

9.1 Introduction au phage M13

Diapositive nr. et contenu :

1) Pour comprendre le système *phage display*, je vais vous présenter le phage M13, qui est le phage le plus couramment utilisé dans les systèmes de *phage display*.

2) M13 est un phage filamenteux F-spécifique, qui utilise *E. coli* comme hôte.

2.1 Ce qui est typique pour les phages F-spécifiques est qu'ils infectent leurs hôtes en utilisant les pilus-F de l'hôte. Cette longue structure rétractable et extensible est habituellement utilisée pour la fixation et le rapprochement des autres bactéries dans un processus appelé conjugaison. Il est présent uniquement dans les *E. coli* contenant un plasmide de fertilité, également appelé plasmide F.

2.2 Cependant, dans ce cas, le phage va en tirer profit en l'utilisant comme point de fixation pour l'infection. Ici, vous pouvez voir comment un phage filamenteux comme M13 s'attache à ce pilus.

2.3 Vous pouvez également observer la raison pour laquelle ils s'appellent phages filamenteux. Comme ces phages se présentent comme de longs filaments flexibles.

3) Les filaments des phages ont un diamètre de 7 nm et une longueur d'environ 900 nm. Ils sont constitués d'un manchon protéique qui encapsule le matériel d'ADN. Ce manchon est constitué de 5 protéines différentes.

3.1 La plus abondante est la protéine du gène 8. Environ 2800 de ces protéines sont présentes tout au long de ce filament. Ensemble, elles couvrent presque tout le génome du phage et donc le protègent de l'environnement. Les deux extrémités du filament sont flanquées chacune de différents ensembles de protéines.

3.2 A l'extrémité distale, les protéines du gène 7 et du gène 9 peuvent être observées. Celles-ci sont essentielles lorsque de nouveaux virions filamenteux sont formés au cours de l'infection. Ils reconnaissent l'ADN du phage et initient son empaquetage.

3.3 À l'extrémité proximale, le gène 6 et les protéines du gène 3 sont présents. Alors que la protéine du gène 6 fournit principalement la stabilité structurale du virion, la protéine du gène 3 est plus exposée et est nécessaire à l'interaction avec le pilus-F des cellules cibles. Il aide également à libérer des virions nouvellement formés de la cellule.

3.4 Les virions contiennent tout le génome du phage sous une forme monocaténaire. Ce petit génome d'environ 6400 paires de bases code tous les gènes nécessaires à une infection réussie.

3.5 Outre les protéines structurales dont on vient de discuter, ils codent également les protéines requises pour la réplication de l'ADN et l'assemblage du virion. En outre, il contient une région intergénique ne codant pas pour des protéines. Cependant, il contient 2 origines de réplifications (*ori*), une pour chaque direction possible de réplication. Ceux-ci sont requis pour la réplication du génome. Il contient également un signal d'empaquetage, qui est reconnu par le complexe de protéines du gène 7 et 9 pour lancer l'empaquetage.

Maintenant que vous savez à quoi ressemble un filament, nous allons entrer plus en détail sur la façon dont ces filaments sont formés.

4) Lors d'une infection par M13, de nouveaux virions sont formés. Une représentation d'une telle infection est montrée ici.

4.1 Comme mentionné précédemment, les filaments du phage M13 ne peuvent infecter que *E. coli* qui a un pilus-F. En effet, ils ont besoin de la reconnaissance de ce pilus et d'entrer dans l'hôte. Dans un premier temps, un filament M13 reconnaît et lie le pilus par la protéine du gène 3 exposé. Lorsque le pilus se rétracte, le phage est entraîné vers la surface de la cellule et peut entrer dans l'hôte. Au cours de cette entrée, le manchon est désassemblé et l'ADN monocaténaire entre dans la cellule.

4.2 Une fois à l'intérieur, l'ADN devient double brins grâce à des enzymes de l'hôte. Le génome est ensuite répliqué afin de former de nouvelles copies. Ces copies sont utilisées à la fois pour l'expression des gènes codés et pour la formation de copies supplémentaires du génome.

4.3 Une fois que les protéines de phage et les nouvelles copies génomiques sont présentes, de nouvelles particules virales seront formées. Les copies d'ADN nouvellement formées sont protégées par la protéine du gène 5 jusqu'à ce que le signal d'empaquetage soit reconnu par les protéines des gènes 7 et 9. Ceci initie l'empaquetage du génome du phage en démarrant de l'extrémité distale dans un complexe de membrane constitué de diverses protéines de phage.

4.4 De nouveaux filaments de phage sont éventuellement libérés dans l'environnement à travers ce complexe de membrane. Ce processus ne tue pas la cellule hôte, mais il s'agit plutôt d'une infection chronique permettant une perte continue de nouvelles particules de phage. Ces particules de phage peuvent alors infecter d'autres hôtes dans l'environnement. Par conséquent, un seul phage peut s'amplifier jusqu'à atteindre des quantités élevées.

La faible complexité, la facilité d'amplification et les protéines exposées de ce phage le rendent idéal pour le développement d'un système *phage display*. Cela sera abordé dans la partie 2.