



**HAL**  
open science

## Caractérisation d' un mécanisme de défense chez *Propionibacterium freudenreichii* pour résister à l'infection de phages filamenteux

Noël Grosset, Sandrine Parayre, Frank Oechslin, Sylvain Moineau, Michel  
Gautier, Eric Guédon

### ► To cite this version:

Noël Grosset, Sandrine Parayre, Frank Oechslin, Sylvain Moineau, Michel Gautier, et al.. Caractérisation d' un mécanisme de défense chez *Propionibacterium freudenreichii* pour résister à l'infection de phages filamenteux. 24e édition du Congrès du Club des Bactéries Lactiques (CBL), La Société Française de Microbiologie (SFM), Jun 2024, Dijon, France. hal-04619674

**HAL Id: hal-04619674**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04619674>**

Submitted on 21 Jun 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

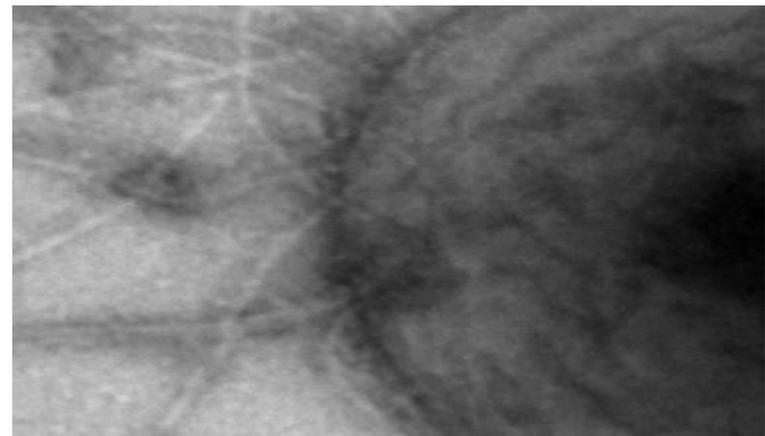
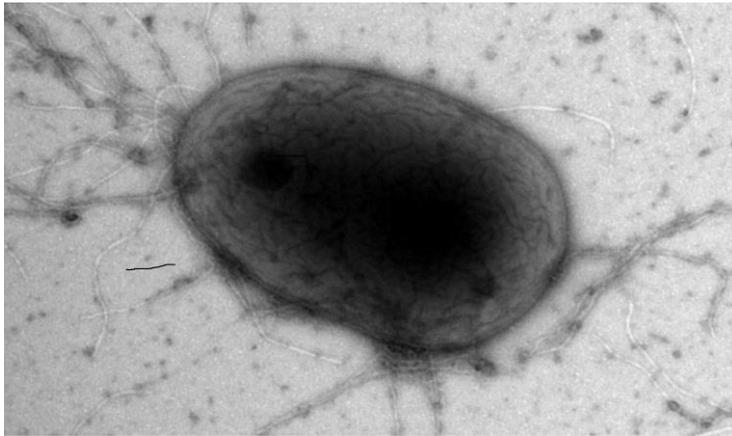


Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

---

# Caractérisation d'un mécanisme de défense chez *Propionibacterium freudenreichii* pour résister à l'infection de phages filamenteux

---



Noël Grosset<sup>1</sup>, Sandrine Parayre<sup>1</sup>, Frank Oechslin<sup>2</sup>, Sylvain Moineau<sup>2</sup>, Éric Guédon<sup>1</sup> & Michel Gautier<sup>1</sup>



UNIVERSITÉ  
LAVAL

<sup>1</sup>UMR STLO, INRAE, Institut Agro, Rennes, France

<sup>2</sup>Département de biochimie, de microbiologie et de bio-informatique. Faculté des sciences et de génie. Université Laval, Québec, Canada.

# Les phages filamenteux

Très bien caractérisés chez les bactéries Gram – ( M13 – *E. coli* )

Chez les bactéries à **Gram +**, il n'y a que 2 études portant sur les phages filamenteux et plus précisément chez ***Propionibacterium freudenreichii (Pf)***

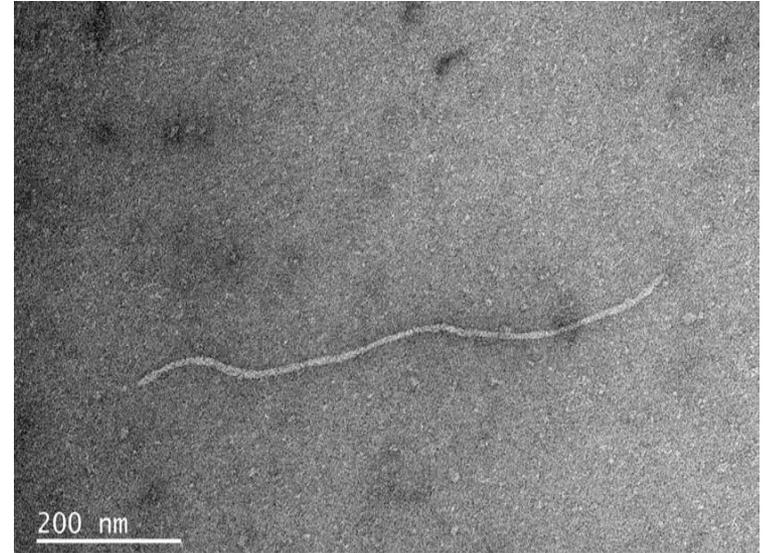
- La 1ère sur la caractérisation **du 1er phage filamenteux B5** découvert en 1998 par notre laboratoire [1]

- La 2nde sur la diversité de 9 phages filamenteux appartenant à la même famille que le phage B5, isolés de fromageries différentes [2]

Etude de la biologie de ces phages filamenteux et des interactions avec *Propionibacterium freudenreichii* : **Caractérisation d'un mécanisme de défense**

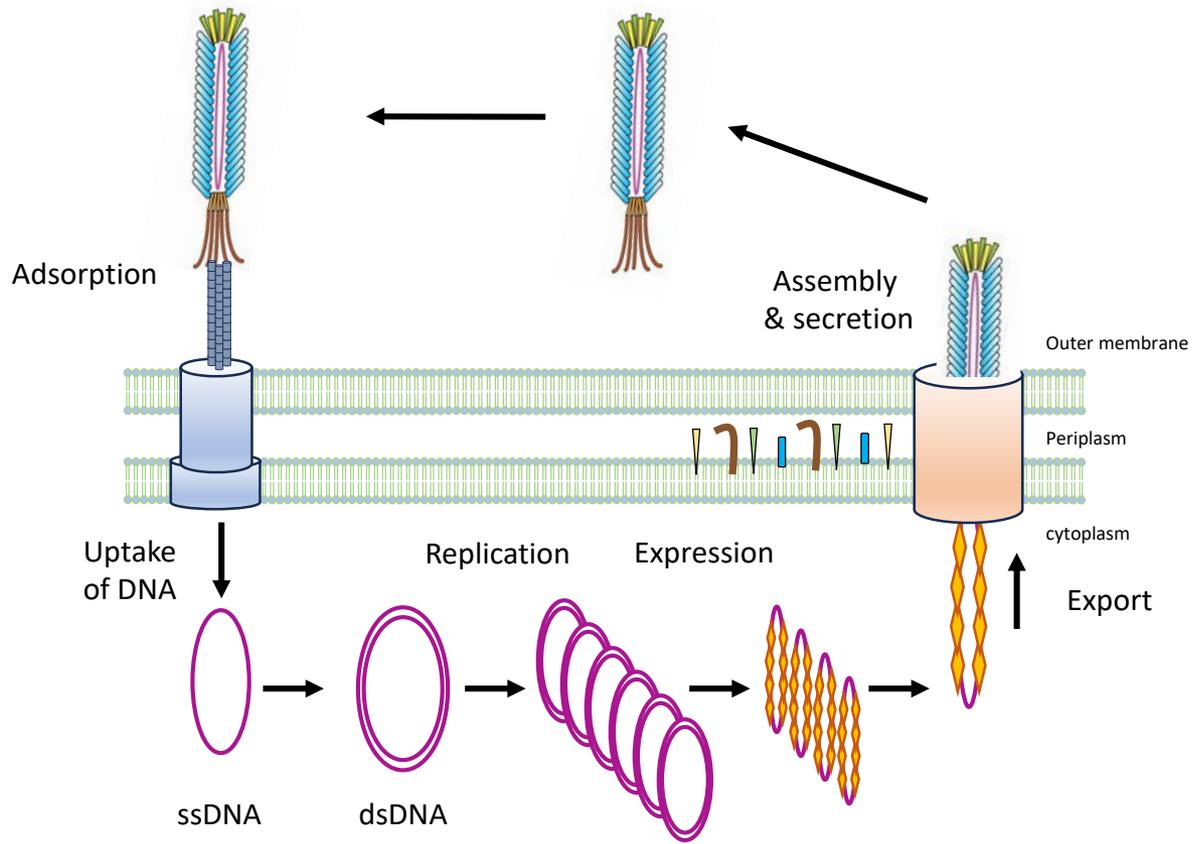
## Le phage filamenteux B5

- ✓ Filament couvert d'un manteau de protéines (6 kDa)
- ✓ Une taille approximative de 620 nm de long et de 12 nm de diamètre
- ✓ Un génome de 5,8 Kb, dont l'organisation est similaire à celle du phage M13
- ✓ Un ADN simple brin codant 13 gènes



Observation au MET du phage B5 sur un gradient de chlorure de césium et coloré négativement avec de l'acétate d'uranyle à 2% ( plateforme MRIC Rennes)

# Cycle de vie du phage filamenteux M13

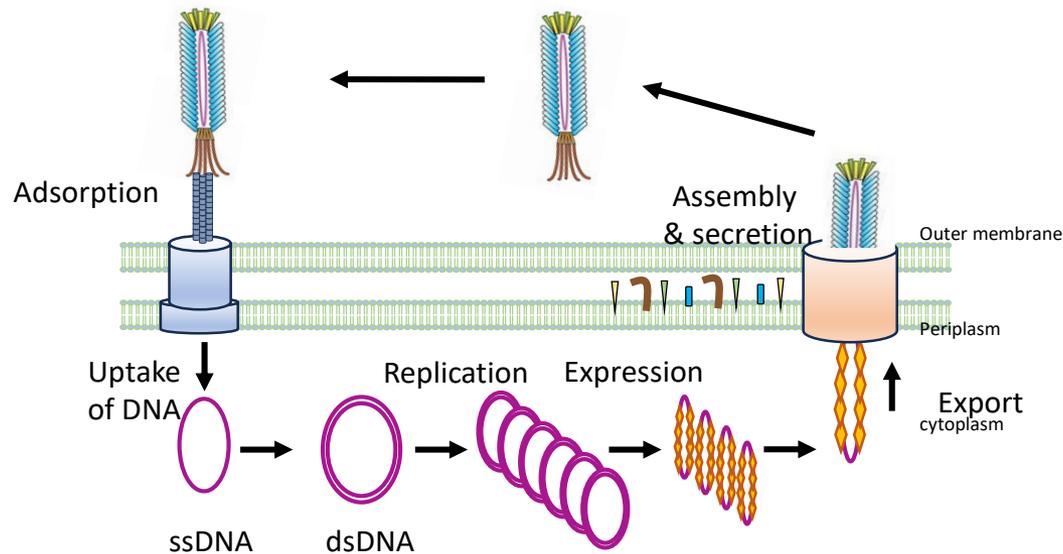


Le cycle de vie du phage B5 serait similaire à celui du phage M13

# Mécanisme de défense au phage B5 chez *Pf*

- Existe-t-il des mécanismes de défense chez *Pf*?

- Si oui, à quel stade de l'infection la résistance opère-t-elle au niveau du cycle de vie?



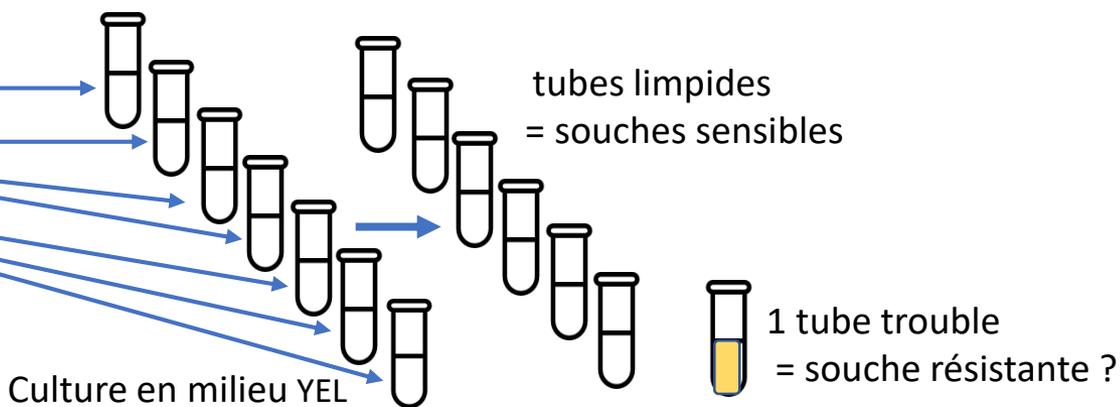
# Isolement de variants résistants après l'infection d'une souche sensible (434 WT) par le phage B5

Test d'infection souche **sensible 434 WT** –  
**phage B5** à différentes concentrations en  
milieu YELA



Plages de lyse = souche sensible

Après incubation 30°C-72h

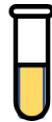


Un variant 434 M isolé

# Confirmation de la résistance du variant 434 M

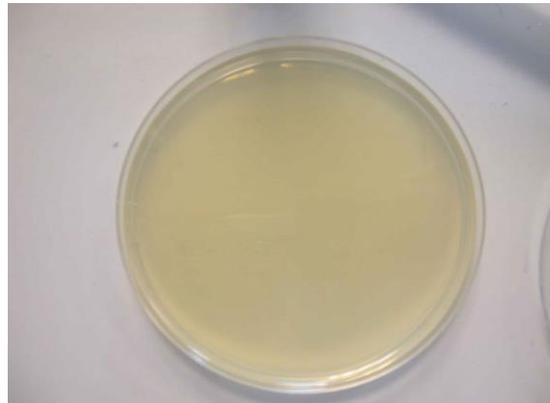
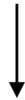
Test d'infection du variant 434 M par phage B5

Variant  
434 M



+

Phage  
B5



Pas de plaque de lyse

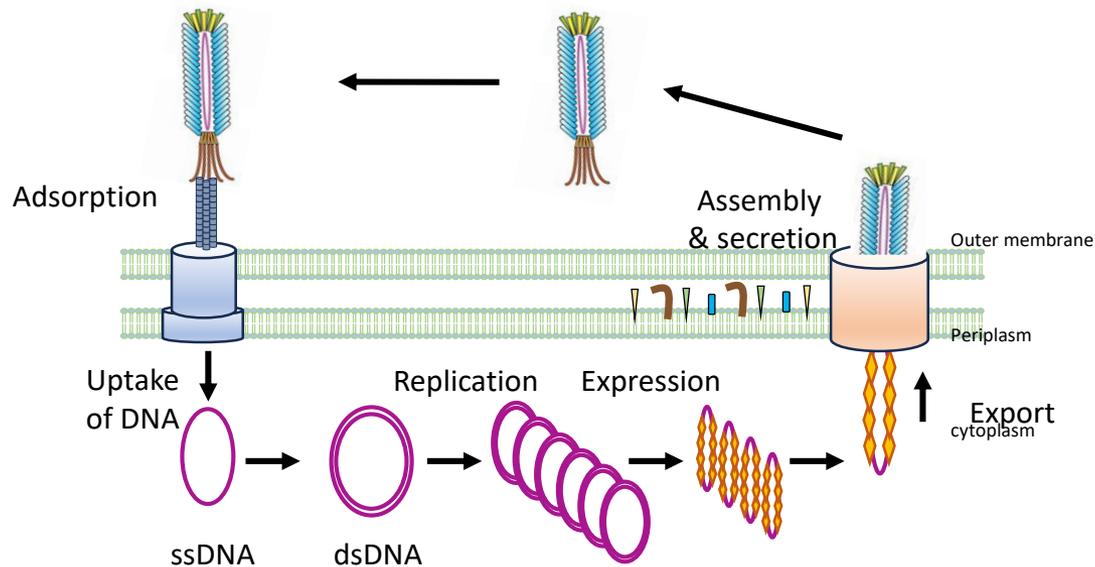
Il existe bien un mécanisme de résistance chez *Pf*

# Mécanisme de défense au phage B5 chez *Pf*

- Il existe un mécanisme de défense chez *Pf*

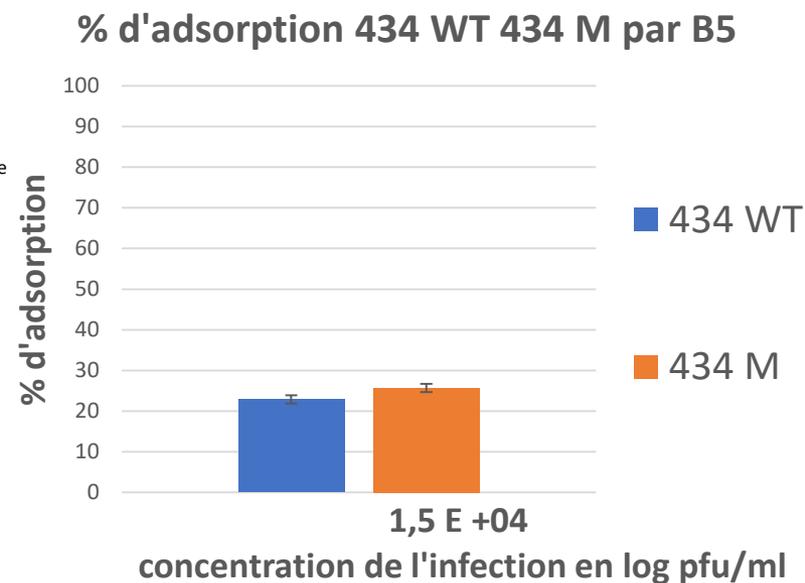
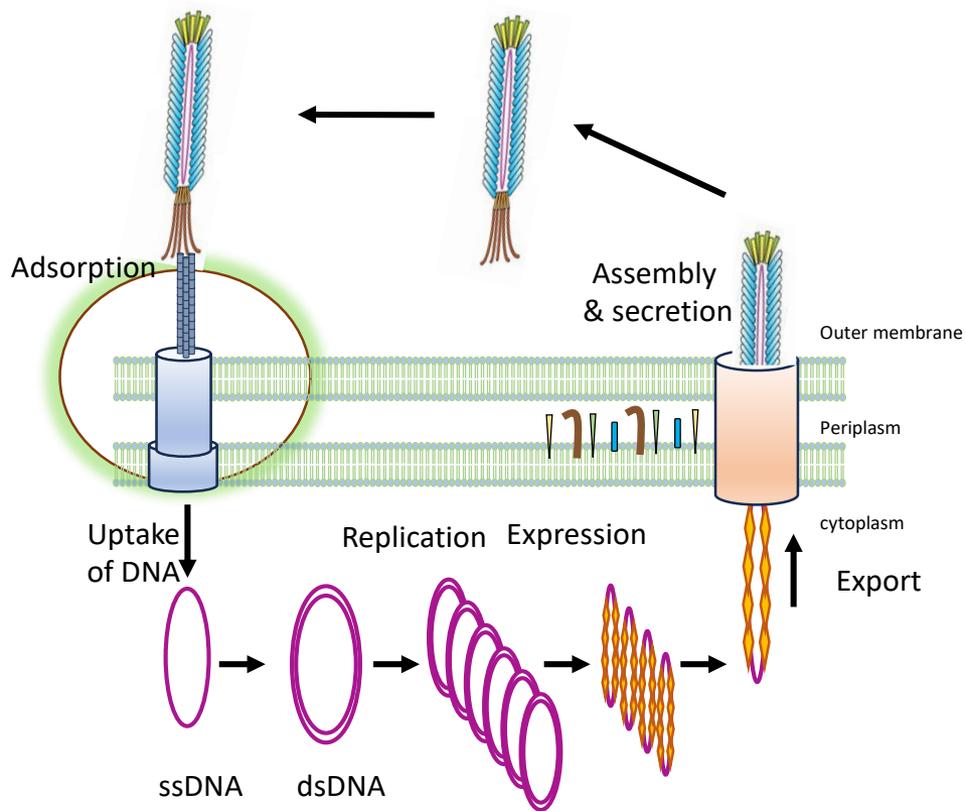


- A quel stade de l'infection la résistance opère-t-elle au niveau du cycle de vie?



# Le phage B5 est-il capable de s'adsorber sur le variant résistant 434 M?

✓ Test d'adsorption du phage B5 sur 434 WT et variant 434 M

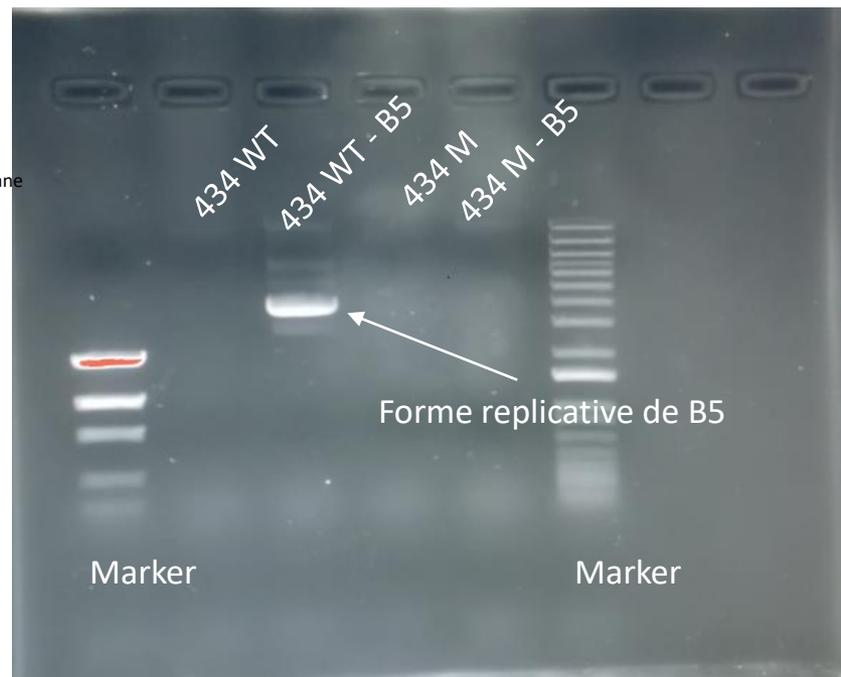
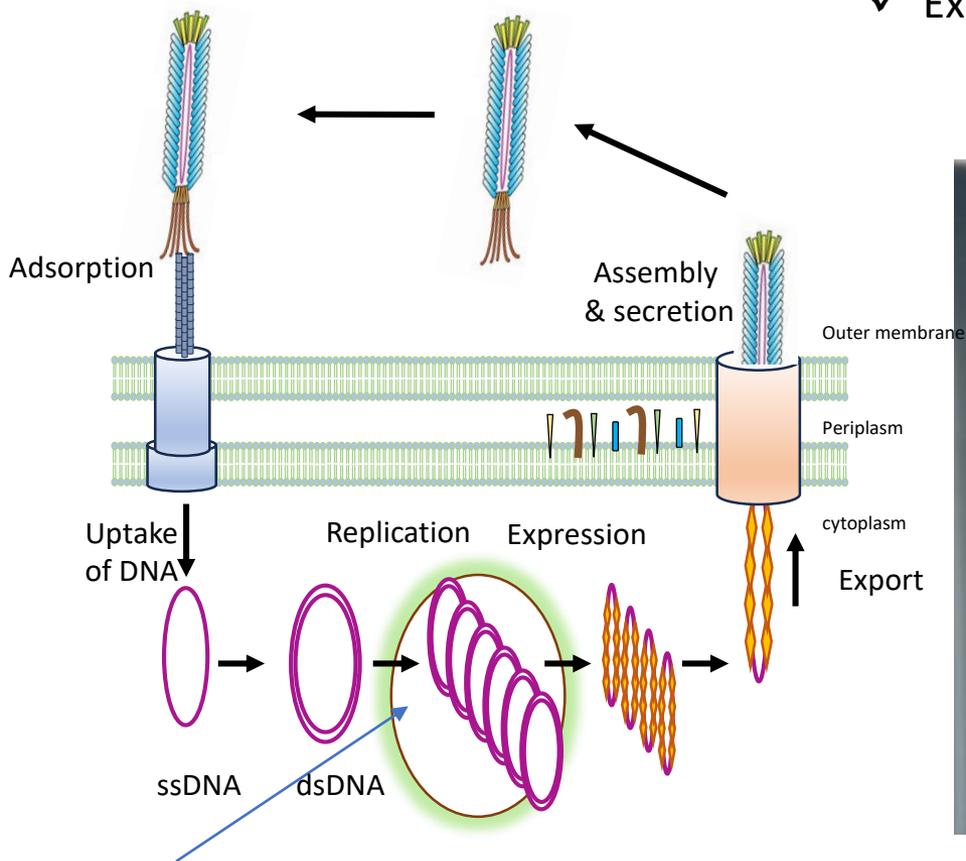


Même taux d'adsorption du phage sur 434 WT et variant 434 M

Le mécanisme de résistance n'implique pas un défaut d'adsorption

# Le variant résistant 434 M permet-il la réplication de l' ADN du phage B5?

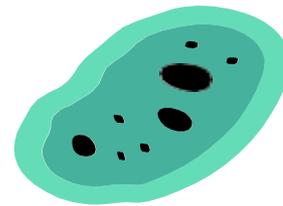
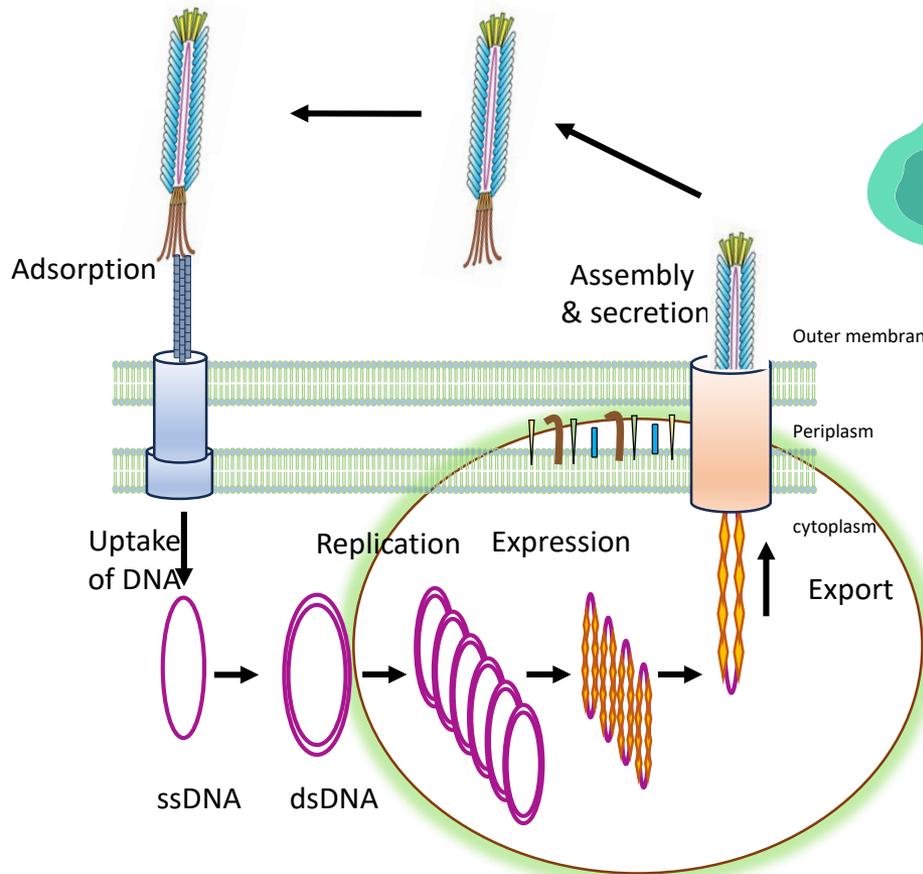
✓ Extraction de la forme répliquative du phage B5



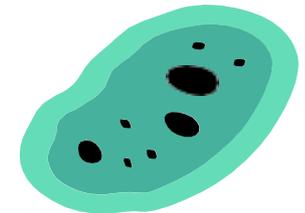
Absence de forme répliquative du phage B5 dans le variant 434 M

# Est-ce que le phage B5 se réplique dans le variant 434 M?

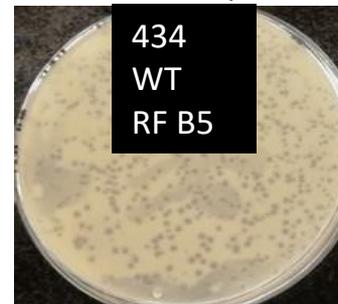
✓ Electroporation de la forme répliquative (RF) du phage B5



Forme répliquative phage B5

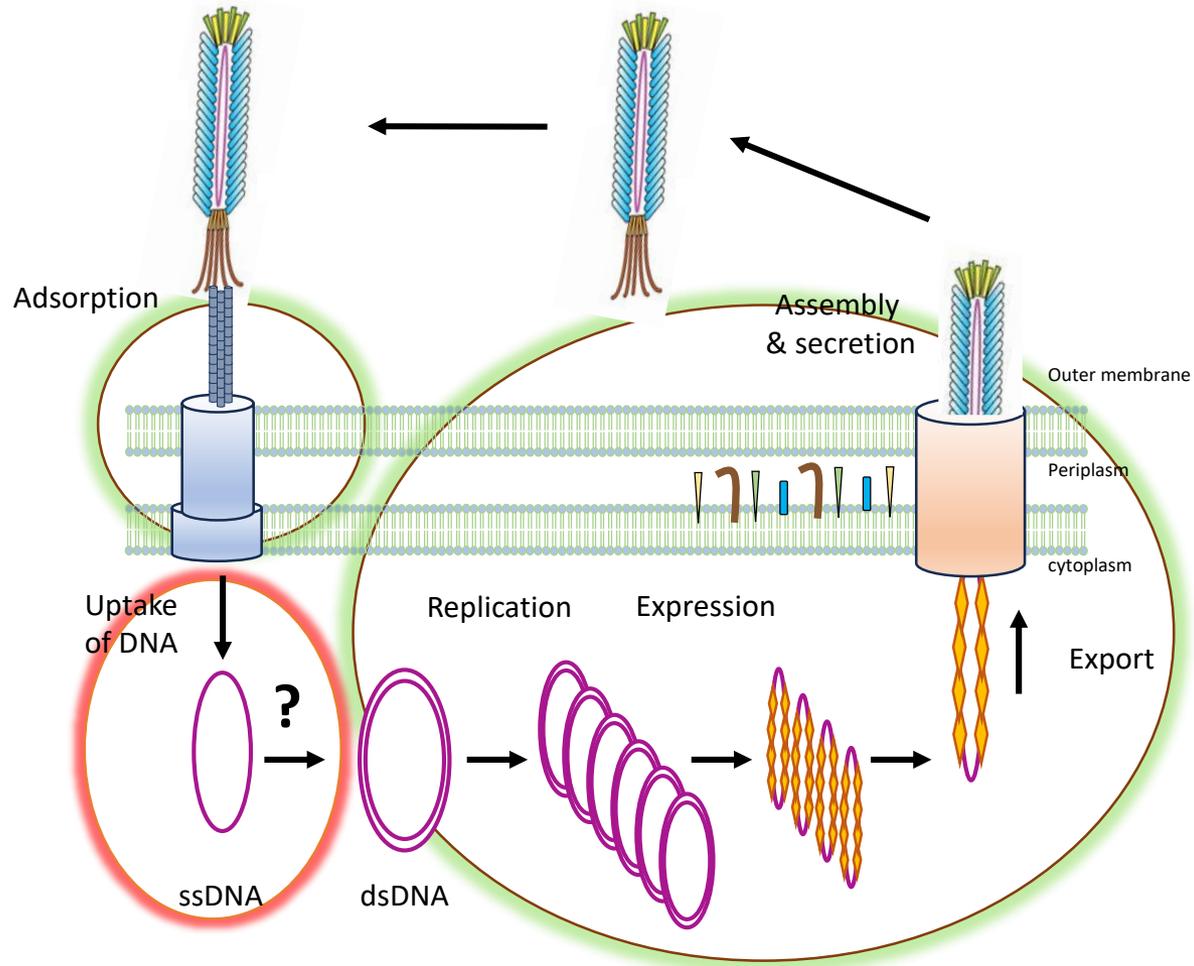


Après Incubation 30°C 72H



La forme répliquative de B5 se multiplie bien dans le variant résistant 434 M

# Première conclusion: A quel stade de l'infection, la résistance opère-t-elle ?

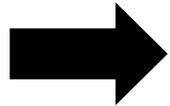


Passage de l'ADN au niveau de la membrane bloqué ?

- ❑ recherche d'une mutation pouvant expliquer la résistance



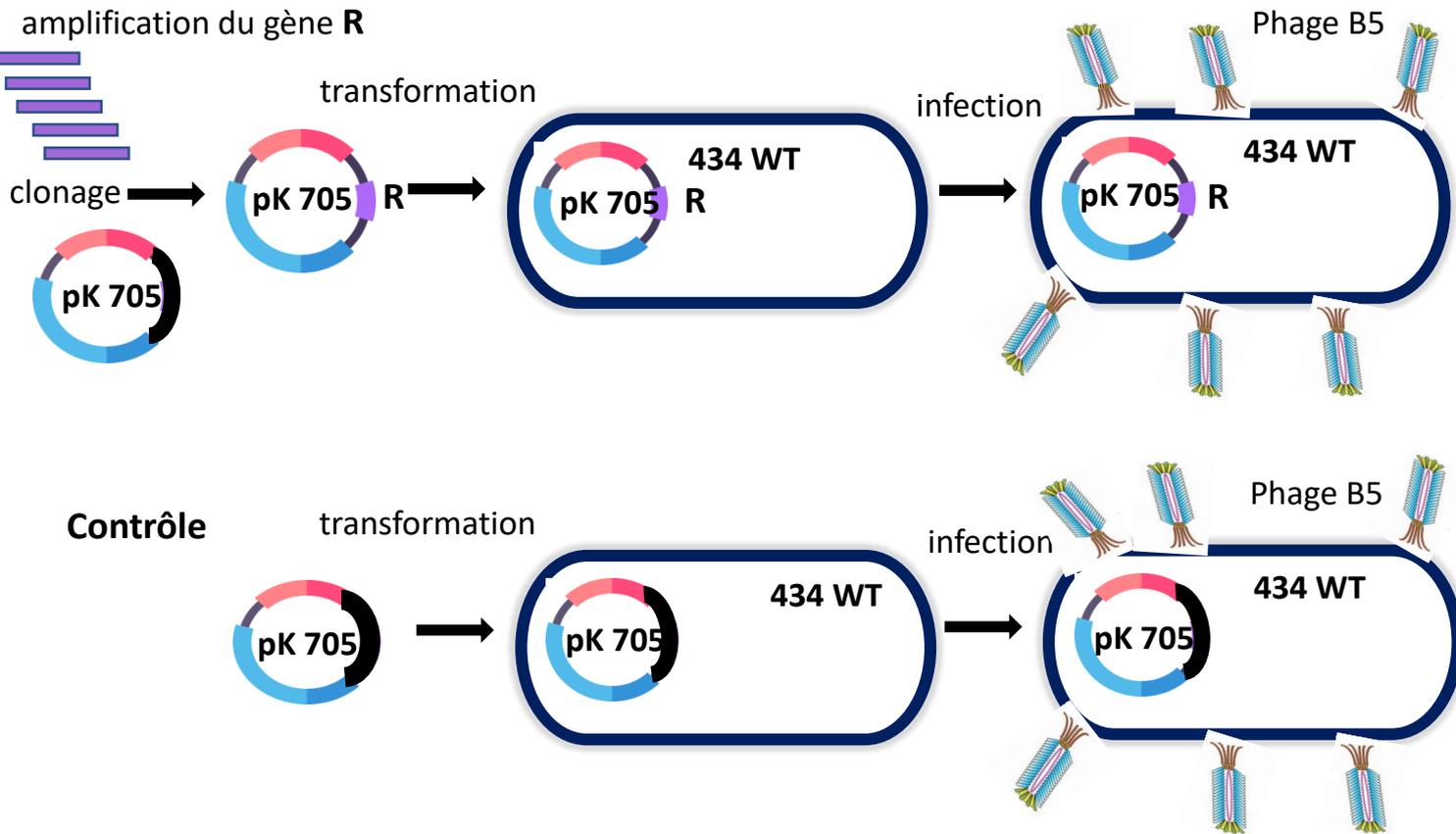
↳ 1 gène codant une hypothétique protéine transmembranaire liant l'ADN ( F. Oechslin)



Le gène muté appelé " R " de cette protéine est donc un bon candidat pour vérifier si 434 WT transfectée par ce gène devient résistante

# 434 WT devient-elle résistante après être transformée par ce gène R ?

## Clonage –Transformation- Test d'infection



# 434 WT devient-elle résistante après être transformée par ce gène R ?

## Clonage –Transformation- Test d'infection

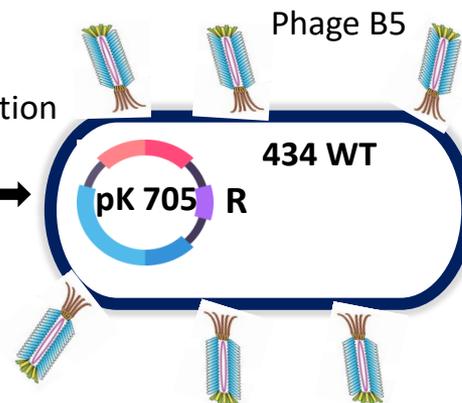
amplification du gène R

clonage

transformation

infection

Phage B5



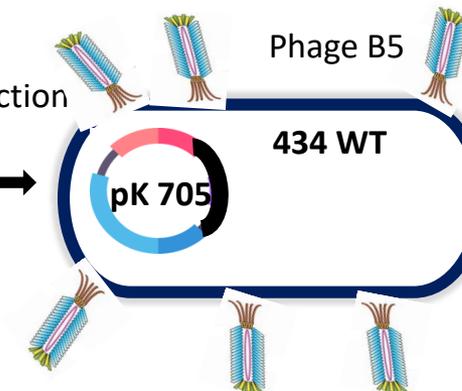
434 WT + B5 + plasmide R =  
absence de plages de lyse

Contrôle

transformation

infection

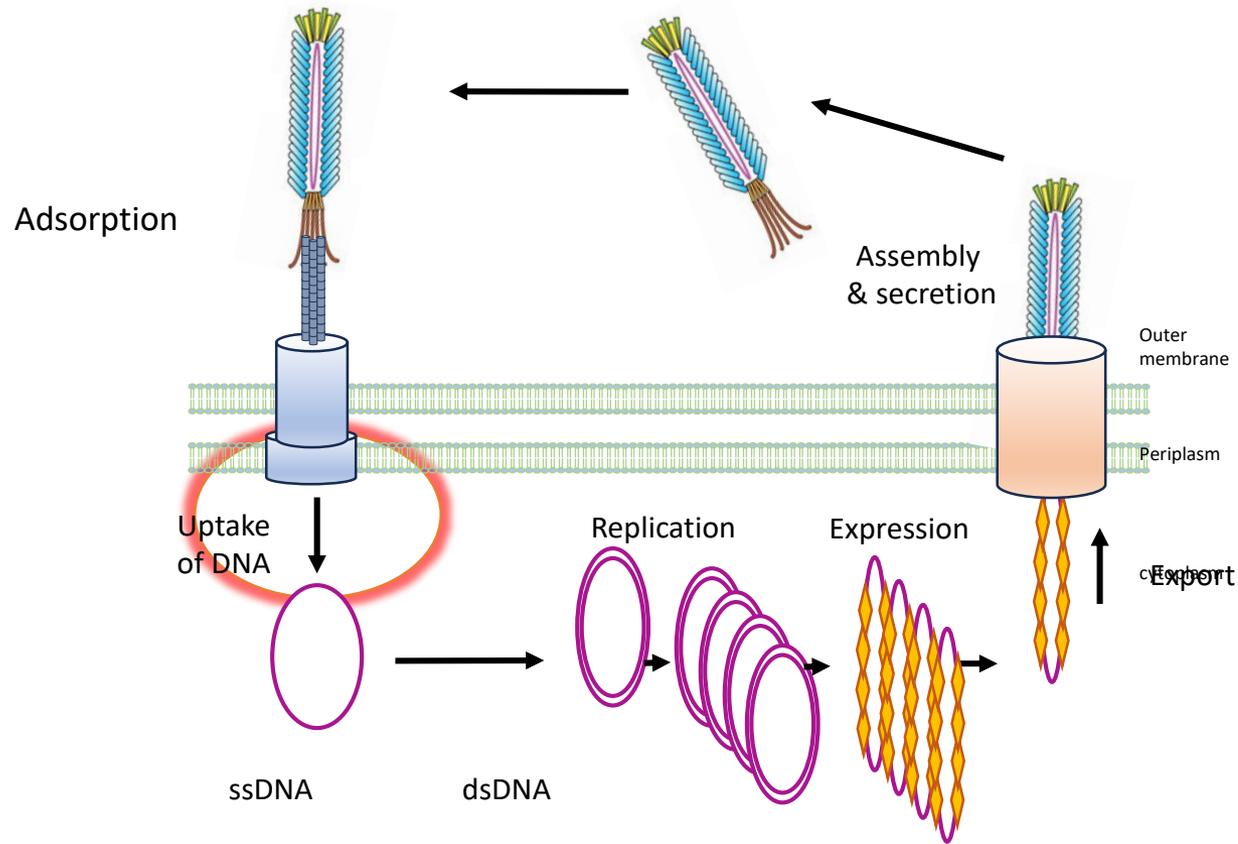
Phage B5



434 WT + phage B5+  
plasmide nu = plages de lyse

Le gène R est bien impliqué dans la résistance

# Conclusion

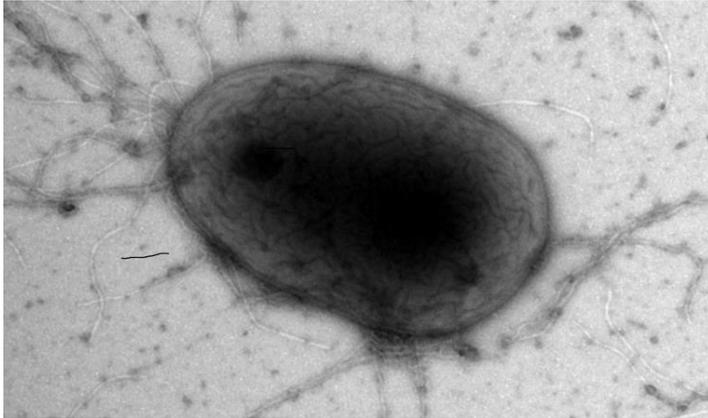


La résistance se situe vraisemblablement au niveau de l'entrée de l'ADN

---

# Première caractérisation d'un mécanisme de résistance contre un phage filamentueux chez une bactérie à Gram +

---



**Merci pour  
votre  
attention**

