN ou ARN) et son mode d'expression.

**3-2** Classification du Comité international de taxonomie des virus (ICTV), au cours des dernières décennies qui classe les virus en ordres, familles, sous familles, genres et espèces. Les principaux critères de classification retenus par l'ICTV étaient la morphologie générale, la nature de l'acide nucléique et les hôtes infectés. Ainsi, la morphologie du virion est utilisée pour grouper les virus dsDNA « à queue » (ou bactériophages) en trois groupes principaux : Siphoviridae, Myoviridae et Podoviridae (**Tableau 1**).

- **PS** : En 2018 une nouvelle classification basée sur la phylogénie après officialisation du rang taxonomique d'embranchement (phylum= embranchement).

Les phages sont actuellement classés en 14 familles et un genre non classés.

Comme tous les virus, les phages sont classés en fonction de la nature de leur acide nucléique et de leur structure (type de symétrie, présence ou absence d'une enveloppe). Les virus bactériens connus aujourd'hui, ont pour hôte 179 genres bactériens et sont regroupés dans 10 familles. Un seul ordre (*Caudovirale*) rassemble trois des familles (*Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*) auxquelles appartiennent 95 % des phages décrits. Les autres phages sont répartis dans 7 autres familles isolées

- les familles MYOVIRIDAE (virus avec queues contractile), SIPHOVIRIDAE (virus à longue queue non contractile) et PODOVIRIDAE (virus à queue courte non contractile).
- Six genres ont été créés au sein de la famille myoviridae, 6 dans la famille siphoviridae et 3 dans la famille podoviridae.

**Tableau 1.** Classification taxonomique de l'ICTV des bactériophages infectant les bactéries et les archaea.

Ordre	Famille	Morphologie	Acide nucléique	Exemples	Sous-familles	Genres
Caudovirales	Ackermannviridae		ADN ds		2	4
	Myoviridae	Non enveloppé, queue contractile	ADN ds linéaire	Phage T4 , Mu, PBSX, P1Puna-like, P2, I3, Bcep 1, Bcep 43, Bcep 78	6	41
	Siphoviridae	Non enveloppé, queue non contractile n (longue)	ADN ds linéaire	Phage $\lambda$ , T5 phage, phi, C2, L5, HK97, N15	11	100
	Podoviridae	Queue non enveloppée, non contractile (courte)	ADN ds linéaire	Phage T7, T3, $\Phi$ 29, P22, P37	3	23
Ligamenvirales	Lipothrixviridae	Enveloppé, en forme de bâtonnet	ADN ds linéaire	Virus filamenteux Acidianus		3
	Rudiviridae	Enveloppé, en forme de bâtonnet		Virus 1 Sulfolobus islandicus en forme de bâtonnet		1
Non attribué	Ampullaviridae	Enveloppé, en forme de bouteille	ADN ds linéaire			1
	Bicaudaviridae	Non enveloppé, en forme de citron	ADN ds circulaire			1
	Clavaviridae	Non enveloppé, en forme de bâtonnet	ADN ds circulaire			1
	Corticoviridae	Non enveloppé, isométrique	ADN ds circulaire			1
	Cystoviridae	Enveloppé, sphérique	ARN ds segmenté			1
	Fuselloviridae	Non enveloppé, en forme de citron	ADN ds circulaire			2
	Globuloviridae	Enveloppé, isométrique	ADNds linéaire			1
	Guttaviridae	Non enveloppé, ovoïde	ADN ds circulaire			2
	Inoviridae	Non enveloppé, filamenteux	ADN ds circulaire	M13		7
	Leviviridae	Non enveloppé, isométrique	ARN ss linéaire	MS2, Q $\beta$		2
	Microviridae	Non enveloppé, isométrique	ADN ss circulaire	$\Phi$ X174	2	6
	Plasmaviridae	Enveloppé, pléomorphe	ADN ds circulaire			1
	Tectiviridae	Non enveloppé, isométrique	ADN ds linéaire			2



## 4- Cycle infectieux d'une bactérie par un bactériophage

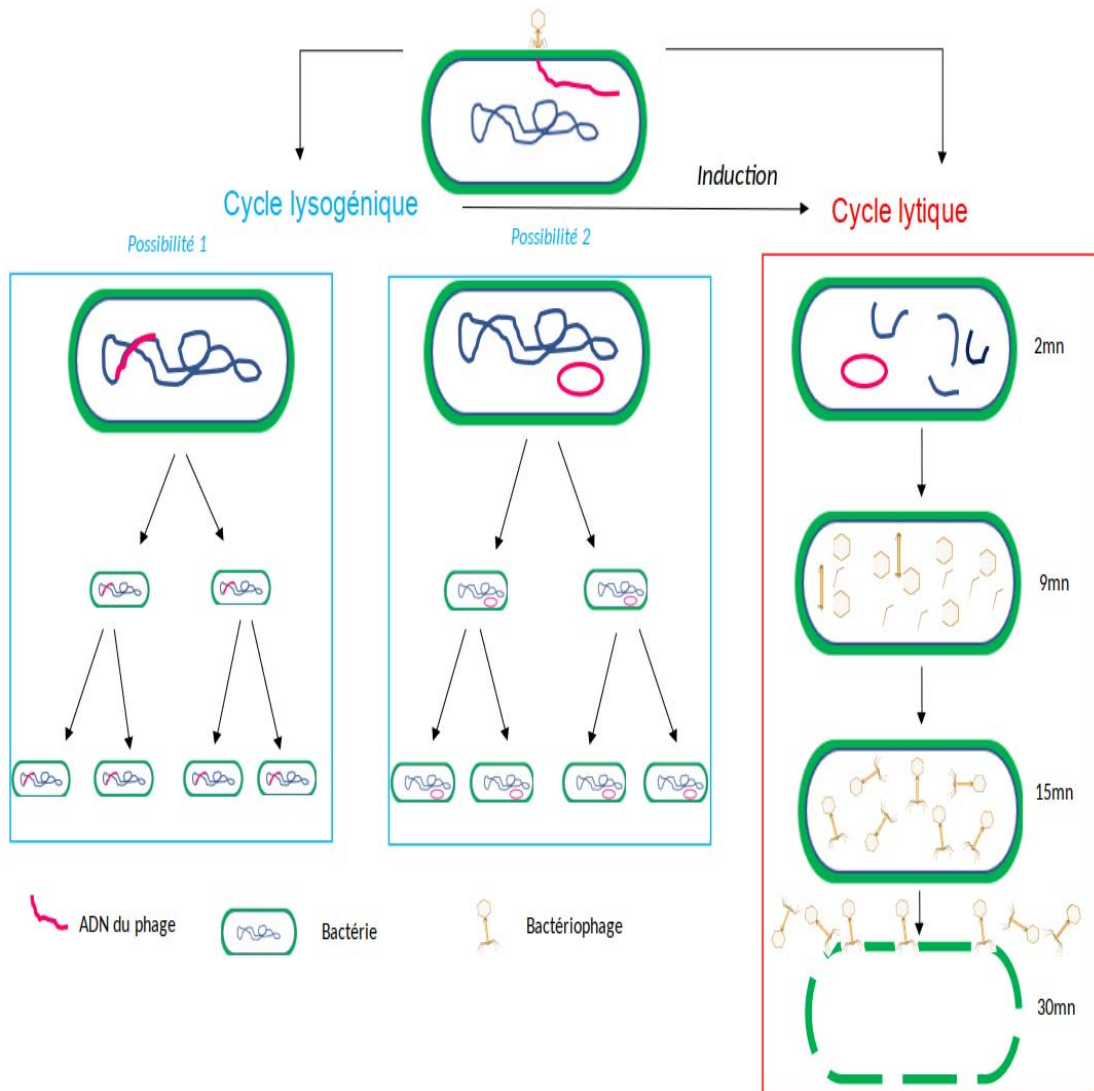
### Deux grands types d'infections :

Il existe deux types de conséquences de l'attaque virale pour une bactérie sensible :

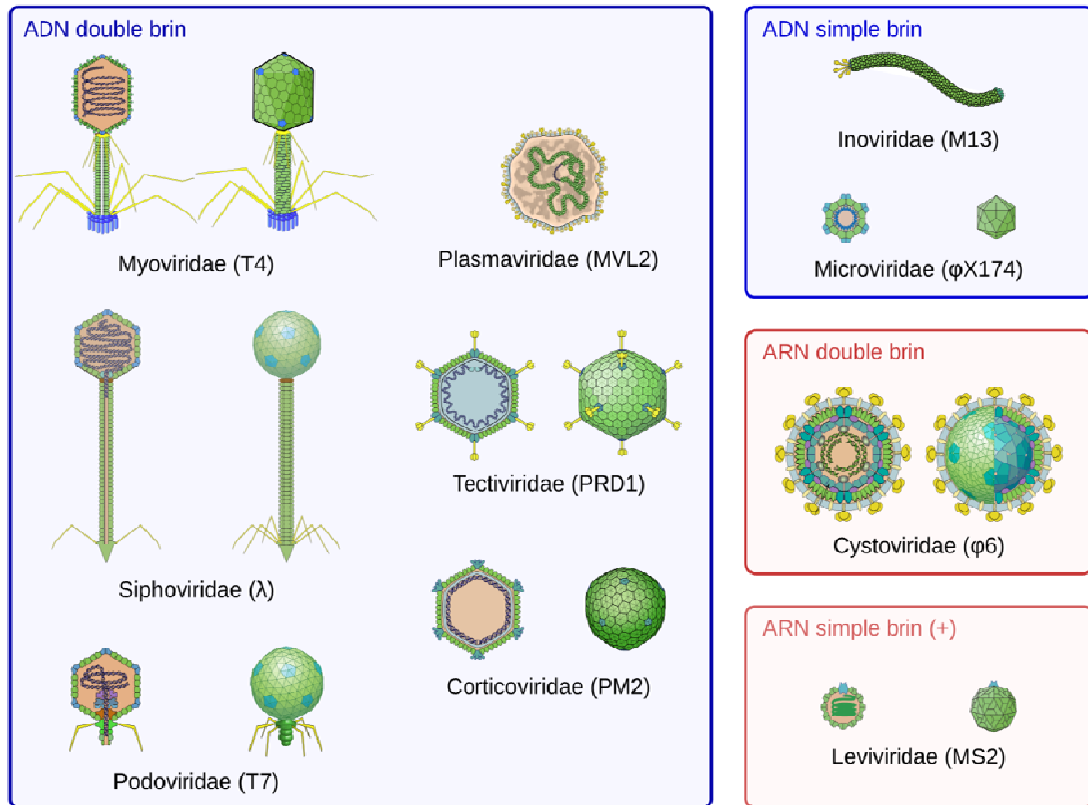
**4-1** Soit l'infection de la bactérie conduit rapidement à sa destruction (lyse). Dans ce cas, le cycle est qualifié de « **lytique** » et le bactériophage de « **virulent** ». Les bactériophages *T-pairs*, comme les T2 ou T4, constituent des exemples de bactériophages lytiques.

**4-2** Soit l'infection ne conduit pas à la destruction rapide de la cellule hôte. Le génome du bactériophage s'insère durablement dans le chromosome bactérien sous forme de **prophage**, ou bien reste sous la forme d'un plasmide. Dans les deux cas, la bactérie n'est pas détruite et transmet ce matériel génétique supplémentaire à ses descendantes. Le cycle est qualifié de « **lysogénique** » et le bactériophage de « **tempéré** » (c'est le cas, par exemple, du bactériophage Mu), (**Figure 1**).

Dans certaines conditions l'état lysogène est perdu, le virion est activé et la lyse se reproduit. Ceci est appelé induction du cycle lytique, qui se fait de façon spontanée ou favorisée par les UV, RX, dessiccation, exposition aux agents chimiques mutagènes etc..... Les conditions défavorables conduisent à la production de protéases (Protéine rec A) qui détruisent la protéine répresseur ce qui conduit à l'expression des gènes du phage aboutissant à la production et à la libération de nouvelles particules virales, ou virions, prêts à infecter d'autres bactéries..



**Figure 1 : cycle lytique et cycle lysogénique ([www.biologiemarine.com](http://www.biologiemarine.com) > micro > bacphage)**



**Figure 2 - Diversité des morphotypes observés chez les bactériophages (Le Mercier - ViralZone SIB Swiss Institute of Bioinformatics).**

Environ 95 % des bactériophages actuellement décrits à partir d'observations en microscopie électronique appartiennent à l'ordre des *Caudovirales*. L'un des plus étudiés est le bactériophage T4 qui infecte la bactérie *Escherichia coli*.

## Chapitre 1

### Adsorption, réplication et expression des génomes des bactériophages lytiques à ADN double brin (T4 et T7)

#### Définition

Les phages lytiques ou virulents sont des phages qui ne peuvent se multiplier que dans les bactéries et qui tuent la cellule par lyse à la fin de leur cycle.

**Bactériophages à ADN :** les plus connus sont les phages de la série T, actifs sur *E.coli*. Ils comprennent sept types différents de T1 à T7, classés en deux groupes : les T paires (T2, T4, T6) dont l'ADN contient l'hydroxyméthyl-cytosine au lieu de la cytosine et les T impaires (T1, T3 et T7). La structure de l'ADN est celle d'une double hélice ouverte.

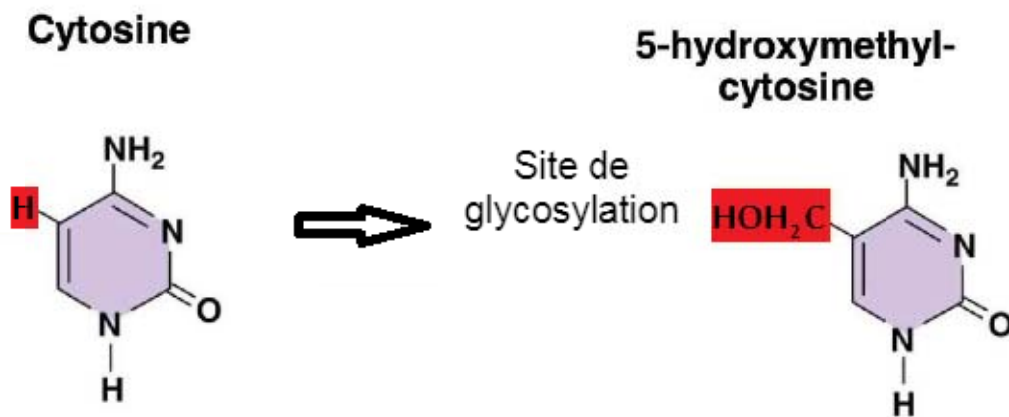


Figure 3 : Modification chimique (glycosylation) de la cytosine

## Bactériophage T4

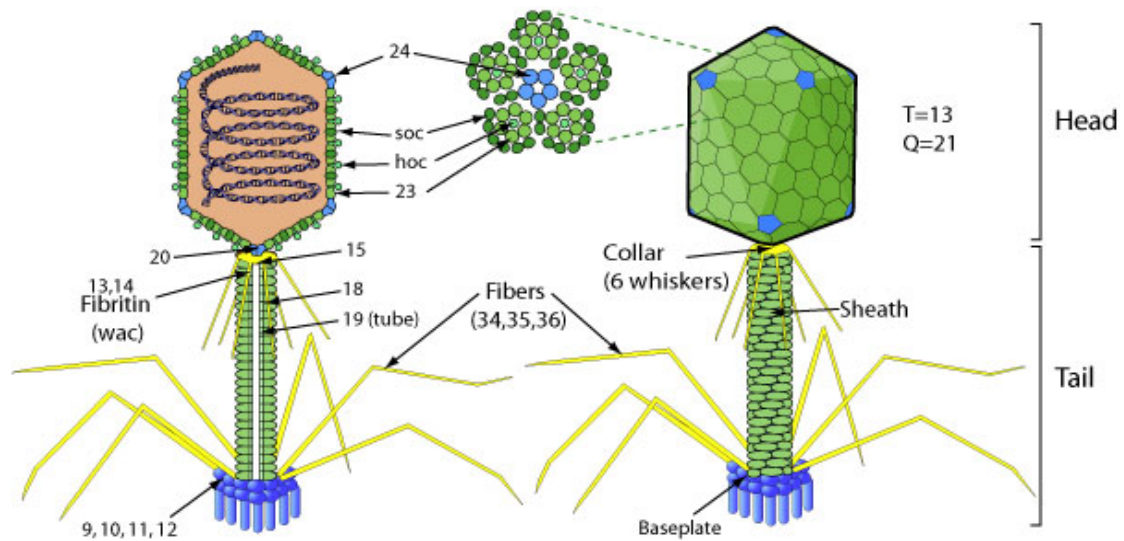
Le **bactériophage T4** est parmi les phages les plus gros ; il fait approximativement 200 nm de long et 80 à 100 nm de large.

C'est un virus de la famille des Myoviridae et de l'ordre des Caudovirales qui s'attaque à la bactérie *E. coli*.

Sa structure comporte trois grandes parties :

- 1- **La capsid** : ou tête (structure tête-queue non enveloppée) est composée de différentes copies d'une ou plusieurs protéines. La tête allongée mesure 120 nm de long et 86 nm de large. La capsid a une symétrie icosaédrique allongée T=13 Q=21, composée de 152 capsomères. A l'intérieur de la tête on trouve l'acide nucléique. La tête agit comme une couverture protectrice de l'acide nucléique, l'ADN double brin, de 168 903 pb code pour environ 300 produits géniques.
- 2- **La queue** : composée de protéine, la queue est un tube creux à travers lequel passe l'acide nucléique lors de l'infection. La taille de la queue peut varier et certains phages n'ont même pas de structure en queue. Chez le phage T4 la queue est entourée par une gaine contractile qui se contracte pendant l'infection de la bactérie. La queue du T4 se termine par une lame basale à laquelle sont attachées les fibres caudales.
- 3- **Les fibres caudales** : de nature protéique. Le T4 a 6 longues fibres terminales, 6 pointes courtes et une petite plaque de base. La lame basale et les fibres caudales sont impliquées dans l'attachement du phage à la cellule bactérienne.

## Enterobacteria phage T4



**Figure 4 : structure du T4** ( [Hu et coll., 2015, PNAS](#) )

**Cycle d'infection** : se déroule en plusieurs étapes :

- Injection (adsorption et pénétration),
- Transcription des gènes précoces,
- Réplication de L'ADN viral,
- Transcription des gènes tardifs,
- Assemblage des particules virales et lyse de la bactérie.

### **1) Adsorption**

La première étape du processus d'infection est l'adsorption du phage sur la cellule hôte. Cette étape est médiée par les fibres caudales.

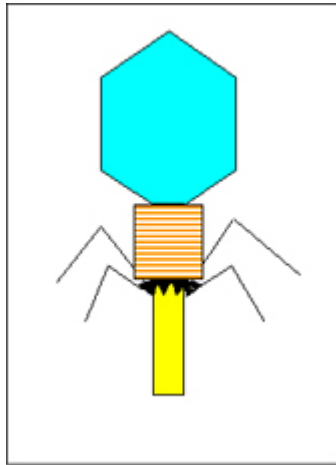
L'adsorption ou « arrimage » est initiée par la collision entre le phage T4 et *E.coli*. Le phage se fixe sur les lipopolysaccharides (LPS) et les protéines OmpC (Outer membrane protein C) par six fibres caudales longues (LTF) et autant de fibres caudales courtes (STF).

Après fixation des trois premiers LTF (**fixation réversible**), il y a un changement de conformation qui signale au plateau que l'attachement à la membrane de la bactérie a réussi. Le plateau va alors glisser le long de la membrane jusqu'à trouver le site pour l'injection. La guirlande des six STF, qui stabilise la conformation hexagonale, est alors cassée, ce qui

permet le déblocage des STF. Le plateau passe alors d'une conformation hexagonale à une conformation en étoile. L'attachement des six STF est **irréversible**. Cela dure environ 10 secondes.

## 2) Pénétration

La compression de la gaine contractile de la queue du phage permet à l'axe central rigide de la queue de traverser la paroi cellulaire d'*E. coli*.



**Figure 5 : contraction de la gaine caudale du T4**([www.microbiologybook.org](http://www.microbiologybook.org) › [bact7](#))

3) **Transcription et traduction des gènes précoces** : après injection de l'ADN, il y a une compétition entre les gènes de la cellule hôte et ceux du phage, mais ces derniers sont privilégiés en raison de ses meilleurs promoteurs. Ces gènes codent :

- Une endonucléase attaquant l'ADN de la cellule hôte entraînant l'arrêt de la transcription de ses gènes.
- Une enzyme synthétisant une base spécifique de T4 : l'hydroxyméthyl cytosine.
- Les enzymes nécessaires à la réplication.

## 4) Réplication

Les protéines gp32 et gp59 se lient au brin 5'-3'. Ils recrutent les hélicases, déroulent l'ADN et permettent le chargement des gp61 ou primases qui permettent la synthèse des amorces ARN. Les gp45 encerclent l'ADN et recrutent l'ADN polymérase phagique. Ensuite celle-ci forme un complexe avec les gp30 ou ligases, qui va coopérer et relier les fragments d'Okasaki synthétisés lors de la réplication.

## 5) Transcription et traduction des gènes tardifs

La réplication de l'ADN de T4 produit de l'ADN nouveau qui subit la transcription et la traduction conduisant à la synthèse d'ARNm et de protéines tardives. Les gènes tardifs codent des protéines de structure nécessaires à l'assemblage ainsi qu'un lysozyme pour la lyse de la bactérie.

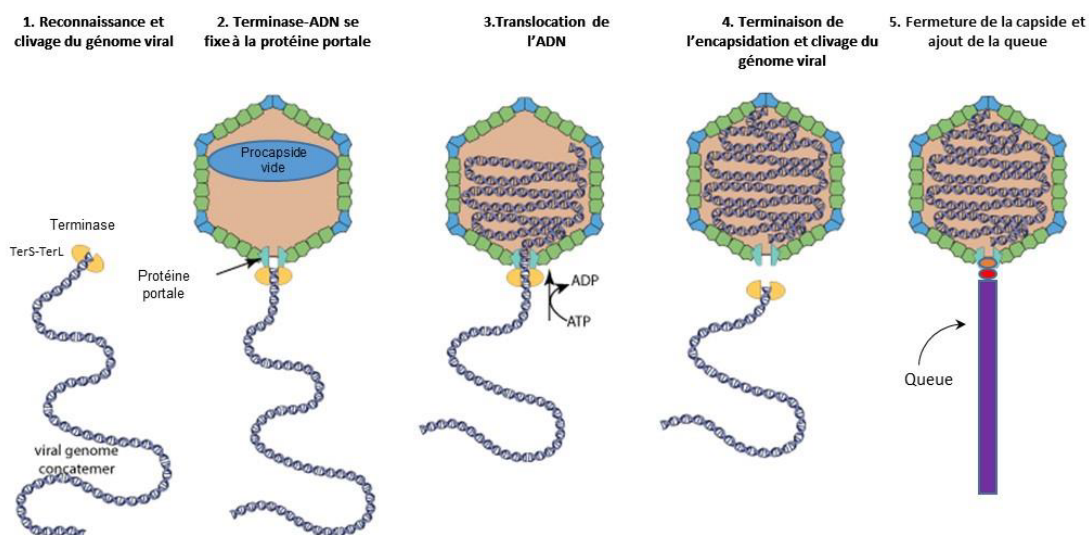
## 6) Assemblage de la particule virale

Le phage T4 est composé de plus de cinquante produits de gènes différents. Sa morphogénèse est basée sur un mécanisme de changement de conformation successif des protéines interagissant entre elles.

### 6-1 L'assemblage de la capsid

Son assemblage commence par la formation du cœur de la capsid qui est amorcée par un connecteur formé par la protéine gp20 avec une protéine de la procapsid (gp22). Ce connecteur est important, il permet également l'insertion de l'ADN viral en servant de canal.

La surface de la procapsid se fait grâce à l'assemblage du cœur de la procapsid avec la protéine gp23. Lorsque la procapsid est formée, les protéines permettant son assemblage seront dégradées et retirées. Après l'entrée de l'ADN viral dans la procapsid, d'autres protéines structurales vont s'assembler au connecteur.



**Figure 6 : Schéma général de la voie de morphogénèse de la particule virale chez les bactériophages à ADN double-brin.** Le concatémère viral est représenté en interaction avec les deux sous unités de la terminase TerS-TerL. Après reconnaissance et clivage, le complexe ADN-terminase se fixe à la protéine portale, par laquelle l'ADN est transloqué vers l'intérieur de la procapsid grâce à l'hydrolyse de l'ATP par la protéine TerL. Une fois la tête pleine, une seconde coupure de l'ADN par



la TerL a lieu finissant l'encapsidation du génome. Le complexe ADN-terminase se détache pour chercher une nouvelle procapside. Des protéines additionnelles viennent fermer le pore portal, suivi par la fixation de la queue (Miller et al., 2003).

### **6-2 L'assemblage de la queue**

L'assemblage de la queue commence par l'assemblage du plateau, puis la polymérisation de l'axe central rigide et de la gaine contractile. Le plateau comprend une structure centrale autour de laquelle sont assemblées six parties identiques. La gaine contractile s'assemble donc autour de l'axe central. L'assemblage de la queue se termine par la fixation d'un hexamère de gp15 sur la gaine contractile.

### **6-3 L'assemblage des fibres caudales longues**

Cet assemblage se fait par l'assemblage des parties proximales et l'assemblage des parties distales qui sont plus complexes. Le rattachement des deux parties se fait grâce aux protéines gp35 et gp36.

### **6-4 Assemblage des composants**

La capsid et la queue vont d'abord s'attacher, puis les fibres caudales longues vont se fixer sur le plateau au niveau de la gp9.

## **7- Lyse de la cellule hôte**

La lyse de la bactérie permet de libérer les nouvelles particules virales. Les protéines gpe et gpt provoquent la lyse de la bactérie. gpe est un lysosyme et gpt lui permet d'atteindre la couche de peptidoglycane. Le phage T4 peut aussi inhiber la lyse de la bactérie pour assembler plus de particules virales grâce aux protéines gp rI, gp rIIA, gp rIII et gp rIV. Le cycle lytique produit ainsi un phénomène d'amplification considérable puisque pour une bactérie attaquée, il y a plus de 50 phages produits.

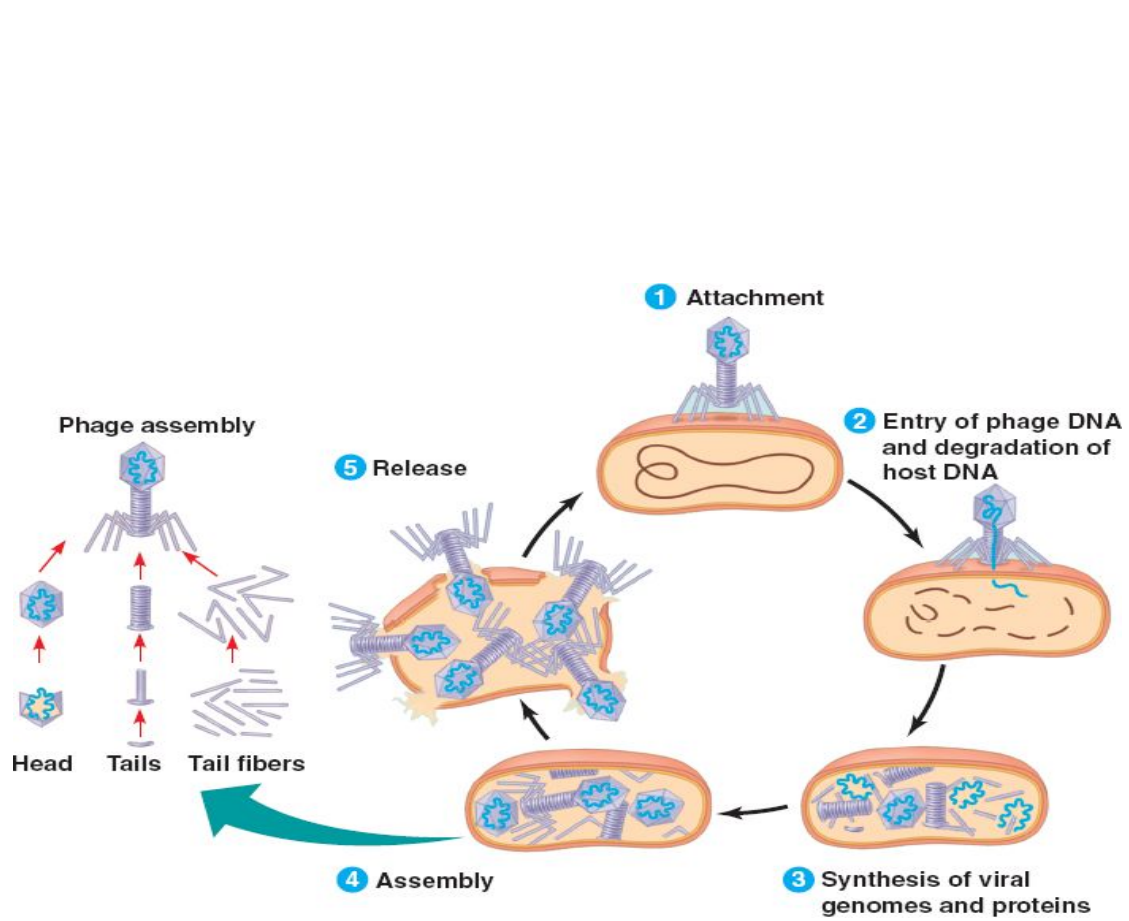


Figure 7 : Cycle de reproduction du phage T4(<https://fr.strephonsays.com/lytic-and-lysogenic-cycle-of-bacteriophage-2850>)

## Bactériophage 7

Le bactériophage T7 est un virus qui infecte *E.coli*. Les études sur ce virus ont permis des développements en biologie moléculaire et de mieux comprendre l'assemblage et l'infection virale.

- 1- **Classification** : le phage T7 fait partie des virus de la famille des Autographivirinae, et de l'ordre des Caudovirales.



**Figure 8 : Dessin schématique d'un virion du Bactériophage T7 (coupe transversale et vue latérale)** ([https://viralzone.expasy.org/resources/T7likevirus\\_virion.jpg](https://viralzone.expasy.org/resources/T7likevirus_virion.jpg))

### 2- Le génome du phage T7 :

Constitué d'environ 40 k pb, double brin et linéaire avec 160 pb de longues répétitions directes aux deux extrémités. Le génome code pour environ 56 gènes (**Figure9**).

### 3- Cycle infectieux

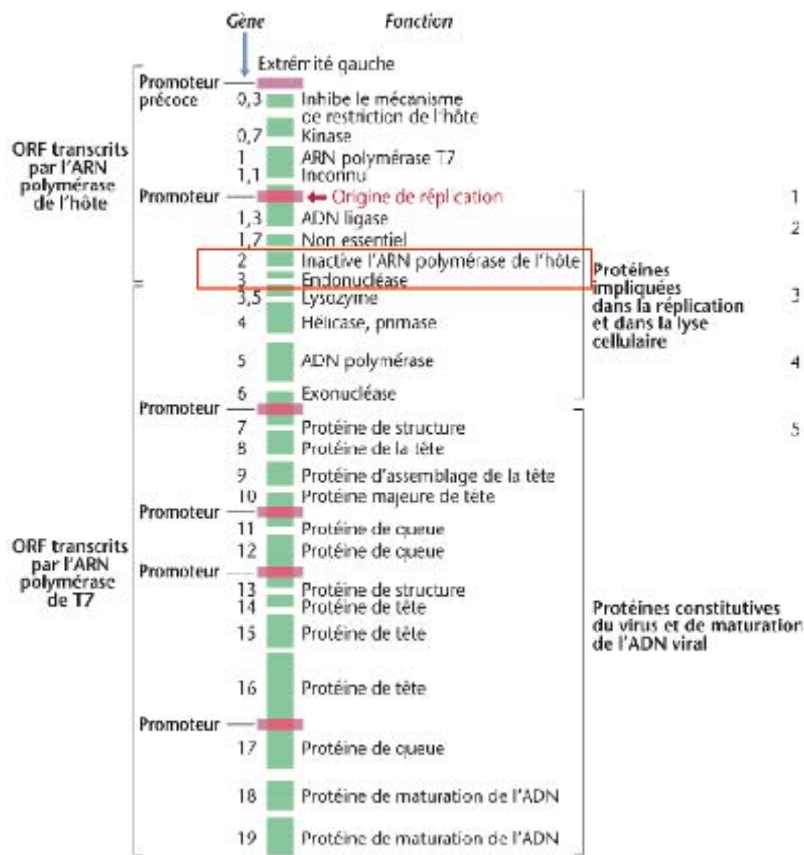
#### 3-1 Adsorption et pénétration :

Après fixation du phage à la surface de la cellule hôte, le virion change sa conformation et étend un tube, entraînant le tube de queue à travers l'enveloppe cellulaire conduisant à l'entrée du génome viral.

Directement après l'injection, l'extrémité gauche du génome est transcrite par l'ARN polymérase hôte avant même que le reste du génome ne soit rentré dans la cellule. Cette partie du génome ne contient aucun site de restriction pour les enzymes de restriction de l'hôte et code pour les gènes de classe I comme le gène 0.3 (qui protège le génome T7 de divers systèmes de restriction de type I) et le gène 0.7 qui code pour une sérine kinase qui inactive la transcription catalysée par l'hôte.

Gène 1 qui code pour l'ARN polymérase T7 et gène 1.2 qui inhibe la dGTPase hôte.

Ensuite, les gènes de classe II sont exprimés à partir d'environ 6 minutes. Les gènes 1.1, 1.2 et 1.3 sont transcrits précocement par la polymérase hôte et plus tard par la polymérase T7. La transcription des gènes de classe II est contrôlée par la protéine de classe II lysozyme gp3.5 par un mécanisme de rétroaction. Ils incluent des protéines impliquées dans la réplication de l'ADN génomique comme l'ADN ligase gp1.3, la gp2.5 de liaison à l'ADN simple brin (SSB), l'hélicase / primase gp4 ou l'exonucléase gp6.



**Figure 8 :** carte génétique du phage T7 (schéma figurant l'ensemble des gènes, leur taille relative et leur fonction) (Madigan et Martingo, 2007).

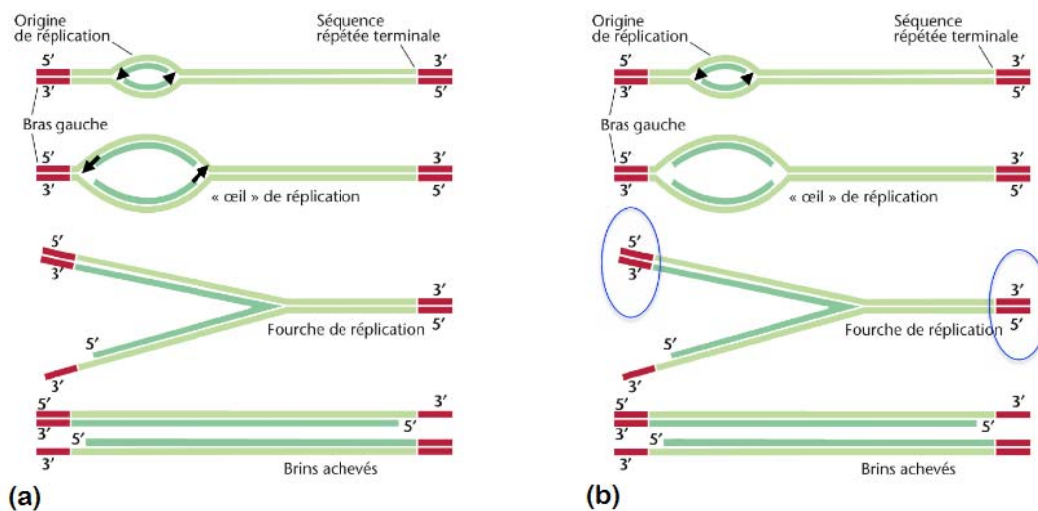
### 3-2 Réplication :

**Voici la modification du paragraphe :** L'ADN de T7 porte une redondance terminale c'est-à-dire une séquence de 160 bases répétées directes à chaque extrémité. Le T7 utilise un mécanisme de réplication de séquences répétées. **(Figure 10)**. Les extrémités 3' opposées des deux molécules d'ADN néoformées au cours du premier cycle de réplication peuvent s'apparier et donner naissance à une molécule d'ADN génomique deux fois plus longue que la taille normale.

Les extrémités simples brins peuvent alors être complétées par l'ADN polymérase et l'ADN ligase virale, ce qui donne naissance à un concatémère regroupant deux ADN génomiques (parentaux et néoformés)

La coupure du long concatémère s'effectue en un site spécifique, chaque virion néoformé possède un génome parfaitement identique. Au moment de l'encapsidation, l'ADN génomique viral est circulairement permuté.

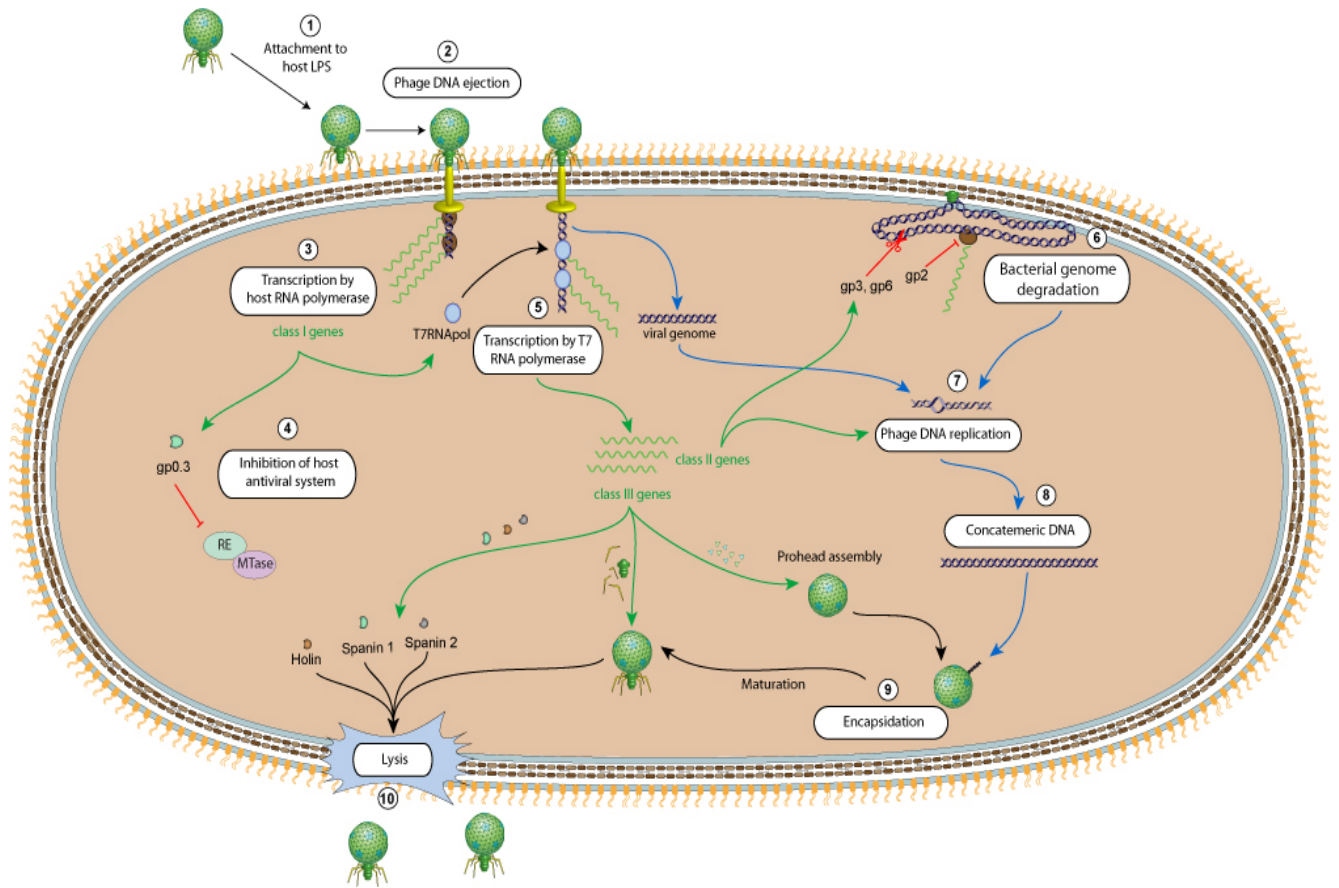
Les gènes de classe III sont dédiés à l'assemblage des virions, à l'empaquetage d'ADN et à la lyse cellulaire. Les sous-unités de terminases gp18 et gp19 sélectionnent l'extrémité droite de l'ADN concatémère, initiant ainsi l'encapsidation. Une fois que l'ADN de longueur unitaire est transféré vers la tête pro, la terminase reconnaît et coupe l'extrémité gauche du génome. Une fois l'emballage terminé, les protéines de la queue s'assemblent en coopération sur la tête remplie.



**Figure 10:** formation du concatémère d'ADN résultant de la jonction des brins parentaux et néoformés réalisée par l'ADN polymérase et la ligase (en rouge les séquences répétées) (Madigan et Martingo, 2007).

**3-3 Lyse :** se déroule en trois étapes et concerne les trois couches de l'enveloppe cellulaire: membrane interne, peptidoglycane et membrane externe. Deux

protéines, une endolysine et une holine sont nécessaires pour la lyse programmée des cellules hôtes. Des protéines supplémentaires appelées spanins (spanin 1 et spanin 2) sont également impliquées dans le processus menant à la libération des virions (**Figure 11**).



**Figure 11 :** cycle d'infection du phage T7(<https://viralzone.expasy.org/resources/T7cycle3.jpg>)



## Les bactériophages lytiques à ADN ou à ARN simple brin

### Le phage M13

Virion à ADN simple brin, a la propriété rare d'infecter, envahir, se reproduire sans dommage pour *E.coli*.

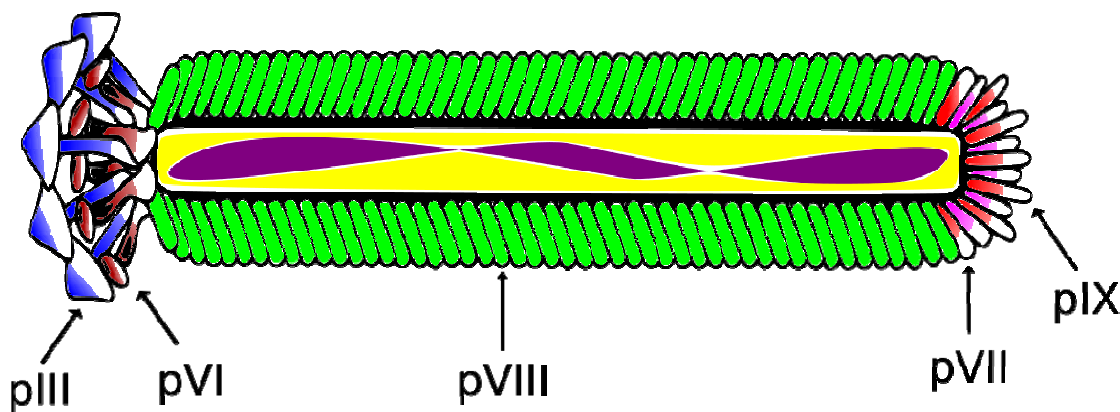
#### 1) Structure :

Le virion M13 est un mince filament de 895 nm de long sur 9 nm de Ø.

Le diamètre interne de la capsidie protéique est de 2,5 n. Cette capsidie englobe une boucle d'ADN simple brin qui s'étend sur tte la longueur du filament.

La capsidie est constituée d'environ 2700 sous unités individuelles de Pr- qui se chevauchent l'une sur l'autre.

A l'extrémité du virion il y'a 4 Pr- « pilotes » qui guident le virus pour l'entrée dans l'hôte et pour la sortie.



**Figure 12:** Dessin schématique d'un virion de bactériophage en forme de bâtonnet de l'ordre des Tubulavirales. Bleu: CoatProtein g3p (akapIII) noir : CoatProtein g6p (akapVI) rouge : CoatProtein g7p (akapVII) Lvert: CoatProtein g8p (akapVIII) rose fuchsia : CoatProtein g9p (akapIX) violet: ADN simple brin.

(<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9d/M13B.svg>)

## 2- Génome

Le génome de ce phage est constitué de 6,4 kb d'ADN circulaire simple brin de sens positif et code pour 10 gènes. Contrairement à la plupart des virions icosaédriques, la capsid filamenteuse M13 peut être élargie par l'ajout de sous-unités protéiques supplémentaires, de sorte que la longueur du génome peut être augmentée par l'ajout de séquences supplémentaires dans la région intergénique non essentielle sans devenir incapable d'être emballée dans la capsid.

## 3- Classification

Type	<i>Virus</i>
Groupe	Groupe II
Famille	<i>Inoviridae</i>
Genre	<i>Inovirus (I)</i>
<b>Espèce</b>	<b><i>Inovirus M13</i></b>

## 4- Cycle de reproduction

### 4-1- Pénétration et infection

Le virion se fixe au niveau ou près du pilus F (facteur sexuel) d'*E.coli* (les organismes dépourvus de pilus ne peuvent pas être attaqués). La reconnaissance de la cellule hôte, est suivie de l'injection du matériel génétique dans le cytoplasme bactérien

**4-2- Réplication** : dès que la bactérie est infectée les enzymes cellulaires synthétisent un brin complémentaire (le brin c ou (-)) du génome simple brin du phage (le brin v ou (+)) formant un ADN ccc (ADN circulaire clos de façon covalente) double brin appelé forme répllicative RF. La gyrase cellulaire donne à cette molécule une forme super enroulée qu'on appelle RFI. Cette dernière est transcrite à partir de son brin c(-). Le brin v (+) est clivé par une enzyme codée par le phage et il y'a répllication (**Figure 14**).

D'abord l'ADN du brin (+) est clivé en morceaux de la longueur d'un génome. Ceux-ci sont circularisés et convertis en formes répliquatives nouvelles. Par la suite une protéine particulière

codée par le phage s'accumule dans la cellule et couvre les brins (+) nouveaux bloquant ainsi toute conversion en RF. Les génomes d'ADN simple brin, clivés et circularisés sont empaquetés dans des protéines de manteau du phage et expulsés à travers l'enveloppe cellulaire de l'hôte par bourgeonnement.

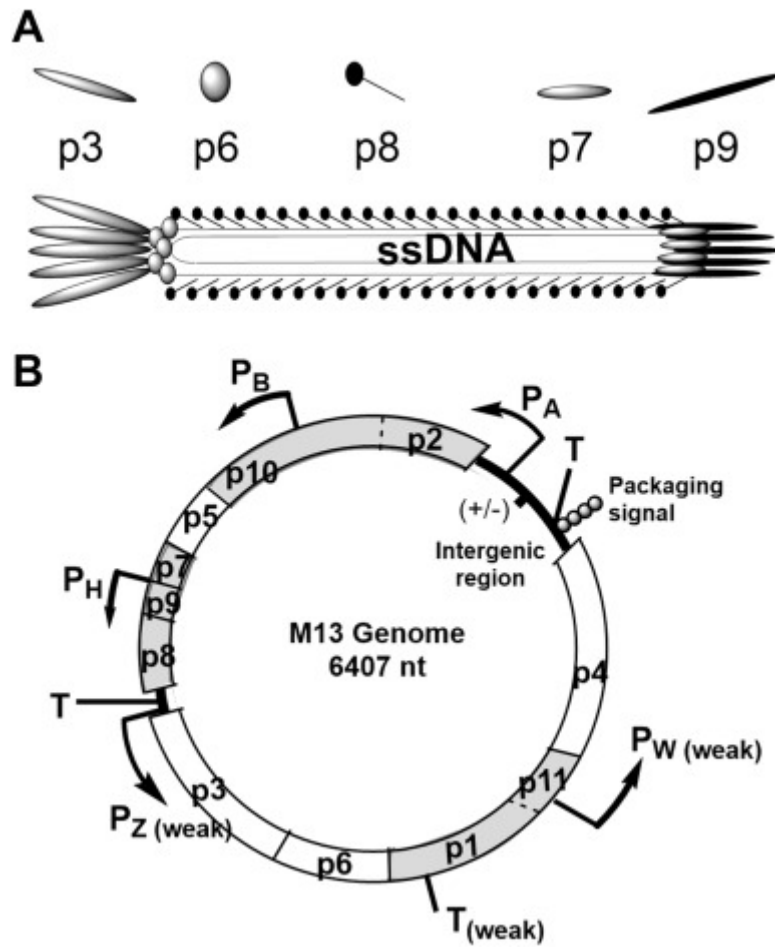


Figure 13 : carte génétique du M13 ([genet.univ-tours.fr](http://genet.univ-tours.fr) > angers > chap4-2)

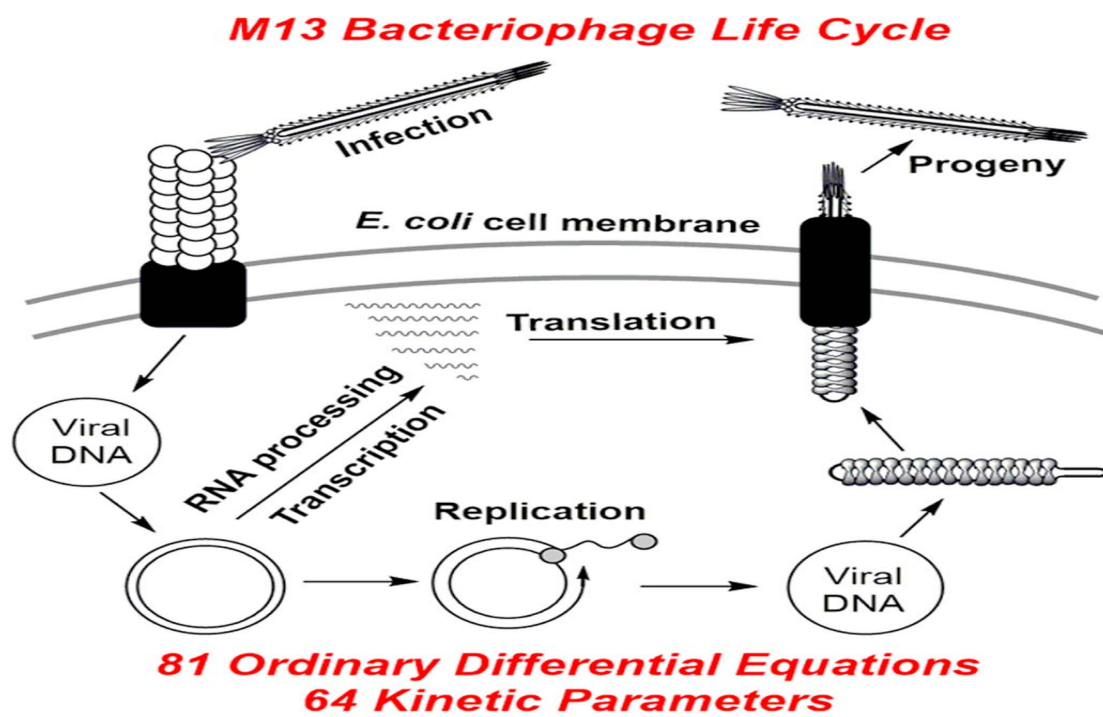


Figure 14 : cycle infectieux du phage M13 (Paolozzi et Liébart, 2015).

## Multiplication des phages à ADN simple brin

### Le phage $\Phi$ X174

Le phage phiX174 (ou  $\Phi$ X174) est un virus bactériophage de la famille des *Microviridae*. C'est un virus très simple dont le génome est composé d'une molécule d'ADN simple-brin circulaire longue de 5386 nucléotides et comportant 11 gènes . Son hôte est *E.coli*.

Ce virus a été synthétisé *in vitro*. Son génome est le premier à avoir été séquencé et sert à la construction de vecteurs de clonage. Des études sur la réplication de ces phages ont conduit à la découverte de la réplication en cercle roulant.

#### 1- Classification

Type	<i>Virus</i>
Groupe	Groupe II
Famille	<i>Microviridae</i>
Genre	<i>Sinsheimervirus</i>
Espece	<b><i>Phi X 174</i></b>

#### 2- Structure de la capsid

60 molécules de protéine major d'enveloppe F(48.4KD) forment la capsid (25-27) nm de diamètre). 5 molécules de protéine G (19.0KD) et 1 molécule sous forme de protéine H (35.8KD) pointes. La protéine J (4.0KD) se lie au génome du phage pour condensation d'ADN lors de l'encapsidation (**Figure 15**).

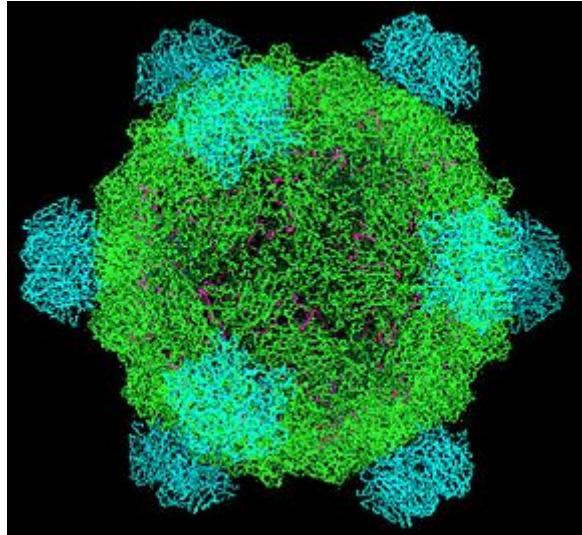


Figure 15 : Structure de la **capside** du phage  $\Phi$ x174  
[https://viralzone.expasy.org/resources/Microvirus\\_virion.jpg](https://viralzone.expasy.org/resources/Microvirus_virion.jpg)

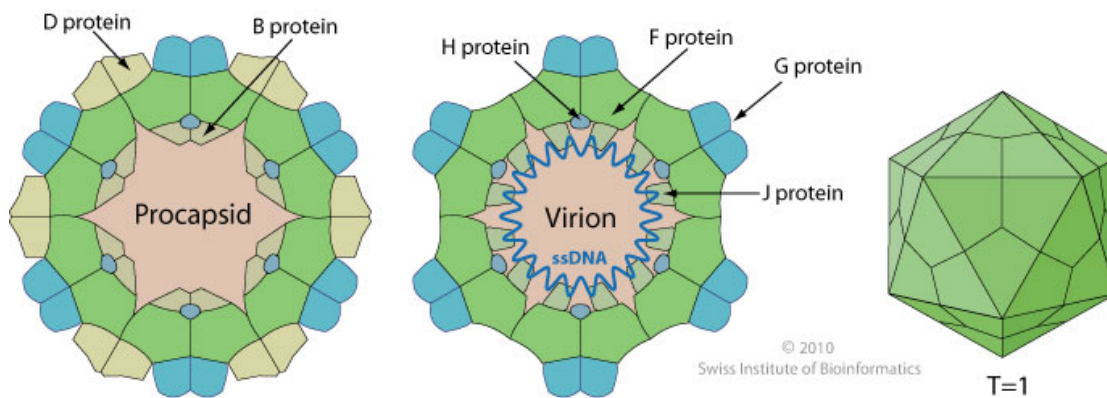


Figure 16: Dessin schématique d'un virion de *Sinheimer-virus* (anciennement  $\Phi$ X174 ou *Microvirus*)

[https://viralzone.expasy.org/resources/Microvirus\\_virion.jpg](https://viralzone.expasy.org/resources/Microvirus_virion.jpg)

### 3- Génome du $\Phi$ X174

Le génome est constitué d'ADNs circulaire. La taille du génome varie de 4,6 à 6,1 kb.

Le diamètre est de 25 à 27 nm. La séquence en bases de son ADN est la même que celle de l'ARNm viral (sauf thymine remplacée par l'uracile il est donc ADN<sup>+</sup>. Le génome contient des gènes chevauchants.

## 4- Cycle infectieux

### 4-1- Adsorption

Le Phage  $\phi$ X174 reconnaît les récepteurs lipopolysaccharidiques dans la membrane externe des Enterobacteriaceae comme *E.coli* et *Salmonella typhimurium*, par la protéine H de l'enveloppe. La partie interne de la protéine H est responsable de l'injection du génome dans la cellule hôte. Au moins une protéine H entre dans la cellule hôte avec l'ADN viral.

### 4-2- Réplication

Quand l'ADN du  $\Phi$ X174 entre dans la cellule hôte, il est immédiatement recopié par l'ADN polymérase bactérienne pour former un ADN double brin ou forme répllicative RF. Cette forme répllicative peut alors diriger la synthèse de plus de RF, d'ARNm et de copies du génome ADN+. La réplication du génome  $\phi$ X174 se produit dans 3 étapes :

#### Étape 1

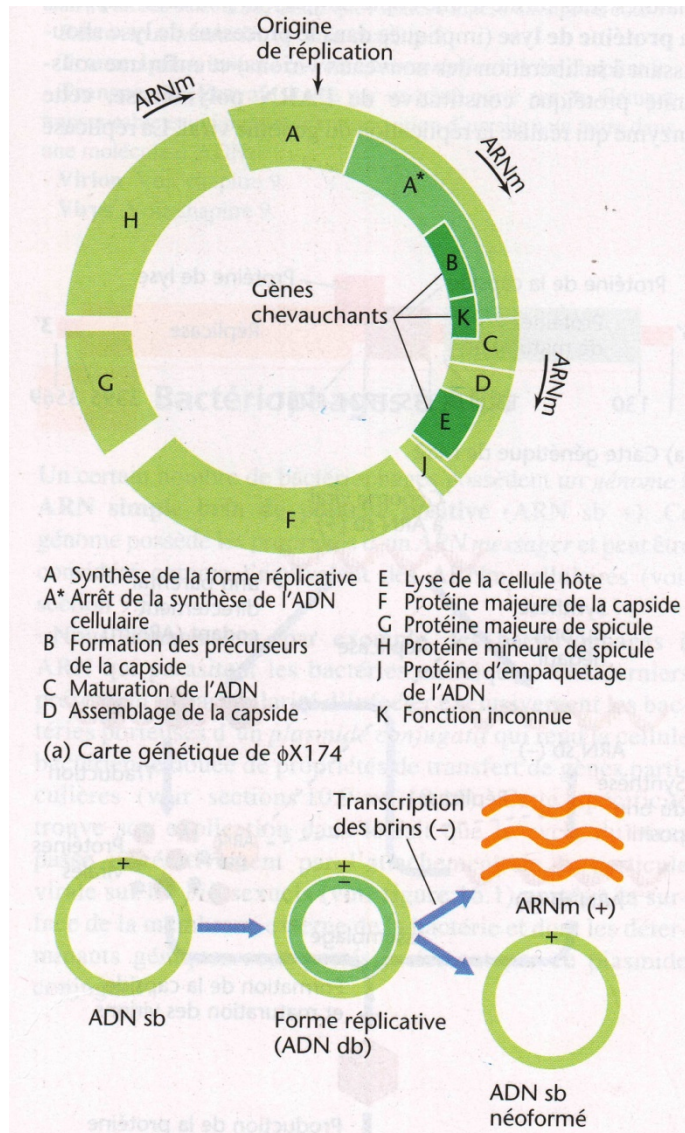
- Synthèse du brin (-) complémentaire du brin (+) pour former la forme répllicative (RF) par les enzymes de l'hôte.

#### Étape 2

- La réplication de la RF implique un cercle roulant et nécessite la protéine A codée par le phage pour synthétiser de nouveaux brins plus. Ceux-ci vont alors servir de modèles pour la synthèse des brins négatifs pour générer les nouveaux RF.

#### Étape 3

- Réplication asymétrique de l'ADNsb de la descendance du brin plus. La Synthèse de la RF continue jusqu'à ce qu'elle soit suffisante pour que les protéines structurales soient synthétisées et assemblées en particules précurseurs vides.

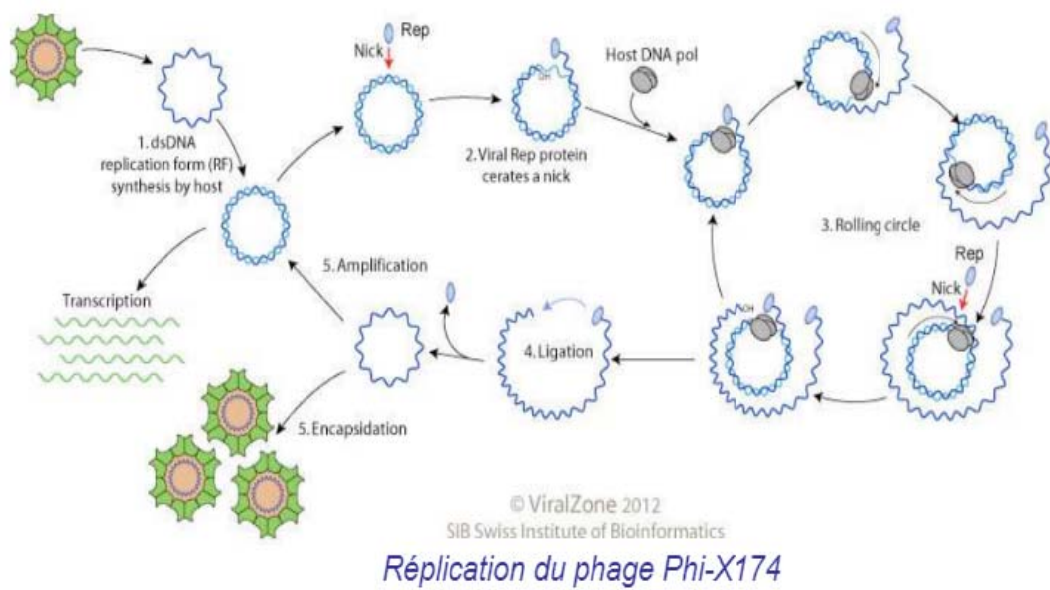


**Figure 17 : Carte génétique et cascades d'événements lors du cycle de réplication du phage  $\Phi$ X174 (Madigan et Martingo, 2007).**

#### 4-3- Lyse

Les phages sont libérés par lyse de la cellule hôte. Il existe d'autres phages à ADN simple brin : bactériophages filamenteux comme le phage fd de la famille des inoviridae (ne tuent pas la cellule mais établissent une relation symbiotique).





**Figure 18: cycle général de la répliation du phage  $\Phi$  X174**

(rlacollege.edu.in > microbiology > PhiX174 (NC))

## Multiplication des phages à ARN simple brin (MS2 et Q $\beta$ )

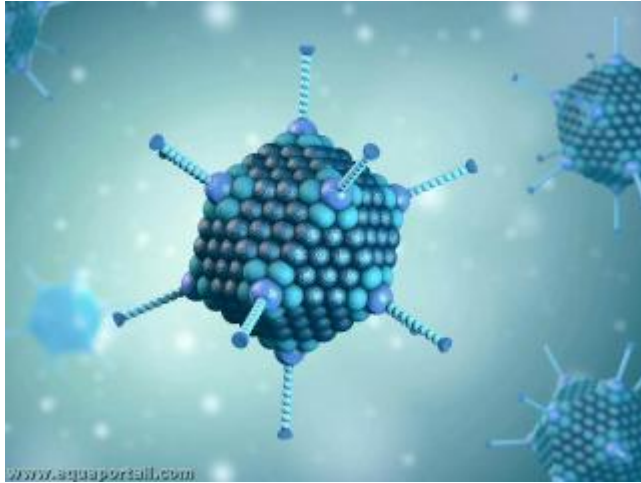
De nombreux bactériophages portent leur information génétique sous forme d'ARN simple brin de polarité positive (ARNsb+) celui-ci peut agir comme un ARN messager et diriger la synthèse des protéines phagiques. Les phages MS2 (groupe I) et Q $\beta$  (groupe II) de la famille des Leviridae, sont les plus étudiés, ce sont de petits phages d'*E.coli* sans queue, icosaédriques, à ARN simple brin.

### 1- Classification

Royaume:	<i>Orthornavirae</i>
Phylum:	<i>Lenarviricota</i>
Classe:	<i>Leviviricetes</i>
Ordre:	<i>Norzivirales</i>
Famille:	<i>Fiersviridae</i>
Genre:	<i>Emesvirus</i>
Espèce:	<b><i>Emesvirus zinderi</i></b>

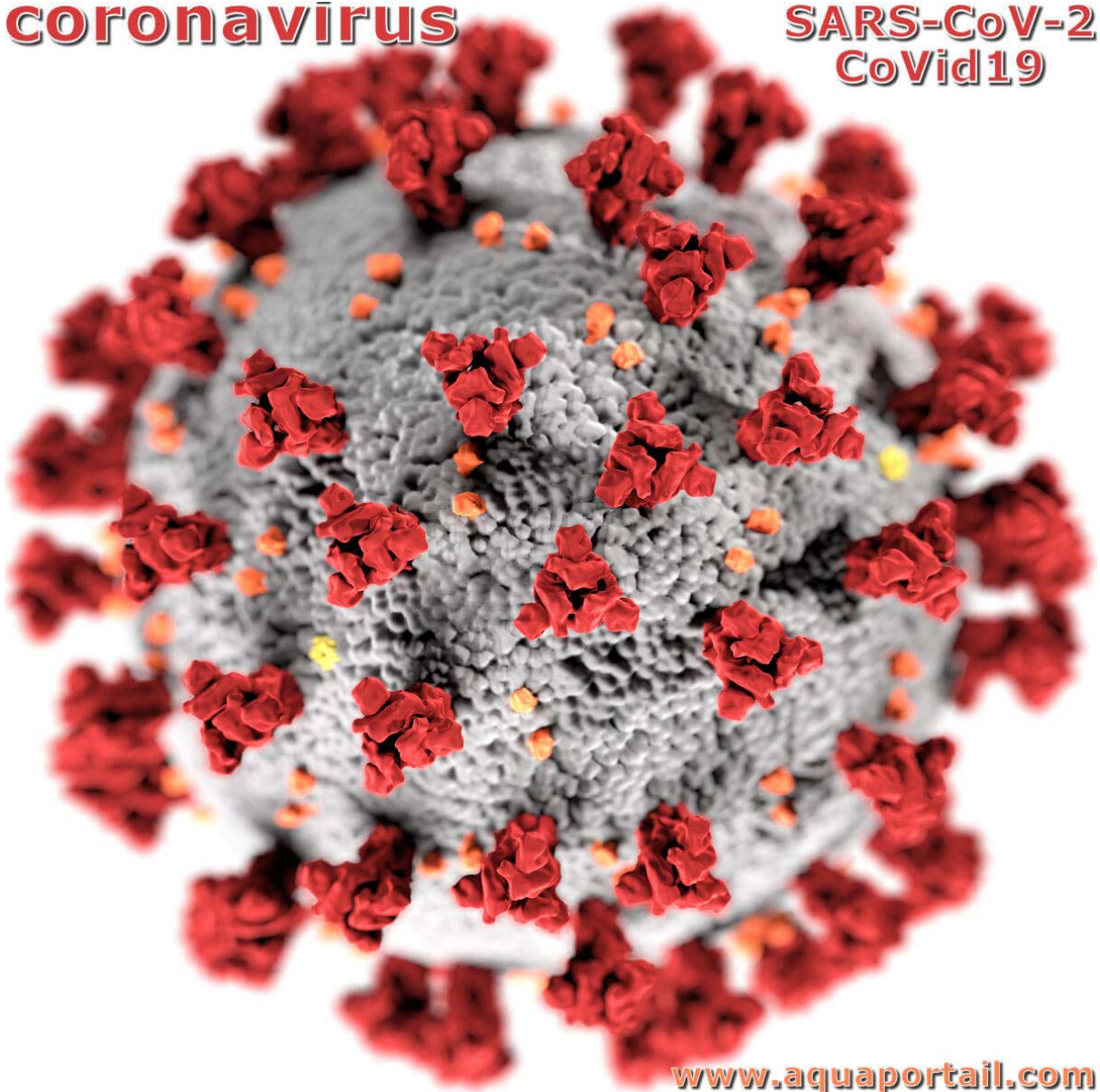
### 2- Structure du MS2 :

Le virion MS2 ou (*Emesvirus zinderi*) a un diamètre d'environ 27 nm, tel que déterminé par microscopie électronique. Il consiste en une copie de la protéine de maturation et 180 copies de la protéine d'enveloppe (organisées en 90 dimères) disposées en une coquille icosaédrique avec un numéro de triangulation  $T = 3$ , protégeant l'ARN génomique à l'intérieur (**Figure 19**).

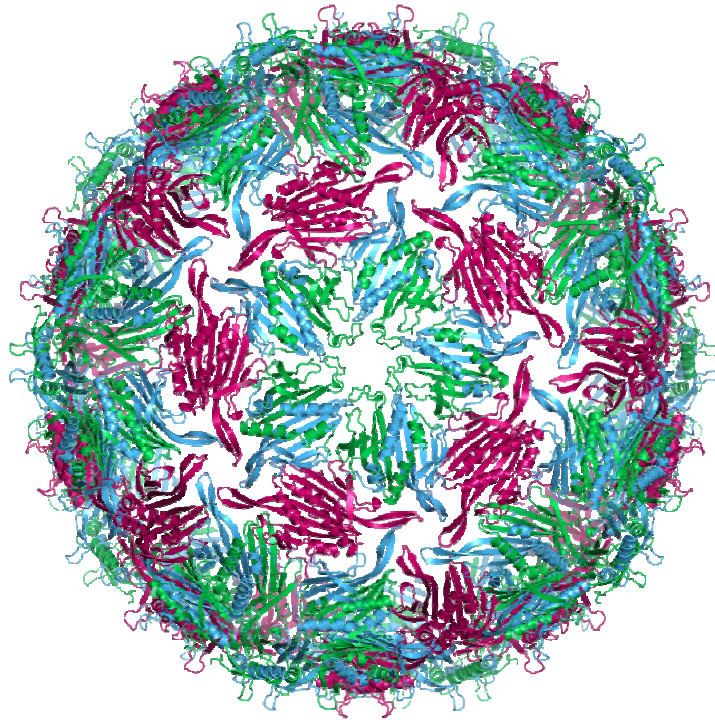


**coronavirus**

**SARS-CoV-2  
CoVid19**



[www.aquaportail.com](http://www.aquaportail.com)



**Figure 19: structure de la capside du phage MS2**

### 3- Génome :

Le génome MS2 est l'un des plus petits connus, composé de 3569 nucléotides d'ARN simple brin. Il ne code que quatre protéines: la protéine de maturation (protéine A), impliquée dans la fixation du phage à la cellule et dans la maturation du virion. Chez le MS2, les autres gènes codent pour la protéine de capside, l'ARN réplicase et une protéine nécessaire à la lyse cellulaire.

**PS :** on n'a découvert qu'un seul phage à ARN double brin, le bactériophage  $\Phi 6$  de *Pseudomonas phaseolicola*, un virus enveloppé.

Les virus à ARN ont généralement des taux de **mutation** très élevés car ils ne possèdent pas d'**ADN polymérases** capables de détecter et de corriger les erreurs (réparation de l'ADN). Les virus à ADN ont des **taux de mutation** beaucoup plus bas en raison de leur capacité à corriger les ADN polymérases de la **cellule hôte**.

## 4- Cycle infectieux

### 4-1 Adsorption et pénétration

Les phages ssRNA infectent diverses bactéries Gram-négatives en se fixant sur leurs structures de pilus. Dans le cas d'*Escherichia coli*, le plus souvent c'est au niveau des pili F codés par un plasmide conjugatif, mais il a été rapporté que des phages ssRNA infectant d'autres bactéries se fixent à des pili complètement différents codés par le génome, tels que les pili polaires chez *Pseudomonas* ou des pili spécifiques des cellules essaimeuses chez *Caulobacter*.

### 4-2 Réplication

Une des premières enzymes synthétisées est l'ARN réplicase, une ARNpolymérase ARN-dépendante.

La réplicase copie l'ARN parental et donne un intermédiaire la forme répliquative à double brin  $-^+$  utilisée ensuite par la réplicase pour la synthèse des milliers de copies d'ARN $^+$ .

Certaines de ces chaînes positives servent à fabriquer plus d'ARN $^-^+$  pour accélérer ARN $^+$ , tandis que d'autres agissent comme ARNm pour les protéines phagiques (**Figure 20**).

On pense que la formation du virion est initiée par la liaison de la protéine de maturation à l'ARN MS2 ; en fait, le complexe de la protéine de maturation et de l'ARN est infectieux. L'assemblage de la coquille icosaédrique ou de la capside à partir des protéines d'enveloppe peut se produire en l'absence d'ARN ; cependant, l'assemblage de la capside est nucléé par la liaison du dimère de protéine d'enveloppe, et l'assemblage se produit à des concentrations beaucoup plus faibles de protéine d'enveloppe lorsque l'ARN MS2 est présent.

### 4-3 Lyse :

La lyse bactérienne et la libération de virions nouvellement formés se produisent lorsqu'une quantité suffisante de protéines de lyse s'est accumulée. La protéine de lyse (L) forme des pores dans la membrane cytoplasmique, ce qui entraîne une perte de potentiel membranaire et une dégradation de la paroi cellulaire (**Figure 21**).

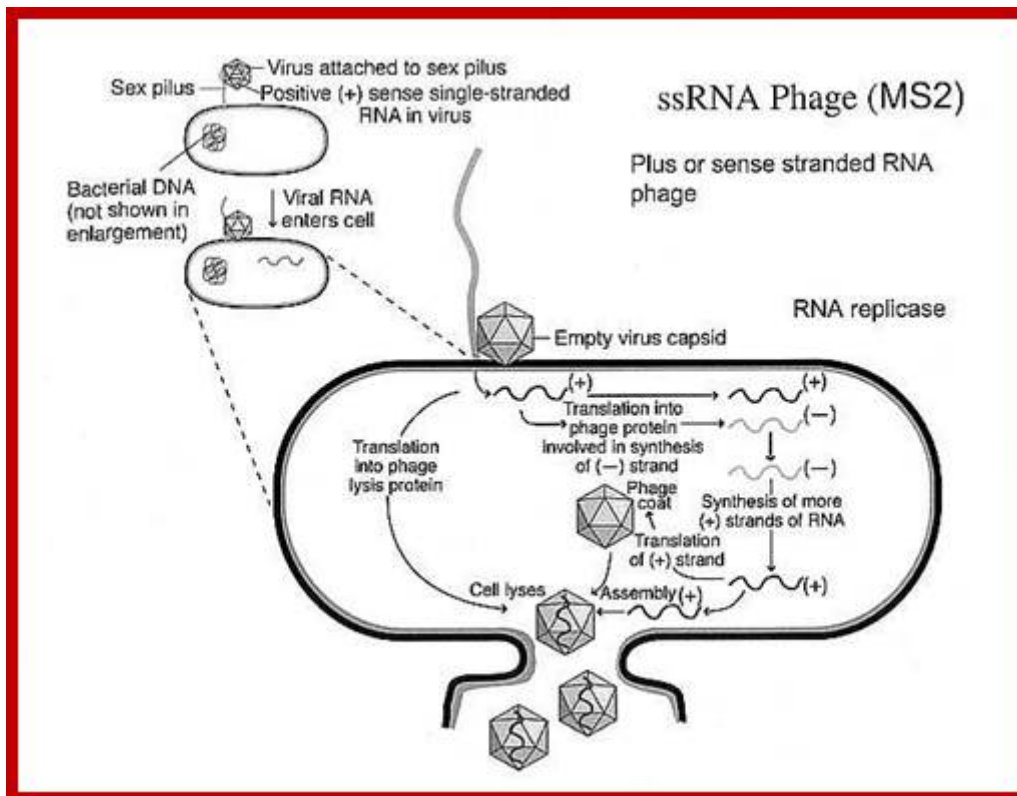
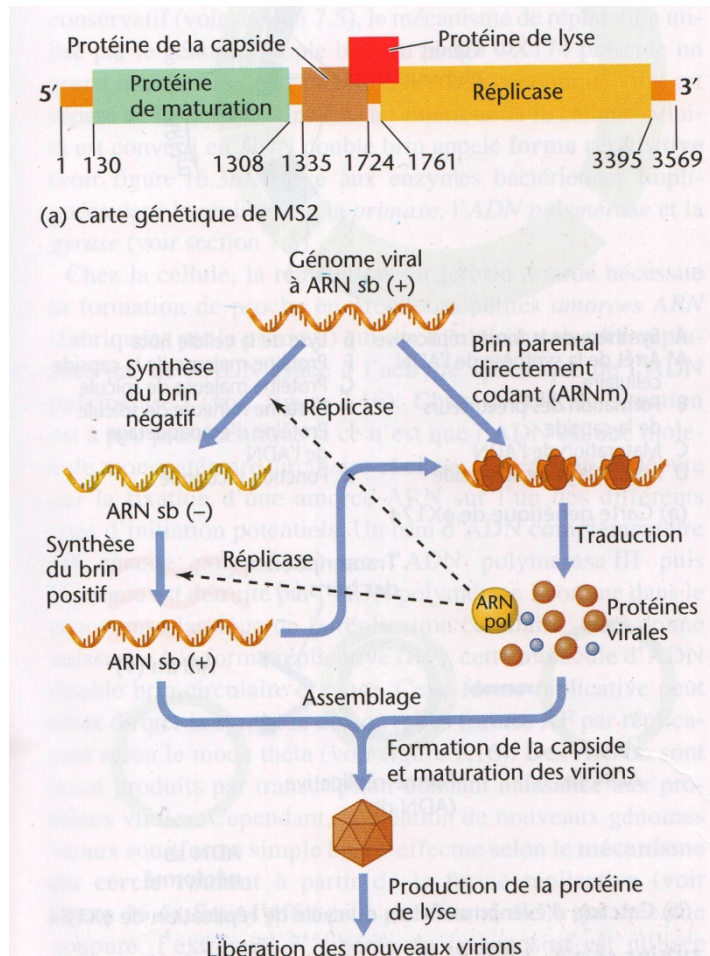


Figure 20: cycle de répliation du phage MS2(Paolozzi et Liébart, 2015).



**Figure 21 : carte génétique et répliation du phage MS2 (Madigan et Martingo, 2007).**

## Le phage Qb

Le bactériophage Qb ou *Qubevirus durum* fait partie de la famille des leviviridae. C'est un petit virus d'environ 25 nm d'épaisseur et un coliphage avec un ARN long de 4217 nucléotides.

### 1- Classification

Royaume:	<i>Orthornavirae</i>
Phylum:	<i>Lenarviricota</i>
Classe:	<i>Leviviricetes</i>
Ordre:	<i>Norzivirales</i>
Famille:	<i>Fiersviridae</i>
Genre:	<i>Qubevirus</i>
Espèce:	<b><i>Qubevirus durum</i></b>

### 2- Structure

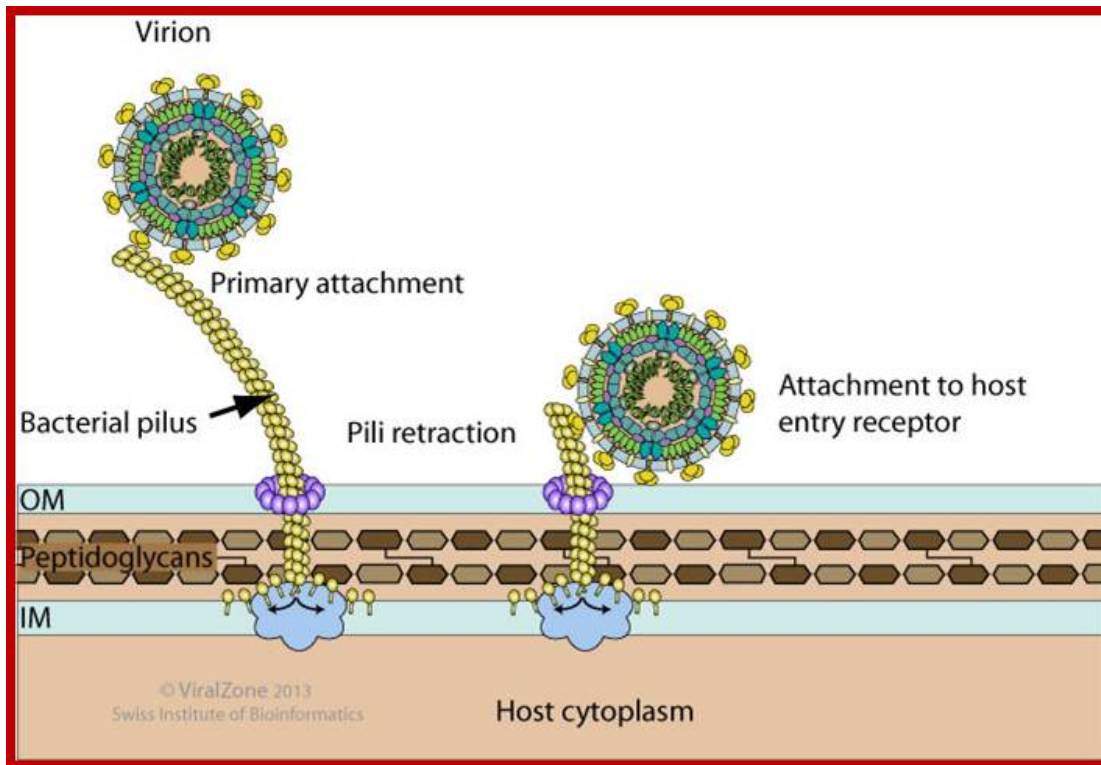
Qb a 20 faces composées chacune de six sous-unités et 12 sommets composés chacun de 5 sous-unités. Les membres de la famille des leviviridae forment des capsides icosaédriques à partir de 180 sous-unités de protéines d'enveloppe autour d'un génome d'ARN à brin sens de 4,2 kb. Chacune de ces protéines d'enveloppe (capsomères) a environ 132 résidus d'acides aminés (**Figure 23**).





**Figure 22: Le phage Qb sous microscopie électronique** (Madigan et Martingo, 2007).

**3- Génome :** le bactériophage Qb est un virus à ARN à brin positif. Les virus à ARN à brin positif ont des génomes qui sont des ARNm fonctionnels. Par exemple, le génome de Qb code pour 4 protéines : A1, A2, CP et qb réplicase. Qb a d'autres protéines comme la sous-unité B d'une réplicase, la protéine de maturation A2 et une protéine mineure A1. La pénétration du virus dans une cellule hôte est rapidement suivie d'une traduction pour produire des RdRps et d'autres protéines virales nécessaires à la production de plus d'ARN viraux. L'ARNsb Qb s'adsorbe aux protéines bactériennes du pili sexuel et infecte.



**Figure 23: fixation et pénétration du phage Q $\beta$**

#### 4- Réplication et expression des génomes

Comme d'autres virus à ARN, Q $\beta$  réplique son génome en utilisant l'ARN polymérase codée viralement (RdRp). Le génome est utilisé comme matrice pour la synthèse d'autres brins d'ARN. Lors de l'infection, la sous-unité B interagit avec les protéines de l'hôte pour former un complexe. Le complexe contient des ARN-hélicases pour dérouler l'ADN et les NTPases qui sont utiles pour la polymérisation. Une fois le complexe formé, la transcription du génome, une copie du génome et des ARNm commence. Tous les phages à ARN à brin positif codent pour une protéine de maturation, dont la fonction est de lier le pilus de l'hôte et l'ARN viral. La protéine de maturation est nommée ainsi, car les mutants ambre de la protéine de maturation sont incapables d'infecter leur hôte ou sont « immatures ». Pour le bactériophage +ssRNA apparenté MS2, il a été démontré que la protéine de maturation était absorbée par l'hôte avec l'ARN viral et que la protéine de maturation était ensuite clivée (**Figure 24**).

Dans le bactériophage MS2, la protéine de maturation est appelée protéine A, car elle appartient au premier cadre de lecture ouvert de l'ARN viral. Dans Q $\beta$ , on pensait initialement que la protéine A était A1, car elle est plus abondante dans le virion et est également

nécessaire à l'infection. A2 est la protéine de maturation pour Q $\beta$  et a un rôle supplémentaire d'être la protéine de lyse.

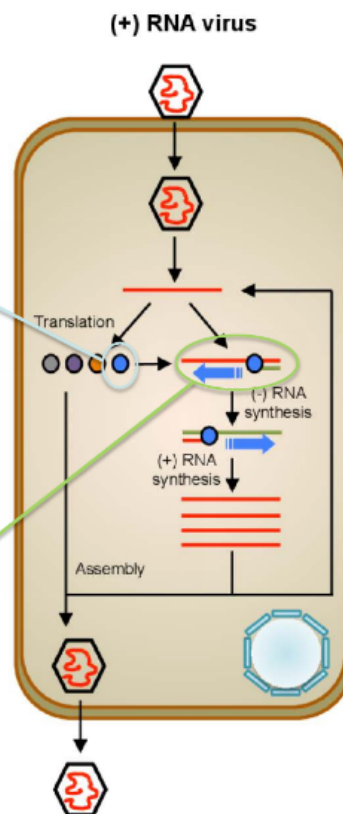
Le mécanisme de la lyse est similaire à celui de la pénicilline ; A2 inhibe la formation de peptidoglycane en se liant à MurA, qui catalyse la première étape enzymatiquement engagée dans la biosynthèse de la paroi cellulaire

• **Chez les virus à ARN sb+:**

Une ARN polymérase-ARN dépendante (RdRp) codée par le génome viral est nécessaire pour répliquer l'ARN génomique

Elle est **synthétisée de novo** dans les premiers stades de l'infection

Elle produit un **ARN-** (forme répliquable) qui sert ensuite de matrice pour la production de nouveaux **ARN+** génomiques



**Figure 24: réplication du phage Q $\beta$**  (file:///D:/Virologie%20-%20Licence%203%20-%20Cycle%20r%C3%A9plicatif%20des%20virus%20%C3%A0%20ADN%20-%20Chapitre%203%20Diversit%C3%A9%20virale%20Diversit%C3%A9%20-%20StuDocu.html#:~:text=Virologie%20%2D%20Licence%203,M.%20Le%20Romancer)

## Bactériophages tempérés P1 et Mu

Une bactérie lysogène vit en équilibre avec son prophage (le génome phagique sous sa forme intégrée au chromosome bactérien).

**1- Nature de la lysogénie :** dans la bactérie lysogène le prophage ne se transforme jamais en phage végétatif sauf exception, il se comporte comme un gène bactérien perdant ainsi ses activités et ses fonctions.

La présence d'une substance cytoplasmique de nature protéique appelé répresseur empêche le phage de s'exprimer et il est réduit en prophage inactif.

Si la cellule ne synthétise pas le répresseur, le phage entre immédiatement en phase végétative.

### 2- Conséquences de la lysogénie : la conversion lysogénique

L'acquisition du caractère lysogène se traduit par l'apparition de nouvelles propriétés phénomène appelé « **conversion** ». Exemple : *Corynebacterium diphtheriae*, une souche de bacille diphtérique non toxigène devient capable de la production de la toxine lorsqu'elle acquiert le caractère lysogène sous l'effet du bactériophage tempéré  $\beta$  car c'est le phage qui porte le gène de la toxine.

Les phages tempérés sont utilisés comme vecteurs dans les manipulations génétiques chez les bactéries.

La conversion lysogénique implique des altérations superficielles de la bactérie ou des propriétés pathogènes. Exemple : ***Salmonella* est infectée par le phage Epsilon**, la structure de **la couche lipopolysaccharidique externe peut-être modifiée**. Le phage change l'activité de certaines enzymes impliquées dans la synthèse de la partie glucidique du lipopolysaccharide et par conséquent les propriétés antigéniques de l'hôte. Ces modifications éliminent les récepteurs superficiels du phage *Epsilon* et ainsi **prévenir l'infection d'une bactérie lysogène par un autre phage Epsilon**.

**Le répresseur** est une chaîne protéique de 236 aa dont une partie est responsable de la fixation à l'ADN.

Dans une bactérie lysogène le répresseur est continuellement synthétisé et se fixe aux opérateurs de droite et de gauche bloquant ainsi l'activité de l'ARN polymérase. Si un autre

phage tente d'infecter la cellule, la synthèse de l'ARNm du nouveau phage sera inhibée, donc l'immunité implique toujours l'activité du répresseur.

### Choix entre lysogénie et lyse

Le phage doit décider de la voie à suivre : la cascade d'évènements conduisant à la lysogénie ou au cycle lytique comprend plusieurs protéines régulatrices qui agissent comme répresseurs ou activateurs ou les deux.

Deux protéines régulatrices ont un rôle très important : le répresseur (produit du gène *cI*) et la protéine Cro (produit du gène *Cro*).

Le répresseur favorise la lysogénie et la protéine Cro favorise le cycle lytique.

Donc il y'a compétition entre les deux protéines.

Si *cI*, le répresseur l'emporte, la production de la protéine Cro est inhibée et la lysogénie survient, si la protéine Cro l'emporte, la production de *CI* est inhibée et le cycle lytique se met en place.

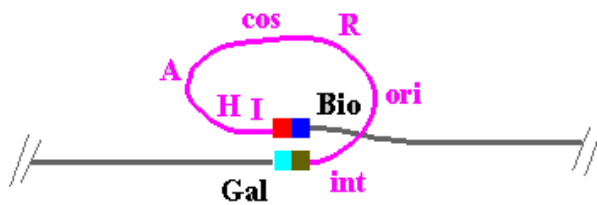
*cI* empêche la transcription des gènes viraux alors que Cro fait exactement l'inverse, elle assure l'expression des gènes viraux.

Le répresseur *cI* se fixe aux deux opérateurs *OL* et *OR* bloquant ainsi la transcription de la plupart des gènes viraux, mais il active également la transcription de *cI*, il contrôle donc sa propre synthèse.

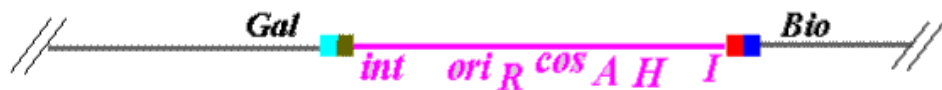
La lysogénie s'établit grâce à l'intégration du génome du phage dans le chromosome de l'hôte. L'intégrase catalyse à une intégration au niveau d'un site d'attachement (*att*), on trouve un site homologue sur le génome phagique, donc les sites *att* bactériens et du phage peuvent s'apparier. Le site *att* bactérien se situe entre les opérons galactose (*gal*) et biotine (*bio*). Le prophage peut rester intégré indéfiniment en étant répliqué lorsque le génome bactérien se réplique.



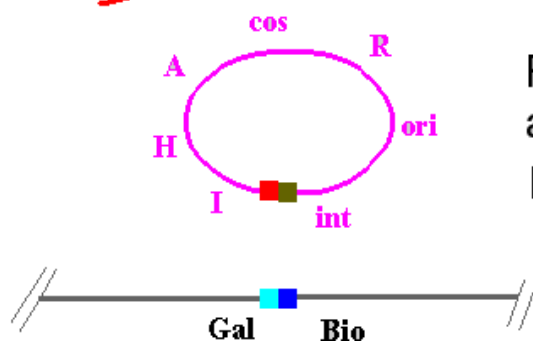
Événement d'intégration  
site spécifique



Soit en représentation "linéaire" :



Événement d'excision  
(normale)



## Le phage tempéré P1 d'*E.coli*

P1 infecte et lysogénise *E. coli* et plusieurs autres bactéries entériques. Son virion consiste en une tête icosaédrique attachée à un sommet à une queue qui porte six fibres de queue entortillées (voir figure ci-dessous). Comme dans le T4, la queue se compose d'un tube de queue et d'une gaine contractile (**Figure 25**). Une partie variable des fibres de la queue détermine la spécificité de l'adsorption de P1 sur différents hôtes.

### 1- Classification :

Ordre : caudovirales

Groupe 1 (bicatenaire)

Famille : myoviridae

Genre : Punalike virus

Espèce : entérobactérie phage 1

### 2- Génome :

La plus part des phages tempérés existent sous forme de prophages intégrés dans les bactéries lysogènes, **mais le phage P1** d'*E.coli* (tête icosaédrique, queue, fibres) est similaire au phage lamda qui **se circularise après l'infection**, et commence à synthétiser du récepteur. Cependant **il reste libre** et il est répliqué en même temps que le chromosome bactérien. Quand *E.coli* se divise l'ADN de P1 est partagé entre les cellules filles qui peuvent porter 1 ou 2 copies du génome phagique.

**Le génome P1** (93 601 pb) contient au **moins 117 gènes**, dont près des deux tiers n'avaient pas été séquencés auparavant et **49** n'ont pas d'homologues dans d'autres organismes. Les gènes codant pour les protéines occupent 92 % du génome et sont organisés en 45 opérons, dont **quatre sont décisifs pour le choix entre lyse et lysogénie**. Quatre autres assurent la maintenance plasmidique. La majorité des **37 opérons** restants sont impliqués dans le développement lytique.

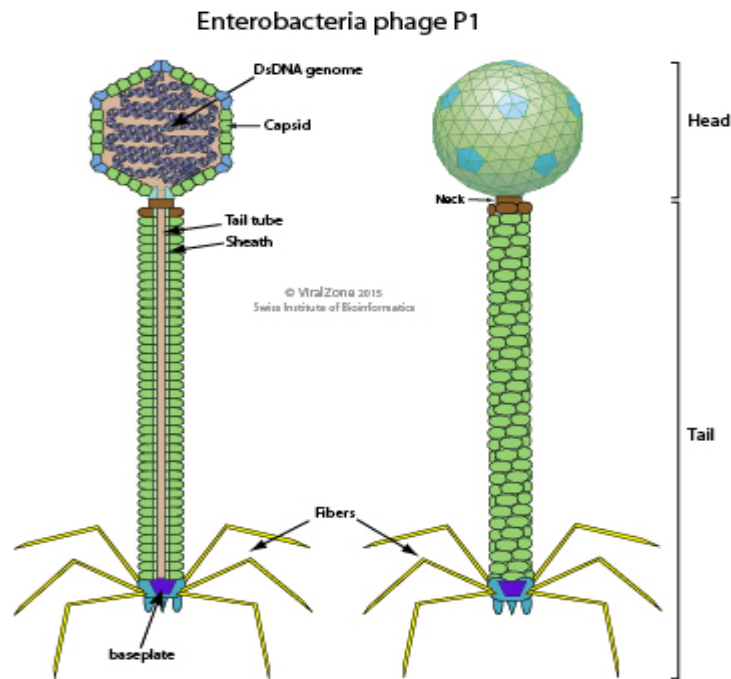


Figure 25: Structure du phage P1([viralzone.expasy.org](http://viralzone.expasy.org) > ...)

Le P1 peut être utilisé pour le transfert de l'ADN d'une cellule à une autre par transduction. Lorsqu'il se réplique au cours du cycle lytique il capture des fragments du chromosome bactérien, les fragments d'ADN capturés peuvent être intégrés dans le génome du nouvel hôte ( génie génétique).

Le phage P1 est "le phage le plus célèbre" pour la réalisation de transductions généralisées sur souches *E. coli*. Le phage P1 est un à ADN double brin circulaire. C'est un phage qui peut donner un cycle productif lytique ou donner une bactérie lysogène.

### 3- Réplication et expression des génomes

A l'état lysogène l'ADN du phage est sous forme double brin circulaire, comme un plasmide (et l'ADN phagique se contente de se multiplier en même temps que la bactérie et "dort"). Pour les expériences de transduction avec P1 on utilise généralement des mutants P1 incapables de lysogénie.

Les gènes P1 exprimés dans la voie lytique sont ceux impliqués dans le timing du développement du phage, dans la réplication (à partir d'une origine « lytique » différente d'oriR), dans la formation des particules de phage, y compris l'encapsidation, et enfin dans la lyse cellulaire pour libérer la descendance phagique.



Les gènes de la voie lytique ont été divisés en précoces et tardifs. La transcription des gènes tardifs nécessite, en plus de l'ARN polymérase bactérienne, une protéine activatrice codée par P1, Lpa, et une protéine associée à l'ARN polymérase d'*E. coli*, SspA

## Le bactériophage Mu

### 1- Classification taxonomique

Règne	Viruses
Embranchement	Vira
Classe	Virus à ADNds
Ordre	Caudovirales
Famille	Myoviridae
Genre	P1-like viruses
Espèce	Bacteriophage Mu

### 2- Structure

Le phage Mu est un phage non enveloppé, avec une tête et une queue. La tête a une structure icosaédrique d'environ 54 nm de largeur. Le cou est en forme de bouton et la queue est contractile avec une plaque basale et six fibres terminales courtes.

### 3- Génome :

Le génome a été entièrement séquencé. L'ADNdb du phage Mu est linéaire, d'environ 40 Ko de longueur et code pour environ 56 gènes. 50 à 150 pb et environ 2 Kb d'ADN bactérien sont respectivement liés de manière covalente à l'extrémité gauche et à l'extrémité droite du génome de Mu. La présence de ces morceaux d'ADN bactérien est due au mécanisme de conditionnement en tête.

### 4- Cycle d'infection

#### 4-1 Adsorption et pénétration

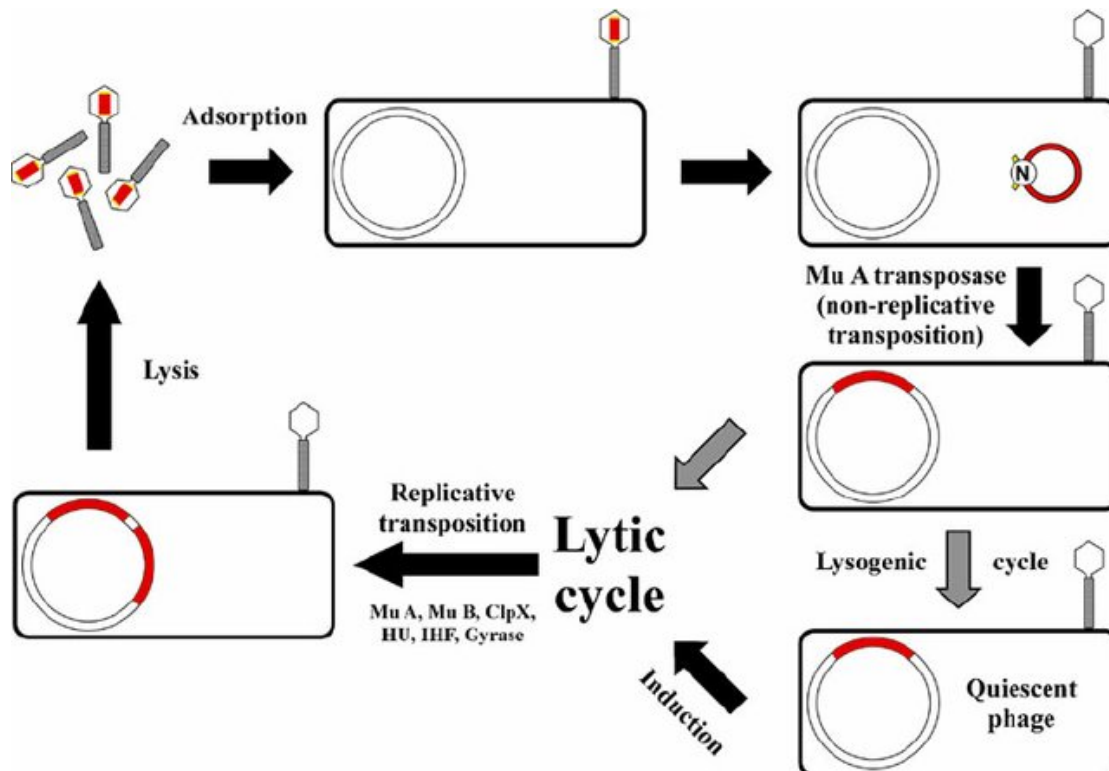
Les fibres du virion se fixent aux lipopolysaccharides de surface de la cellule hôte (LPS), déclenchant ainsi l'infection.

Lors de la liaison à la surface de la cellule hôte, la plaque de base change sa conformation et déclenche la contraction de la gaine, entraînant le tube de queue interne rigide à travers l'enveloppe cellulaire conduisant à l'entrée du génome viral. La protéine N, présente dans le virion, est éjectée avec et se lie à l'ADN viral afin de le circulariser. Les extrémités de l'ADN sont ainsi protégées des nucléases de l'hôte.

**4-2 Réplication :** Le phage Mu est un phage tempéré qui se comporte comme un élément transposable, quelque soit le cycle lytique ou lysogénique. Mu intègre son génome dans celui de la bactérie grâce à sa transposase, même lors de la phase lytique.

Mu se réplique par succession de transposition. Le génome viral présente sur ses deux extrémités de courtes séquences d'ADN de l'hôte et est empaqueté selon le mécanisme dit « tête pleine » suite à la coupure d'une unité génomique. L'intégration se fait par la transposase (gène A) (**Figure 26**).

Mu peut réaliser son cycle lytique dès que l'infection est établie. Si le répresseur C n'est pas produit, ou bien par induction du cycle lytique. Mu se réplique non pas comme une molécule d'ADN indépendante mais en réalisant une succession de transposition en des sites multiples sur le génome de la cellule hôte. Les premiers éléments transcrits sont les gènes précoces.



**Figure 26: Intégration et transposition chez le phage Mu**([microbiologyresearch.org > content > journal > micro](http://microbiologyresearch.org/content/journal/micro))

Il doit y avoir une transcription précoce donnant lieu au moins aux répresseurs Repc et Ner et à la DDE recombinase A (MuA) qui effectue l'intégration. Les séquences bactériennes flanquantes sont coupées du génome viral avant l'intégration.

La sélection des sites de transposition est effectuée par le MuB. Des cycles successifs de transposition réplivative peuvent conduire à environ 100 copies du génome viral.

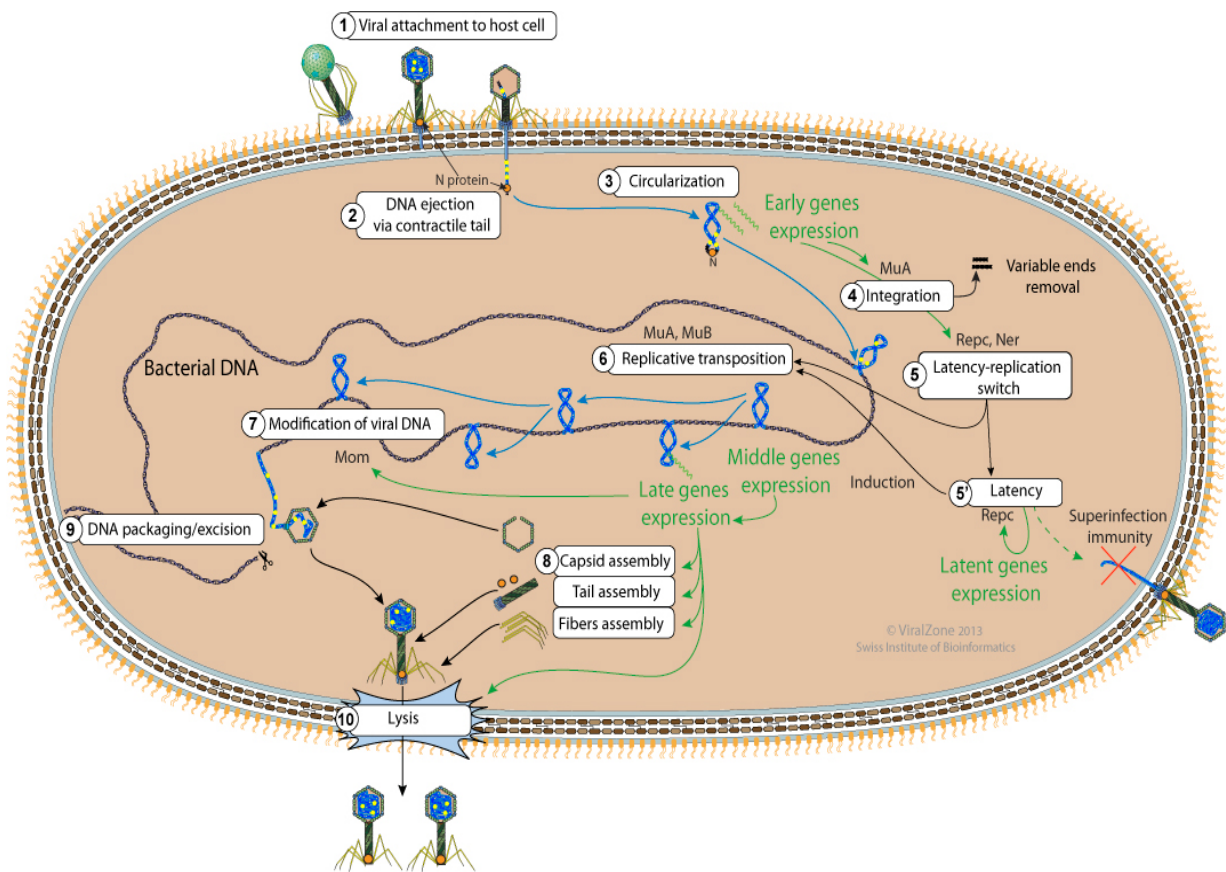


Figure 27 : Cycle infectieux du bactériophage Mu ([viralzone.expasy.org](http://viralzone.expasy.org) > ...)

## Chapitre 2 : Contribution des bactériophages à l'évolution des procaryotes

De nombreuses études ont montré un changement de structures des procaryotes accompagnant l'évolution de l'infection virale.

L'influence des virus sur la diversité génétique des procaryotes peut se faire par différentes voies :

A/ Ils peuvent affecter la composition de la communauté bactérienne selon le modèle du « phage qui tue le meilleur » ou « killing the winner ». En contrôlant les effectifs des groupes les plus abondants, considérés comme les plus compétitifs, ainsi les groupes minoritaires, les moins compétitifs peuvent profiter pour croître (**Figure 31, 32**).

B/ Les virus peuvent également avoir un impact via le transfert de gènes entre organismes :

### 1- La transformation

Elle consiste en une incorporation de l'ADN libre extra cellulaire dans le milieu par une cellule procaryote. Exemple : dans les milieux marins 17% à 30% de l'ADN dissout résulte de la lyse virale.

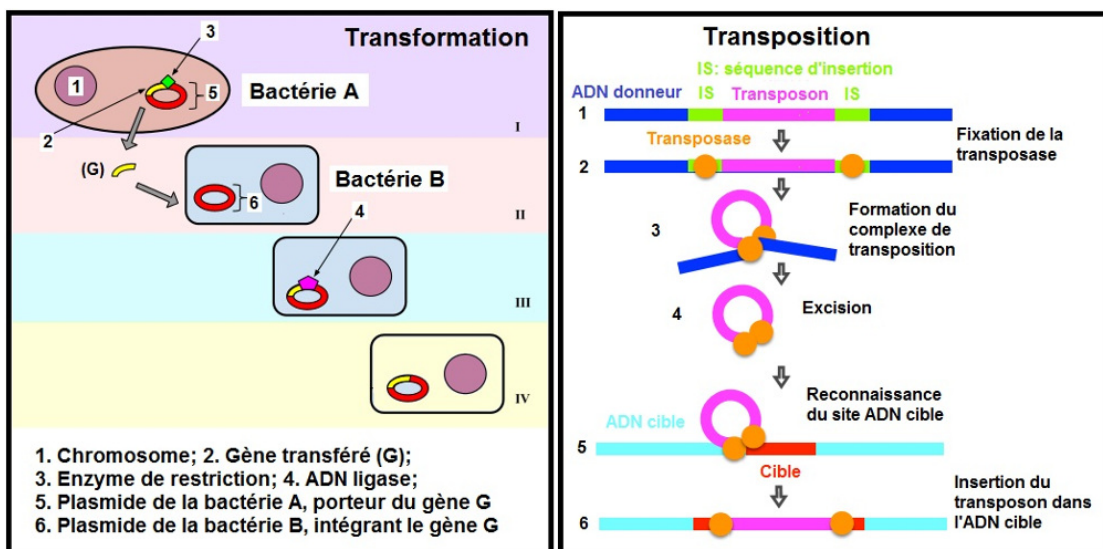


Figure 28: étapes de la transformation et de la transposition (Paolozzi et Liébart, 2015)

## 2- La transduction

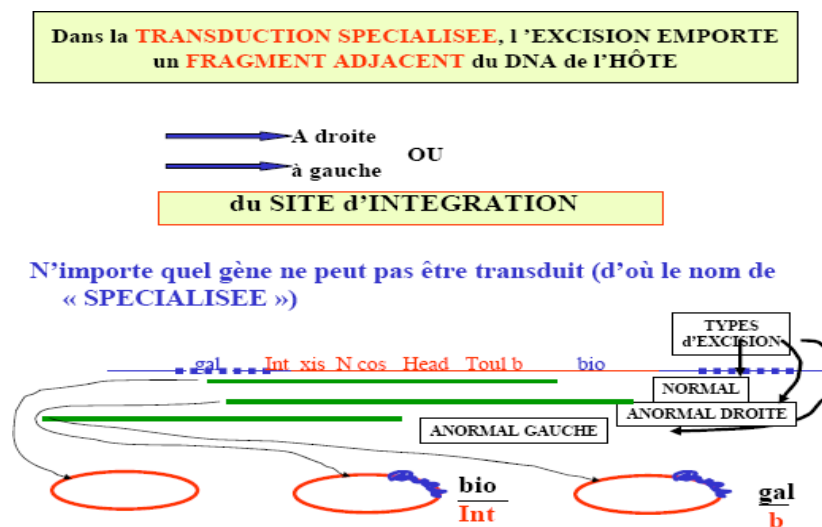
Le transfert d'ADN par transduction est promu par les phages. Ce mécanisme consiste en l'encapsidation d'ADN bactérien dans la capsid virale pouvant être ensuite transféré à une autre cellule par infection. Les bactéries peuvent donc bénéficier de l'acquisition de nouveaux gènes bactériens par ce processus tels que des gènes de résistance aux antibiotiques.

Il existe deux mécanismes de transduction:

La transduction spécialisée et la transduction généralisée.

**2-1 La transduction spécialisée :** est due aux prophages intégrés au sein du chromosome bactérien. Lors de l'excision, il arrive parfois que la recombinaison ne se fasse pas entre les deux sites de recombinaison originels (att) mais entre des sites secondaires (. L'excision imparfaite du prophage peut alors mener à l'encapsidation d'une molécule d'ADN hybride constituée d'ADN phagique et d'un fragment d'ADN bactérien. Ce phénomène ne permet le transfert que de petites quantités d'ADN bactérien. Le fragment ainsi transféré via la particule virale,

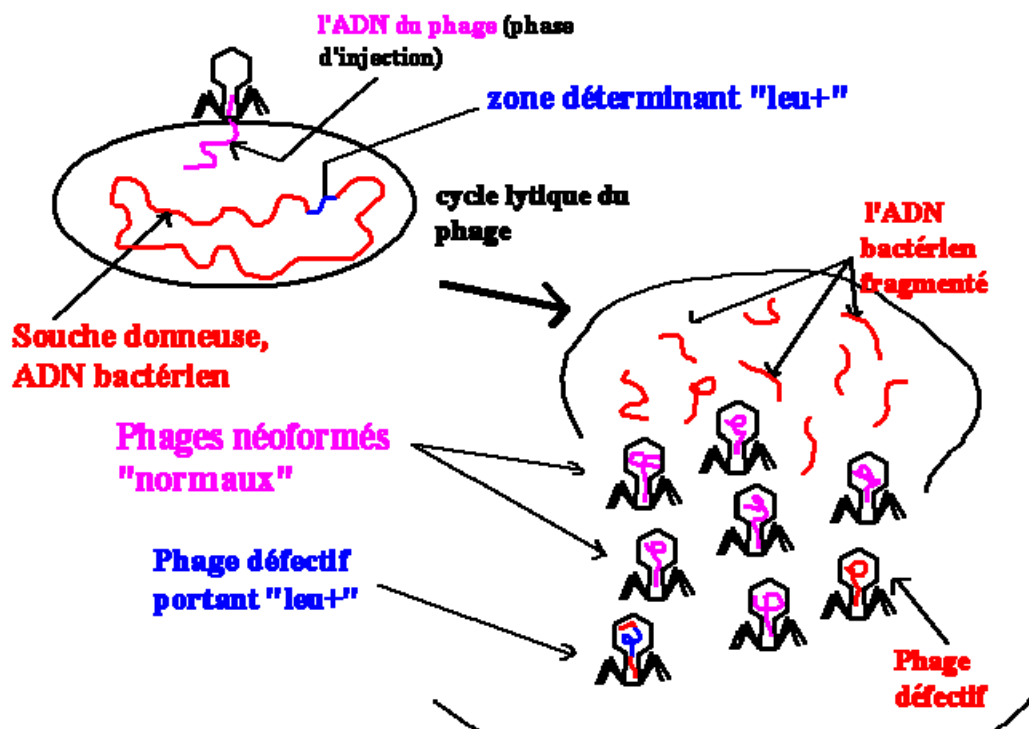
peut intégrer le chromosome de la cellule receveuse par intégration du virus via son intégrase.



**2-2 La transduction généralisée :** résulte d'un empaquetage accidentel de fragments d'ADN exclusivement bactériens dans la capsid du phage. Elle permet donc le transfert de plus

grandes quantités d'ADN hôte (environ 93kb pour le phage P1 par exemple). Ce phénomène ne se produit que pour les phages utilisant un système d'encapsidation à tête pleine (**Figure 29**). Ne dépendant pas de motifs spécifiques d'encapsidation il est possible, lorsque de l'ADN bactérien non circulaire est disponible dans la cellule, d'encapsider aléatoirement certains fragments du chromosome. Jusqu'à 2% des phages peuvent ainsi remplir leur capsid avec de l'ADN bactérien.

L'ADN bactérien pourra alors être transféré à d'autres cellules par infection. L'ADN ainsi injecté peut intégrer le chromosome de la cellule receveuse par recombinaison homologe. Il est important de noter que le taux de particules virales contenant de l'ADN bactérien est relativement faible. La majorité des particules encapside uniquement de l'ADN viral. Néanmoins, ces taux d'encapsidation d'ADN bactérien peuvent varier de manière importante.



**Le lysat phagique est formé d'une très grande majorité de phages "normaux" et d'une petite minorité de phages défectifs potentiellement transductants.**

Figure 29: Transduction généralisée (www.perrin33.com > microbiologie > génétique)





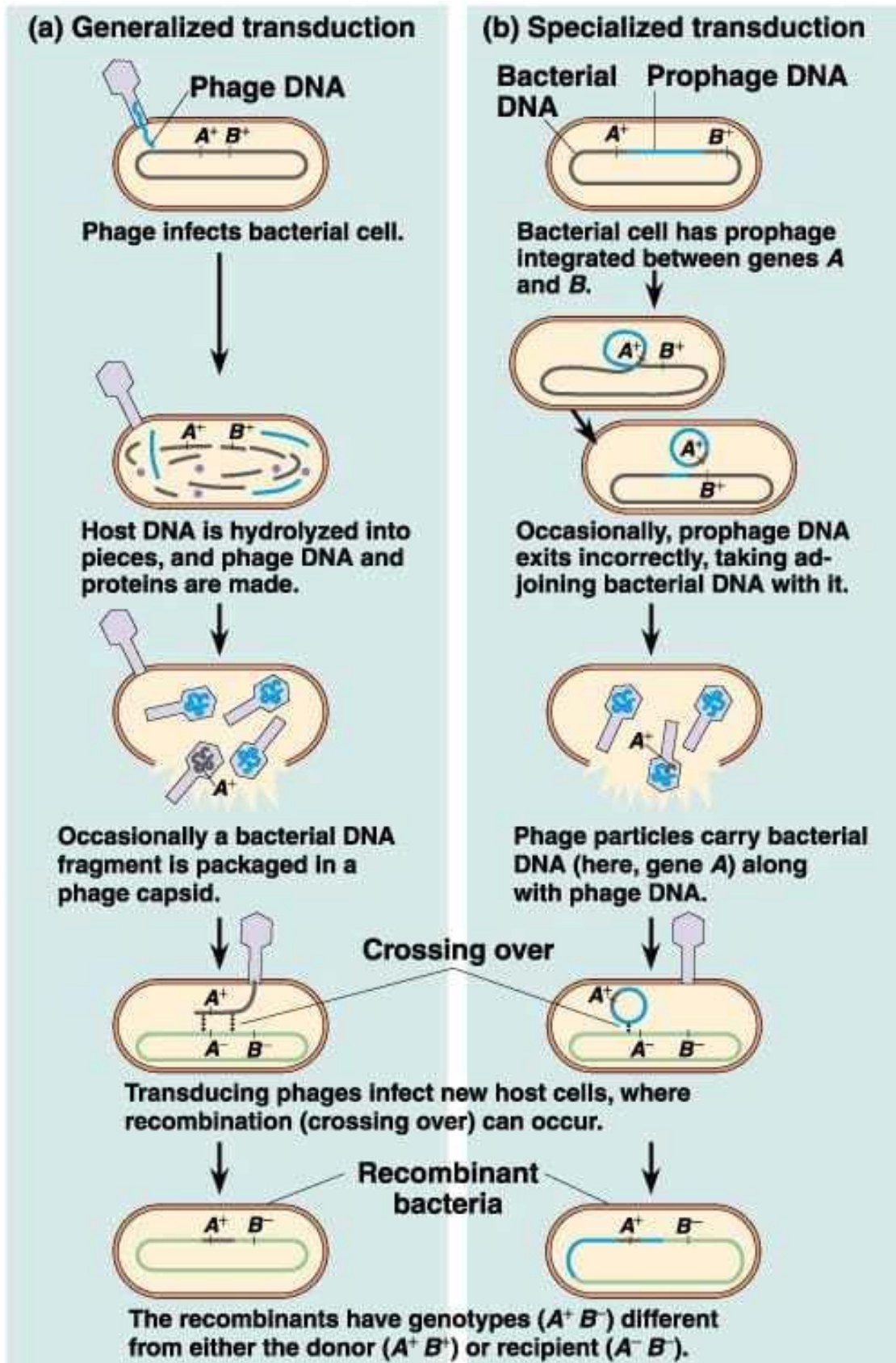


Figure 30 : transduction généralisée et spécialisée (mas.stephanie.free.fr > microbiologie\_bio2 > pw transduction)

### **3- Protection contre la sur-infection (lysogénie)**

La présence d'un prophage confère un avantage direct à la cellule hôte en lui conférant une immunité contre d'autres infections phagiques: le répresseur CI exprimé par le prophage va ainsi bloquer l'induction du cycle lytique par toute infection supplémentaire. Ce mécanisme est essentiel à l'établissement de la lysogénie, car les particules virales étant libérées simultanément par la cellule dans l'environnement, les sur-infections par un même phage sont très fréquentes. La répression agissant par la fixation du répresseur sur les sites opérateurs, ce mécanisme permet de réprimer l'infection par des phages apparentés. Ce mécanisme d'exclusion est aussi qualifié d'homoimmunité. Des mécanismes d'hétéroimmunité, c'est à dire d'exclusion de phages taxonomiquement différents, sont fréquemment observés.

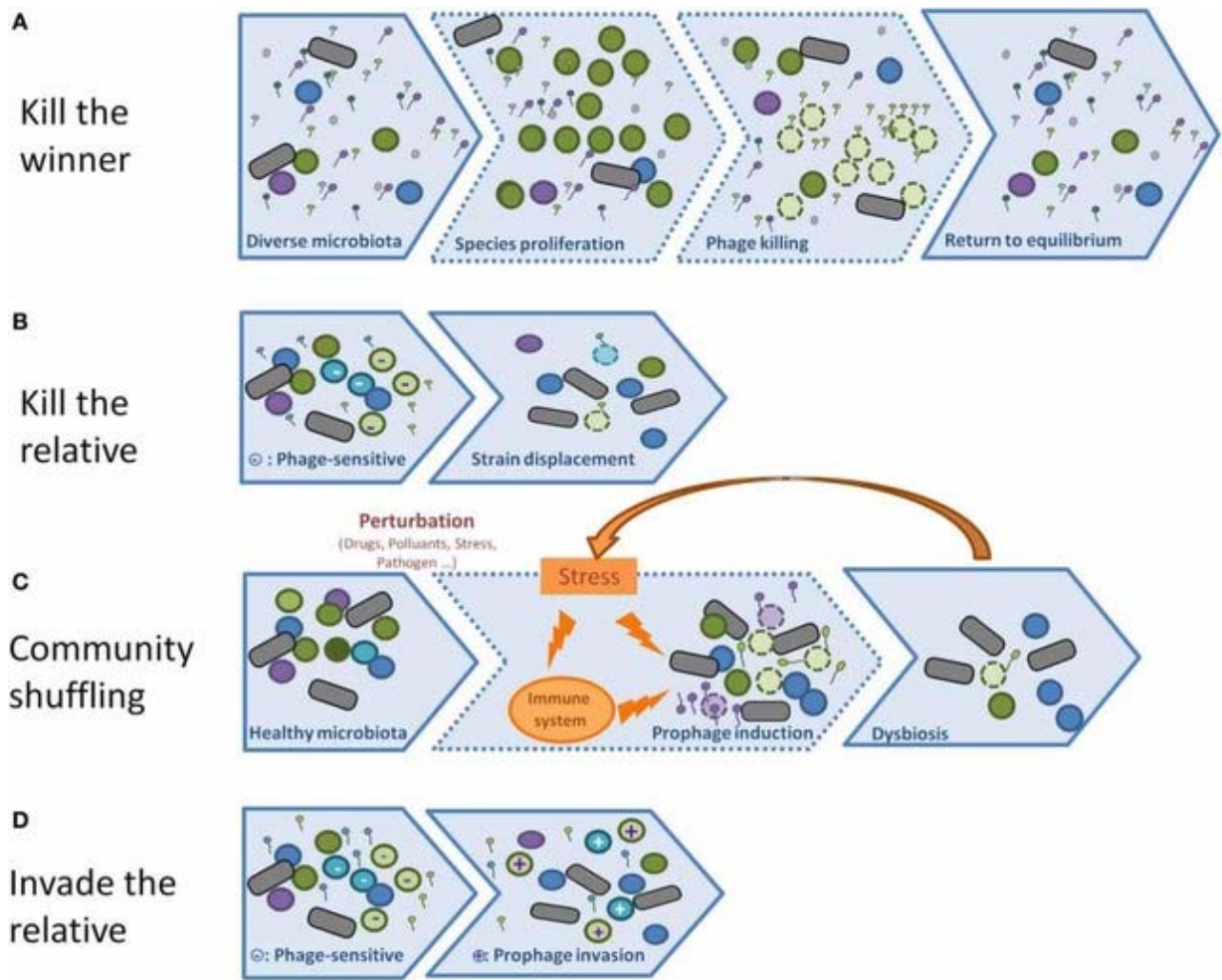
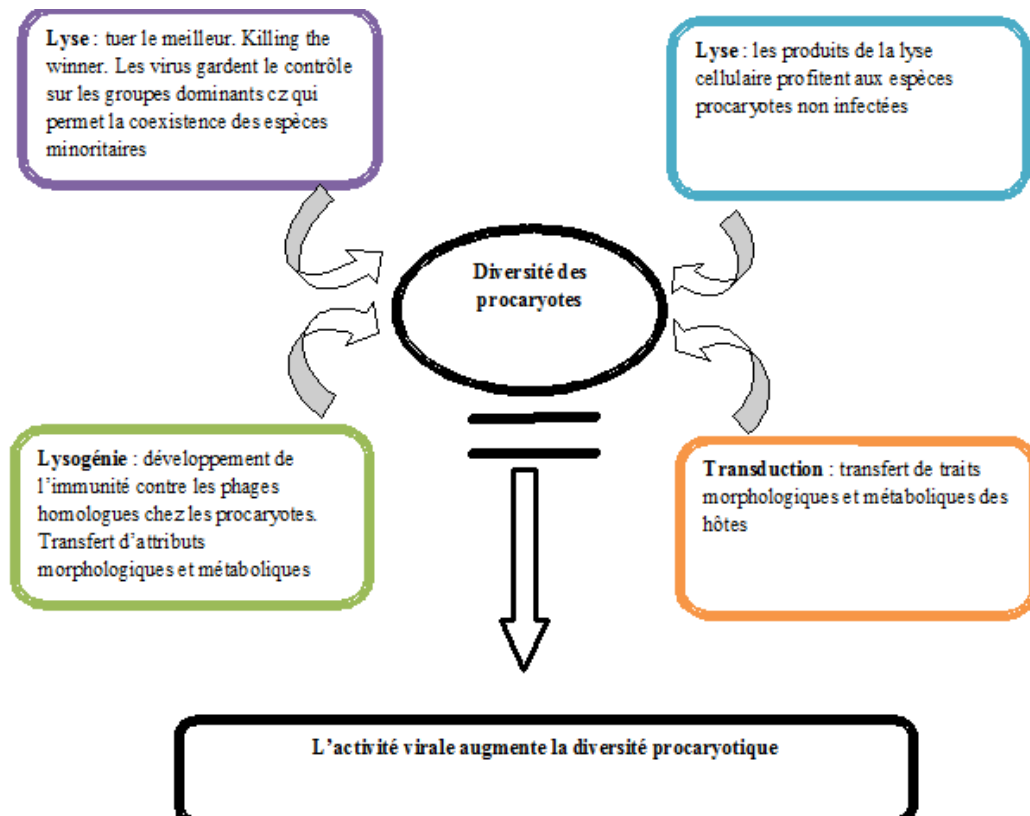


Figure 31 : Différentes théories sur le rôle joué par les bactériophages dans un écosystème ([archipel.uqam.ca](http://archipel.uqam.ca) > .).



**Figure 32 :L'activité virale augmente la diversité procaryotique**

## Références bibliographiques

- 1- Bertrand E, Chartrand P, Schaefer M, Shenoy SM, Singer RH, Long RM (October 1998). "Localization of ASH1 mRNA particles in living yeast". *Molecular Cell*. **2** (4): 437–45. doi:10.1016/S1097-2765(00)80143-4. PMID 9809065.
- 2- Cahill J, Young R. 2019. Phage lysis: multiple genes for multiple barriers. *Adv Virus Res* 103:33–70. doi:10.1016/bs.aivir.2018.09.003. - DOI - PMC - PubMed
- 3- Chamakura KR, Edwards GB, Young R (July 2017). "Mutational analysis of the MS2 lysis protein". *Microbiology*. **163** (7): 961969. doi:10.1099/mic.0.000485. PMC 5775895. PMID 28691656.
- 4- Chamakura KR, Tran JS, Young R (June 2017). "MS2 Lysis of Escherichia coli Depends on Host Chaperone DnaJ". *Journal of Bacteriology*. **199** (12). doi:10.1128/JB.00058-17. PMC 5446614. PMID 28396351.
- 5- Fokine A, Chipman PR, Leiman PG, Mesyanzhinov VV, Rao VB, Rossmann MG. Molecular architecture of the prolate head of bacteriophage T4. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004;101(16):6003–6008.
- 6- Glasgow J, Tullman-Ercek D (July 2014). "Production and applications of engineered viral capsids". *Applied Microbiology and Biotechnology*. **98** (13): 5847–58
- 7- Holt A, Cahill J, Ramsey J, Martin C, O'Leary C, Moreland R, Maddox LT, Galbadage T, Sharan R, Sule P, Cirillo JD, Young R. 2022. Phage-encoded cationic antimicrobial peptide required for lysis. *J Bacteriol* 204:e00214-21. doi:10.1128/JB.00214-21. - DOI - PMC - PubMed
- 8- Kongari R, Rajaure M, Cahill J, Rasche E, Mijalis E, Berry J, Young R. 2018. Phage spanins: diversity, topological dynamics and gene convergence. *BMC Bioinformatics* 19:326. doi:10.1186/s12859-018-2342-8. - DOI - PMC - PubMed

- 9- Leiman PG, Chipman PR, Kostyuchenko VA, Mesyanzhinov VV, Rossmann MG. Three-dimensional rearrangement of proteins in the tail of bacteriophage T4 on infection of its host. *Cell*. 2004;118(4):419–429.
- 10- Leiman PG, Kanamaru S, Mesyanzhinov VV, Arisaka F, Rossmann MG. Structure and morphogenesis of bacteriophage T4. *Cell Mol. Life Sci*. 2003;60(11):2356–2370
- 11- Luciano Paolozzi. Microbiologie. Ed Duno, 2015 Michael Madigan et John Martinko. Biologie des micro-organismes : Chap 16,pp 512-520 Onzième Ed Pearson Education France, 2007
- 12- Zhang X, Studier FW (2004) Multiple roles of T7 RNA polymerase and T7 lysozyme during bacteriophage T7 infection. *J Mol Biol* 340: 707–730
- 13- Symonds N, Toussaint A, Howe M. 1987. Phage Mu. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- 14- Beekwilder, J. *Secondary Structure of the RNA Genome of Bacteriophage Q $\beta$* ; University of Leiden: Leiden, Netherlands, 1996. [[Google Scholar](#)]
- 15- Reuter, J.S.; Mathews, D.H. RNAstructure: Software for RNA secondary structure prediction and analysis. *BMC Bioinform*. 2010, 11, 129. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- 16- Dublanchet A, editor. *Des virus pour combattre les infections*. Favre Ed; 2009. Cycle phagique; pp. 73–7. [[Google Scholar](#)]
- 17- Elizabeth Kutter, Gisela Mosig, Fumio Arisaka, Takashi Kunisawa, and Wolfgang R ger, 2003, Bacteriophage T4 Genome, MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, mars 2003, p. 86–156 Vol. 67, No. 1.
- 18- Michael G Rossmann, Vadim V Mesyanzhinov, Fumio Arisaka and Petr G Leiman, 2004, The bacteriophage T4 DNA injection machine, Current Opinion in Structural Biology 2004, 14:171–180