

UNE DECOUVERTE INATTENDUE

DES COMPLEXES
PROTEOLYTIQUES
GEANTS IDENTIFIES
CHEZ UNE BACTÉRIE
NOMMÉE *FRANKIA*

Agrandissement d'une "micro-colonie de *Frankia* Cj. Remarquer l'homogénéité de la coloration et la morphologie différente comparée à celle de *Frankia* Br. Marqueurs jaunes, billes fluorescentes de 10 µm de diamètre - Photo : J. Schwencke

Pour bien se développer, les plantes ont besoin d'azote. Celui apporté par les engrais chimiques habituellement utilisés, est coûteux et polluant, tandis que celui de l'atmosphère ne l'est pas ; d'où l'intérêt de l'étude de bactéries fixant l'azote de l'air. Les études biochimiques sur la bactérie *Frankia* ont été un casse-tête depuis l'isolement et la mise en culture de cet actinomycète* capable de fixer l'azote atmosphérique en symbiose avec plus de 160 espèces de plantes non-légumineuses. L'utilisation de ces plantes, dénommées actinorhiziennes*, a donné des résultats spectaculaires dans le cas des *Casuarinas* : en Chine (barrière verte d'un million d'hectares), en Egypte (reconquête du désert), au Sénégal (fixation des dunes côtières), en Inde et au Vietnam (reboisement de production et de protection). Mais des progrès sont encore nécessaires afin d'améliorer la productivité et le potentiel fixateur d'azote de ces plantes. Il est évident que ces progrès ne seront possibles qu'avec une connaissance approfondie de la biologie de *Frankia*.

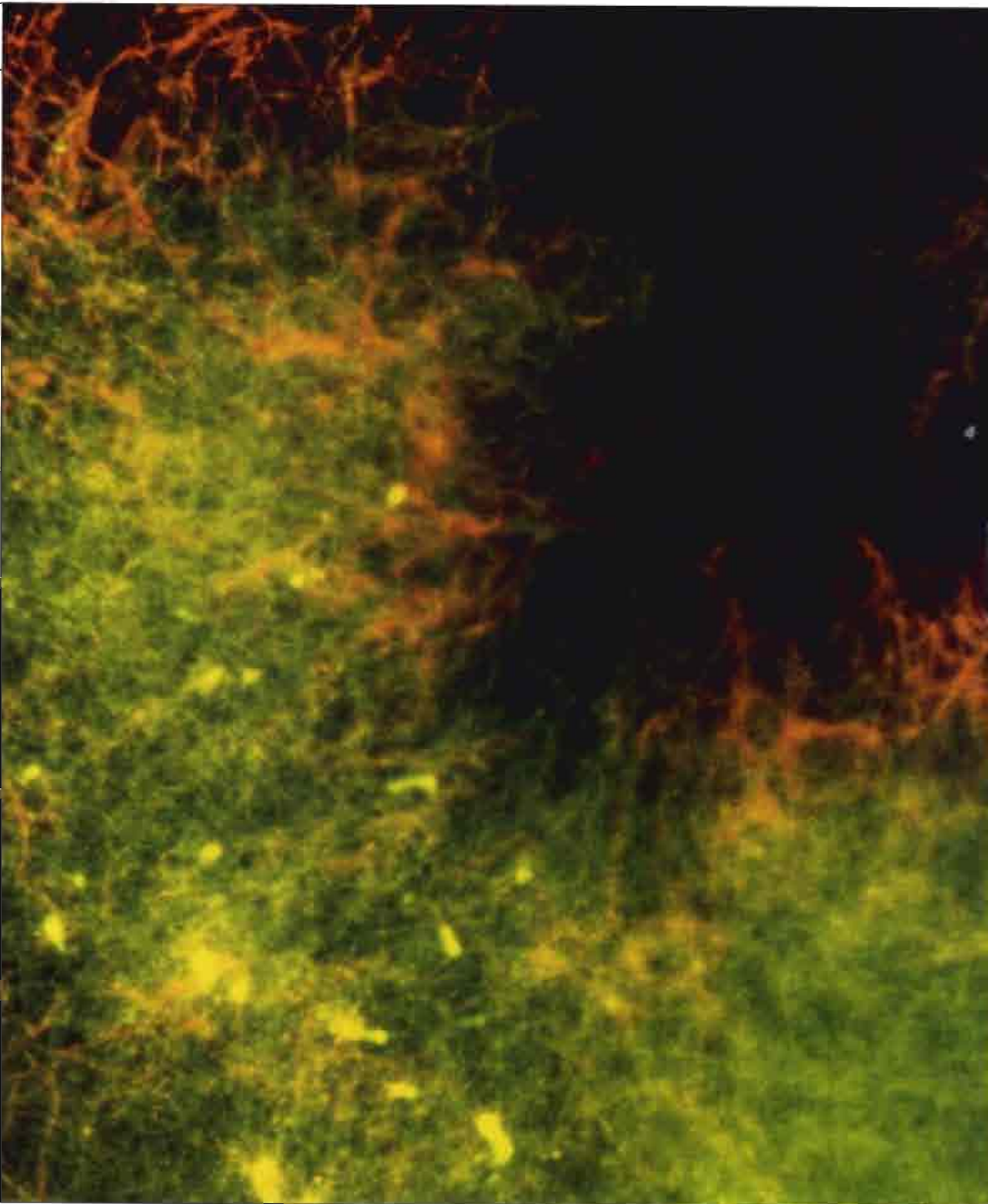
Un premier pas a été fait par l'Orstom il y a maintenant plus de 10 ans, lorsqu'on a réussi à isoler et cultiver "in vitro" *Frankia*, l'organisme fixateur d'azote. Malheureusement, les recherches sur la physiologie, la biochimie et la génétique de *Frankia* ont, jusqu'à présent, été entravées par le comportement "in vitro" très particulier de cette bactérie. Notamment sa croissance lente, non-exponentielle (le maximum étant atteint au bout de 2 à 4 semaines de

physiologique et métabolique incompatible avec des études biochimiques. C'est pourquoi, en collaboration avec le Laboratoire d'Enzymologie (CNRS) nous avons mis en route des études portant d'abord sur l'amélioration des conditions de croissance de la souche *Frankia* BR, isolée par H.G. Diem dans notre laboratoire, puis sur le contrôle des phénomènes de lyse et de formation des spores.

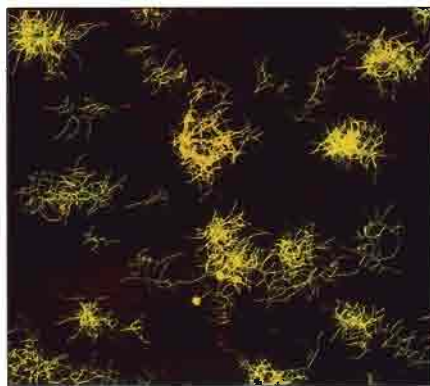
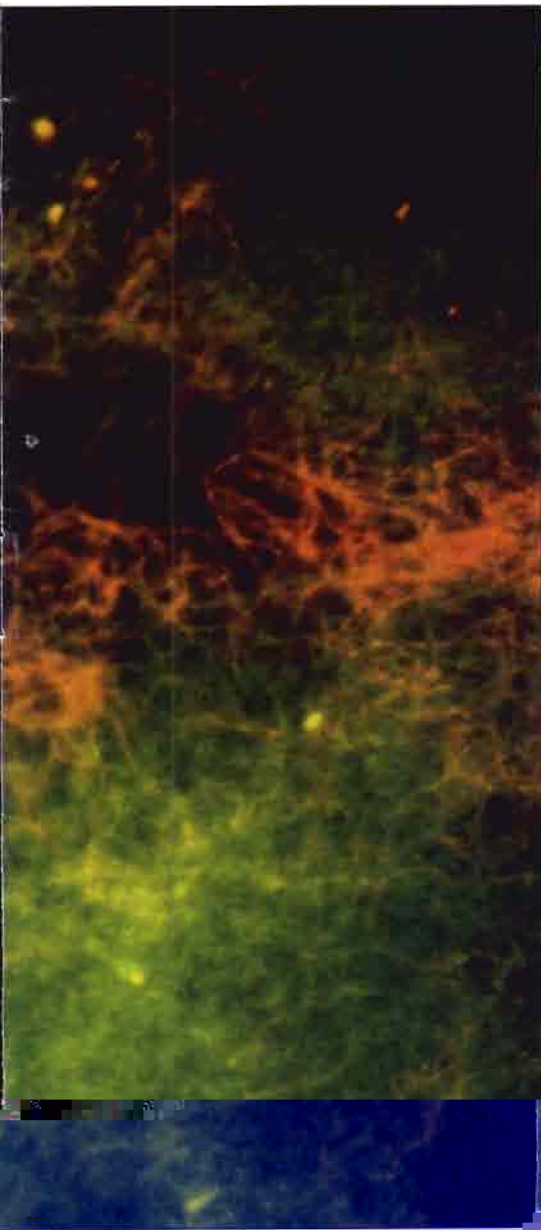
Dans la première phase, nous avons pu montrer qu'il était possible à la fois, de faire pousser rapidement et exponentiellement plusieurs souches de

phatidyl-choline), les bactéries poussent comme des microcolonies hyphales et montrent une structure interne dite de "filet ouvert".

Sur la base de ces nouvelles conditions de croissance, P. Benoist a entrepris d'étudier au sein de notre laboratoire et dans le cadre de sa thèse de doctorat, le phénomène de dégradation des protéines (protéolyse) que l'on observe toujours après la phase de croissance exponentielle. Ces travaux nous ont conduit à une découverte inattendue : la présence au sein des cellules de *Frankia* de complexes protéolytiques



Morphologie d'une "macro-colonie" (2500 µm de diamètre) de *Frankia* BR après croissance sur milieu BAP sans agitation. La coloration à l'acridine orange permet de différencier les sporanges (corpuscules jaunâtres) entourés des zones de lyse des hyphes. Avec la permission de Plant and Soil. Photo : P. Benoist



Morphologie des "micro-colonies (30-150 µm de diamètre) de Frankia BR cultivées en conditions agitées sur milieu BAP, plus tampon Mes/Tris, plus phosphatidylcholine. Coloration à l'acridine orange. Les billes jaunes sont des marqueurs fluorescents de 10 µm de diamètre. A noter l'homogénéité de la coloration jaune des hyphes, absence des hyphes lysés et de sporanges. Photo : J. Schwencke

comme pour l'établissement de la symbiose et la vie symbiotique. Mise à part la dégradation des protéines spécifiques qui peut permettre la modulation intracellulaire de certains processus physiologiques clés, ils pourraient aussi, à l'image des prosomes, réguler la synthèse des protéines.

Un aspect très intéressant concerne le fait que, en collaboration avec A. Müller (doctorante), nous avons pu établir à notre surprise que les complexes HMPC sont secrétés à l'extérieur des cellules. Ainsi, ils pourraient intervenir dans le processus de pénétration

des racines, car il existe dans les parois végétales des glycoprotéines susceptibles d'être dégradées par ces complexes. De plus, leur rôle durant la symbiose reste également à établir mais on peut penser qu'ils pourraient dégrader des protéines de la plante hôte et favoriser ainsi la symbiose.

Enfin, nos résultats sur leurs similitudes biochimiques, immunologiques et morphologiques avec les complexes protéasiques multicatalytiques (prosoymes) des organismes supérieurs indiquent l'apparition précoce de ce type de complexes au cours de l'évolution et offre des nouveaux critères pour définir la position de *Frankia* dans l'arbre évolutif ■

Jaime Schwencke

Département Milieux et Activité Agricole - UR "Biotechnologies appliquées à la productivité végétale et à la valorisation des productions agro-industrielles.

Laboratoire de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (Orstom/Cttf-Cirad à Nogent-sur-Marne)

Pour en savoir plus

Advisory Committee on Technology Innovation, National Research Council Report. Casuarinas : Nitrogen-Fixing Trees for adverse sites. National Academy Press (1984).

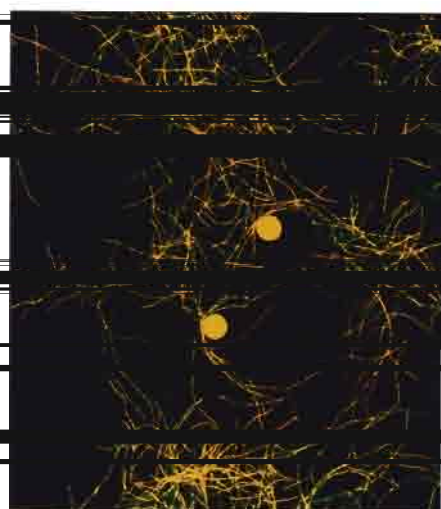
Le couple : Frankia-Arbre.

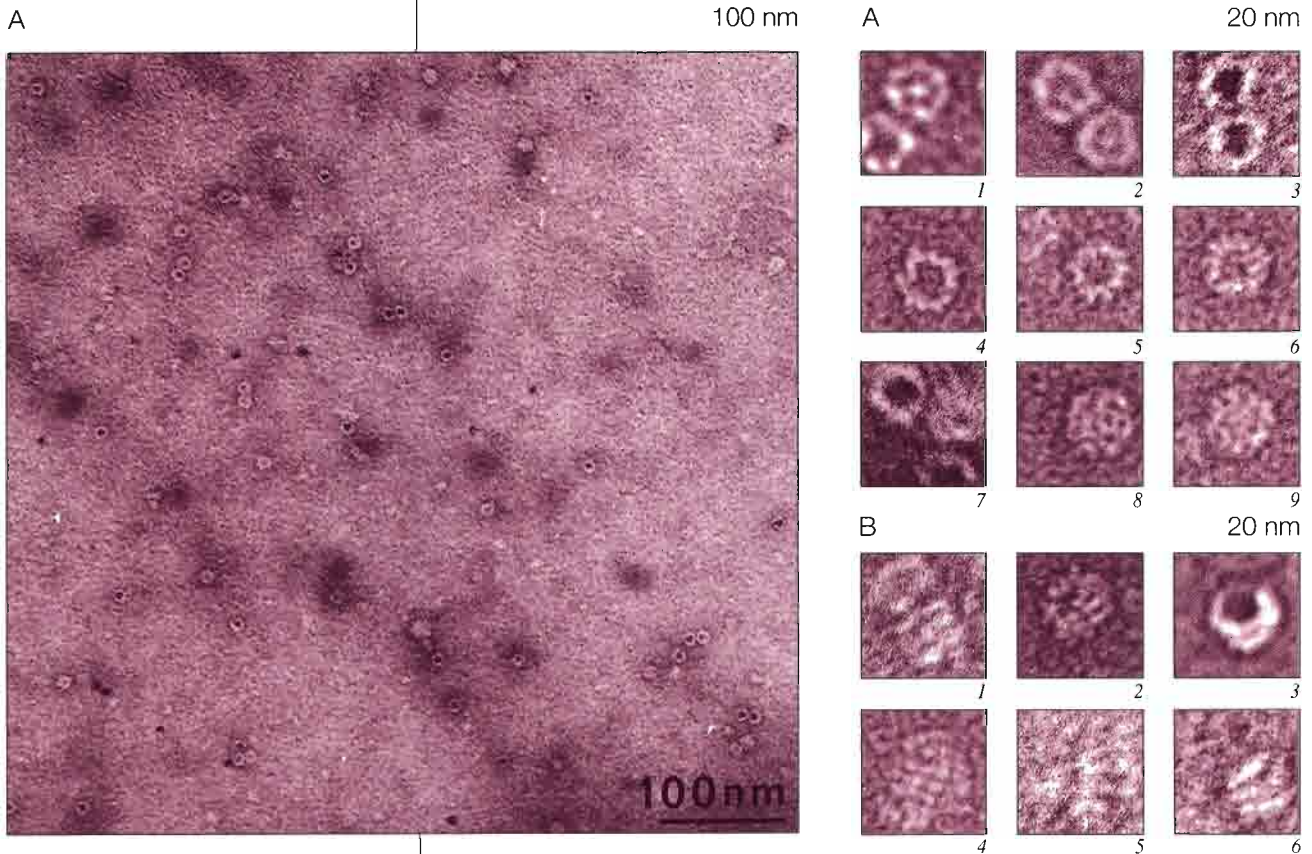
logique de l'azote gazeux est assurée

**Protéases et complexes protéolytiques.
Des stratégies biologiques différentes
pour la dégradation des protéines**

Les protéases sont des catalyseurs biologiques permettant la dégradation des protéines en petits peptides et, finalement, en acides aminés qui sont les "briques" à partir desquelles les organismes vivants construisent leurs protéines. Ainsi, une protéine, devenue défectueuse au cours de sa vie dans une cellule, a besoin d'être dégradée puisque devenue inutile. Il existe dans chaque organisme plusieurs protéases capables de reconnaître au sein des protéines, des liaisons entre les acides aminés (liaisons peptidiques) et de

nopeptidase and proteinase activities in *Frankia* isolate BR. J. Gen. Microbiol. 137, pp. 2787-2796.
Orlowski M. (1990). The multicatalytic proteinase complex, a major extralysosomal proteolytic system. Biochemistry 29, pp.1289-10297.
Scherrer K. (1990). Prosomes, sub-complexes of untranslated mRNP. Mol. Biol. Reports 14, pp. 1-9.
Schwencke J. (1991). Rapid, exponential growth and increased biomass yield for some *Frankia* strains in buffe-





Vue au microscope électronique des complexes multicatalytiques de poids moléculaire élevé. Coloration négative à l'acétate d'uranyle (les globules des protéines apparaissent en blanc sur fond obscur).

A1-A9 - Différents types d'anneaux - A1 et A2, avec un globule au centre. A3, superposition des anneaux formant deux cylindres. A8 et A9, structures en forme de framboise.

B1-B6 - Différents types de cylindres - B1 et B4 un cylindre couché formé par superposition de cinq anneaux. B3 vue d'en haut d'un cylindre incliné (comme la Tour de Pise) - Photo : P. Benoist et J. Laporte

laire par endommagement voire rupture de leur membrane et/ou de leur paroi.

Multicatalytiques : Caractéristique d'une enzyme de catalyser plusieurs réactions chimiques. Un complexe composé de plusieurs enzymes est appelé également multicatalytique.

Nitrogénase : enzyme capable de catalyser la réduction de l'azote gazeux (N₂) en ammonium, qui est ensuite transformé en acides aminés et finalement en protéines dans la plante.

Protéases : Enzymes catalysant la destruction des protéines par rupture de leurs liaisons peptidiques (voir encadré).

Sous unité : Unité structurale (protéine) d'un complexe protéique .

Spores : Structure de résistance permettant la survie et la dissémination d'un organisme. Les spores sont produites dans des conditions nutritives ou environnementales défavorables.

Sporanges : Structure contenant plusieurs spores*.

Serendipity and a bacterium named *Frankia* Giant proteolytic complexes found for the first time in a bacterium

Nitrogen-fixing bacteria that live in symbiosis with plant roots are extremely useful in maintaining soil fertility and enabling trees to grow in poor soil. *Frankia* is one such bacterium but, unlike most, it lives on the roots of non-leguminous plants - eg. the tree species *Casuarina*, which has been used with great success in desertification control schemes. A better understanding of *Frankia* biology would obviously help improve its potential. *Frankia* was first isolated and cultured *in vitro* ten years ago. It proved very hard to study biochemically, for these reasons Orstom, in collaboration with the Cnrs Enzymology Laboratory, began work to improve its growth behavior "in vitro". The work has made good progress and, along the way, an unexpected discovery was made: within the *Frankia* cells, researchers found multicatalytic

proteolytic complexes HMPCs known as prosomes or proteasomes, hitherto found only in nucleated organisms. These complexes contain a number of proteases - biological catalysts that break down proteins, eg. for purposes of cell renewal. The presence of HMPCs in certain bacteria had been suspected, but this is the first clear demonstration of their presence, and of their similarity with proteasomes. This breakthrough opens up new channels of research towards a better understanding of the physiology of *Frankia*, how symbiosis is established, and the mechanisms of these symbiotic partnerships. The similarities with proteasomes in higher organisms also suggests that HMPCs appeared early on in evolutionary history, providing pointers to help situate *Frankia* in the evolutionary tree.

Schewencke J.

Une découverte inattendue : des complexes protéolytiques géants identifiés chez une bactérie nommée Frankia

ORSTOM Actualités, 1992, (36), p. 25-29. ISSN 0758-833X