

## 2\_2 Les phages modèles et leurs propriétés

Bob Blasdel, Ph.D.

Diapositive 1 : la vision pour les phages modèles

Dans les années 1930, inspiré par le livre influent d'Erwin Schrodinger « What is life », Max Delbruck a développé une vision, suffisamment simple pour vraiment comprendre au niveau fondamental le bactériophage comme un système vivant, et ce malgré les outils rudimentaires qui étaient à disposition de son groupe. Selon eux, si nous voulons comprendre la façon dont la vie fonctionne, nous devrions commencer par l'organisme le plus simple possible. Il a donc choisi et renommé sept bactériophages lytiques contre *Escherichia coli* B et les a organisés en une série intitulée de T1 à T7. L'idée centrale était que lui et ses collègues se concentreraient sur la compréhension de la façon dont ces phages fonctionnaient et utiliseraient cette connaissance pour généraliser à *E. coli*, puis à la souris, puis à nous.

Diapositive 2 : ce qui a été accompli

Cette vision du bactériophage, ainsi que le travail des premiers biologistes sur les bactériophages, ont rapidement fourni un fondement mécanistique réorientant radicalement notre compréhension de la vie sur terre. Profitant de la simplicité du bactériophage, ils ont décrit les mutations comme les unités sur lesquelles la sélection naturelle agit, établit l'ADN comme la molécule héréditaire, décrit la nature tripartite des codons dans l'ARNm et en élucidait le dogme central. En effet, c'est cette simplicité microbiologique du cycle de l'infection lytique du bactériophage qui a permis à Luria et Delbruck de démontrer initialement que des mutations génétiques apparaissent en l'absence de sélection plutôt que d'être une réponse à la sélection. De même, c'est cette simplicité de la chimie des particules virales de bactériophages, avec uniquement deux types de molécules pouvant être différemment radiomarquées, qui a permis à Hershey et Chase de démontrer une fois pour toutes que l'ADN est la molécule héréditaire.

Suite à ces efforts, une grande partie du travail qui sous-tend les bases moléculaires de la physiologie bactérienne, de la biochimie, de la génétique, de la génomique, puis de l'ingénierie recombinante a été rendue possible par les expériences déterminantes réalisées suite à la compréhension des systèmes des phages. En effet, bon nombre des outils moléculaires que nous considérons aujourd'hui comme acquis, de la T4 DNA ligase au système d'expression T7, sont dérivés du phage. Grâce au pouvoir extraordinaire désormais mis à disposition par les techniques "-omics", la vision historique du phage de Delbruck comme organisme modèle sous-jacent à la biologie moléculaire, pourrait acquérir une nouvelle pertinence.

Diapositive 3 : Bactériophage T4

Les études du Phage T4 et de ses proches ont apporté d'innombrables contributions à notre compréhension de la génétique moléculaire et de la biochimie. En effet, il a été utilisé comme organisme modèle pour plusieurs des découvertes que je viens de mentionner. Une grande partie de sa valeur vient de la façon dont il substitue complètement l'hydroxyméthylcytosine pour la cytosine (le «C» dans les quatre lettres du code de l'ADN) et puis en glucosylates de manière à rendre son ADN chimiquement

distinct de ses hôtes. Cette distinction chimique permet au phage T4 d'arrêter complètement l'expression des gènes hôtes, en veillant à ce que seuls les gènes du phage soient exprimés.

#### Diapositive 4 : Bactériophage T7

Le phage T7 et ses proches sont, à bien des égards, les plus remarquables pour la simplicité de leur schéma de transcription et l'extraordinaire performance de leur ARN polymérase. En entrant dans la cellule, T7 recrute l'appareil de transcription de son hôte avec des promoteurs sigma 70 puissants afin de transcrire des gènes précoces, y compris sa propre sous-unité d'ARN polymérase, avant d'inactiver l'ARN polymérase hôte. L'ARN polymérase du phage transcrit ensuite des gènes intermédiaires / tardifs à partir de promoteurs spécifiques de phage qui répliquent le génome du phage et construisent des particules virales infectieuses. Le système de transcription parallèle que T7 utilise pour continuer à exprimer ses propres gènes intermédiaires / tardifs tout en supprimant l'expression de l'hôte est la caractéristique de la sous-famille *Autographvirinae* (la source de son nom) et maintenant l'un des outils essentiels en biologie moléculaire. En effet, chaque fois qu'un chercheur veut exprimer une séquence d'ADN donnée sans utiliser les mécanismes de l'hôte qui pourraient avoir des effets secondaires imprévisibles, cette séquence peut être contrôlée par un promoteur T7 qui n'est reconnu que par l'ARN polymérase T7.

#### Diapositive 5 : Bactériophage N4

L'infection par l'Enterobacteriophage N4 progresse en exprimant séquentiellement des gènes de phage en utilisant trois ARN polymérases distinctes, y compris une ARN polymérase associée au virion (vRNAP) empaquetée dans la capsid avec son ADN. L'infection par le phage N4 commence lorsque le phage injecte son vRNAP ainsi qu'une courte séquence d'ADN dans la cellule, celle-ci est ensuite transcrite dans le sens direct en utilisant les facteurs hôtes et le vRNAP, tous deux créant des transcriptions anticipées et tirant le reste du génome du phage dans la cellule. La deuxième ARN polymérase virale (N4 RNAPII, gp15-16), ainsi que deux facteurs de transcription codés par voie virale (gp01-02), sont ensuite exprimés à partir des transcrits précoces et, ensemble, favorisent le mode moyen de transcription impliquant des caractéristiques génétiques associées à la réplication de l'ADN. Cela comprend une protéine de liaison à l'ADN monocaténaire qui interagit avec le facteur sigma70 de l'hôte afin de favoriser la transcription tardive des gènes structuraux et de lyse du phage.

#### Diapositive 6 : Contexte taxonomique

Il est important de garder à l'esprit que l'apprentissage de ces phages modèles ne nous donne pas seulement des informations essentielles sur la structure et la fonction des systèmes vivants en général, car leur simplicité nous permet d'isoler et de comprendre vraiment ces systèmes, mais aussi de nous donner des informations utiles sur la façon dont eux et leurs proches fonctionnent. En effet, chacun de ces trois groupes de phages est actuellement envisagé pour des applications thérapeutiques contre une diversité de bactéries pathogènes Gram négatives importantes, et chacun d'entre eux a des effets environnementaux importants qui méritent d'être compris.