



HAL
open science

Apport de la structure tridimensionnelle du Grapevine fanleaf virus (GFLV) dans la compréhension de sa transmission par son vecteur naturel, le nématode *Xiphinema index*

Pascale Schellenberger, Peggy Link, Claude Sauter, Bernard Lorber, Patrick Bron, Stefano Trapani, Veronique Komar, Emmanuelle Vigne, Aurélie Marmonier, Corinne Schmitt-Keichinger, et al.

► To cite this version:

Pascale Schellenberger, Peggy Link, Claude Sauter, Bernard Lorber, Patrick Bron, et al.. Apport de la structure tridimensionnelle du Grapevine fanleaf virus (GFLV) dans la compréhension de sa transmission par son vecteur naturel, le nématode *Xiphinema index*. 1ère Rencontre du Nouveau Réseau Vigne et Vins Septentrional, Jul 2013, Colmar, France. 2013. hal-02810894

HAL Id: hal-02810894

<https://hal.inrae.fr/hal-02810894v1>

Submitted on 6 Jun 2020

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.

La maladie du court-noué

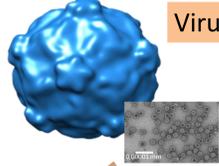
60% du vignoble français touché....

Vigne

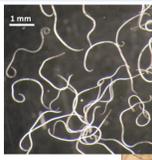


Grapevine fanleaf virus

Virus



Persistance au vignoble



Nématode

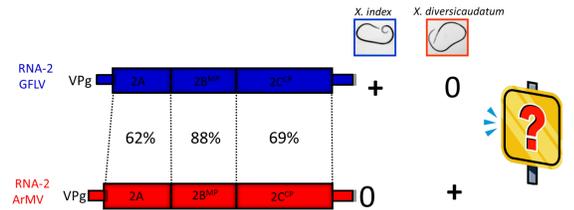
Récolte
Longévité
Qualité

Le *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), un népovirus, est le principal agent responsable de la maladie du court-noué. Il est transmis naturellement de vigne à vigne par des nématodes ectoparasites, petits invertébrés du sol, qui s'alimentent au niveau des racines des vignes.

Déterminants moléculaires impliqués dans la spécificité de la transmission ?

En plus du GFLV, un autre népovirus, l'*Arabidopsis mosaic virus* (ArMV) est impliqué dans la maladie du court-noué. Ces deux virus partagent une organisation et une expression génétique très proches mais sont transmis **spécifiquement par deux nématodes différents**.

Organisation génétique de l'ARN-2 du GFLV et de l'ArMV. Chaque ARN code pour une polyprotéine qui est clivée en trois protéines : la protéine 2A nécessaire à la réplication du RNA2, la protéine 2B^{MP} assurant le mouvement du virus de cellule à cellule et la protéine 2C^{CP} qui est la protéine de capsid.

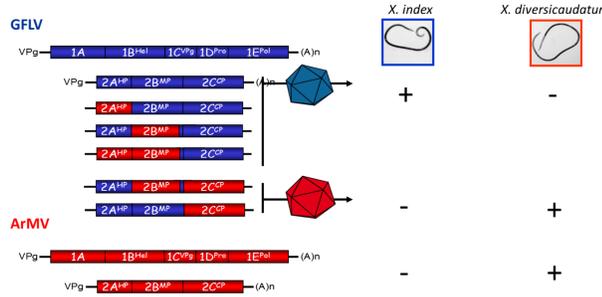
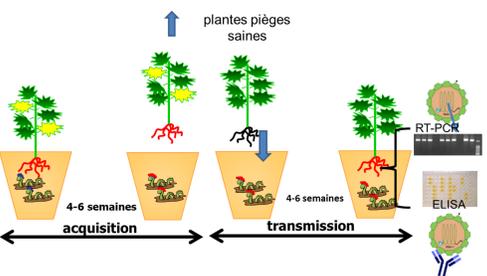


L'objectif du projet est de définir les **bases moléculaires de la spécificité d'interaction** entre un Nepovirus et son nématode vecteur en utilisant comme modèle d'étude les couples GFLV/*X. index* et ArMV/*X. diversicaudatum*. Nous cherchons à **identifier le ou les gènes viraux** impliqués dans la spécificité de transmission du virus par son nématode vecteur ainsi qu'à définir leur(s) **domaine(s) d'interaction**. La connaissance de la nature des interactions virus-vecteurs constituent des sources potentielles d'innovations biotechnologiques pouvant permettre la lutte contre cette maladie.

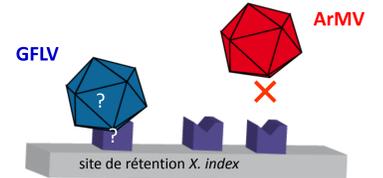
La capsid du virus détermine la spécificité de la transmission

Test de transmission en condition contrôlée

Génétique inverse



La capsid est le seul déterminant de la spécificité de la transmission du GFLV et de l'ArMV.



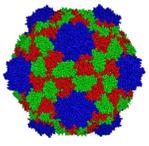
Connaissance de la structure tridimensionnelle de la capsid indispensable pour poursuivre l'identification des déterminants viraux en contact avec la cuticule du nématode.

Des ARN2 recombinants ont été développés en remplaçant les séquences codantes du GFLV par les séquences codantes correspondantes de l'ArMV. La transmissibilité des virus chimériques produits à partir de ces ARN recombinants a été évaluée avec les 2 espèces de nématodes en utilisant le test de transmission en condition contrôlée développé au laboratoire.

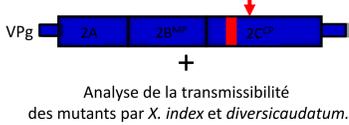
Une cavité à la surface de la particule virale : le site de reconnaissance de la particule virale dans le nématode ?

Approche génétique

Modélisation de la structure 3D du GFLV par homologie avec la structure connue du Tobacco ringspot virus.



Mutagenèse dirigée
gène de la capsid du GFLV

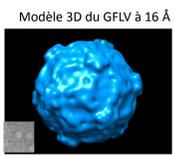


Approche structurale

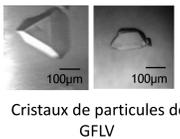
Cryo-microscopie électronique à transmission (cryo-MET).



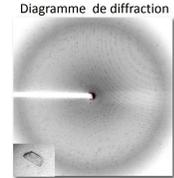
Reconstruction 3D du GFLV



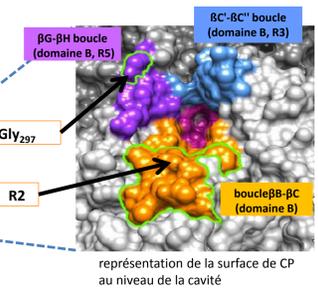
Cristallographie aux rayons X.



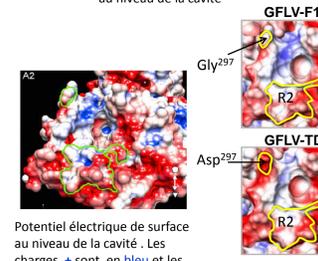
Diffraction aux rayons X



Structures atomiques de 2 variants du GFLV : le virus sauvage (3Å) et un variant faiblement transmis (2,7Å).



>Identification à la surface de la particule virale d'une cavité d'un diamètre de 20 Å bordée par 3 boucles.
>Rôle démontré de 2 des 3 boucles dans la transmission du GFLV par *X. index*.



cavité chargée positivement.
Importance de la charge dans le mécanisme de la transmission ?

Potentiel électrique de surface au niveau de la cavité. Les charges + sont en bleu et les charges - en rouge

Conclusion-Perspectives

En combinant des approches structurales et de génétique fonctionnelle ciblant le gène codant pour la capsid, nous avons identifié à la surface de la particule virale un motif structural en forme de cavité, essentiel à la transmission du GFLV. Ce résultat majeur correspond à l'identification des premiers domaines impliqués dans la transmission d'un virus appartenant à la famille des *Nepovirus* et intégrant les données de structures 3D résolues de ces virus. L'ensemble de ce travail a permis de suggérer un mécanisme moléculaire de la transmission des népovirus par les nématodes et ouvre la voie vers la recherche du récepteur correspondant chez le nématode.