



HAL
open science

Caractérisation structurale et fonctionnelle de déterminants de la capsidie du Grapevine fanleaf virus impliqués dans la transmission par *Xiphinema index*

Pascale Schellenberger

► **To cite this version:**

Pascale Schellenberger. Caractérisation structurale et fonctionnelle de déterminants de la capsidie du Grapevine fanleaf virus impliqués dans la transmission par *Xiphinema index*. Sciences du Vivant [q-bio]. 2010. Français. NNT: . tel-02816065

HAL Id: tel-02816065

<https://hal.inrae.fr/tel-02816065>

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.

Caractérisation structurale et fonctionnelle de déterminants de la capsidie du *Grapevine fanleaf virus* impliqués dans la transmission par *Xiphinema index*

La transmission des virus est une étape cruciale du cycle viral. Le *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) et l'*Arabis mosaic virus* (ArMV), les principaux agents de la maladie du court-noué de la vigne, sont transmis spécifiquement par des espèces distinctes de nématodes, respectivement *Xiphinema index* et *X. diversicaudatum*. Ces *Nepovirus* possèdent une capsidie icosaédrique pseudo $T = 3$, constituée d'une seule protéine de capsidie (CP). Des résultats antérieurs ont montré que la CP du GFLV détermine sa transmission par *X. index*. Afin de caractériser et cartographier les régions de la capsidie du GFLV impliquées dans la vexion, une approche pluridisciplinaire combinant génétique inverse, cristallographie aux rayons X et cryomicroscopie électronique (cryo-ME) a été réalisée. L'approche de génétique inverse a consisté à échanger plusieurs régions de la CP du GFLV par leur équivalent ArMV, et à tester la transmission des chimères par *X. index* et *X. diversicaudatum*. Ce travail a montré qu'une région de 11 résidus de surface de la CP est requise pour la vexion. Par ailleurs, la caractérisation d'un variant spontané du GFLV, dénommé GFLV-TD faiblement transmis par *X. index*, a dévoilé l'importance de la mutation Gly₂₉₇Asp dans la transmission. L'obtention de la structure cristallographique du GFLV et du GFLV-TD, respectivement à 3 Å et 2,7 Å, a démontré que la perte quasi-totale de transmission du variant GFLV-TD a pour seule origine la présence d'une chaîne latérale chargée négativement exposée à la surface de la capsidie. Ces données suggèrent qu'une cavité de surface chargée positivement formée par le domaine B de la CP, pourrait agir en tant que site de reconnaissance virus-vecteur. Enfin, la structure de l'ArMV a été obtenue, par reconstruction 3D à partir d'images de cryo-ME. La comparaison du GFLV à l'ArMV révèle des différences structurales au niveau du domaine A de la CP et suggère des différences au niveau des bords de la cavité. L'ensemble de ce travail a abouti à l'obtention de la structure 3D des deux agents du court-noué de la vigne et à la caractérisation fonctionnelle de deux déterminants viraux de la transmission. Ils ouvrent de nouvelles perspectives de recherche visant à comprendre les bases moléculaires de la transmission des *Nepovirus* par nématodes.

Transmission is a key step in the virus life cycle. *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) and *Arabis mosaic virus* (ArMV), the two major causal agents of grapevine fanleaf disease, are specifically transmitted by *Xiphinema index* and *X. diversicaudatum*, respectively. Both viruses (genus *Nepovirus*) belong to the class of icosahedral viruses with pseudo $T = 3$ symmetry. Previous experiments demonstrated the specificity of transmission to be solely determined by the coat protein (CP). In order to characterize structural domain(s) and residues within the CP that confer GFLV transmission, a multidisciplinary approach combining reverse genetic, X-ray crystallography and cryo-electron microscopy (cryo-EM) was performed. For the genetic approach, several GFLV-ArMV chimeric CP were generated and tested for transmission by nematodes. This allowed the identification of one region consisting of 11 residues in GFLV transmission. In addition, the characterization of a spontaneous GFLV variant poorly transmitted by *X. index* termed GFLV-TD, revealed the importance of Gly₂₉₇Asp mutation in transmission. GFLV and GFLV-TD crystal structures were solved at 3 and 2.7 Å, respectively. Structural comparisons revealed that the near complete loss of GFLV-TD transmission of resulted from the single occurrence of a negatively charged side chain highly exposed at the capsid surface. These results suggest the virus-vector binding site to consist of a negatively charged pocket formed by specific loops of the CP B domain. Finally, ArMV capsid structure was obtained by cryo-EM 3D reconstruction. GFLV and ArMV structural differences mainly locate in the CP A domain. Minor differences were also detected in the CP B domain, on the pocket protrusions. Altogether, this work enabled to obtain the three-dimensional structure of two viruses responsible of fanleaf disease and the functional and structural characterisation of two viral transmission determinants. It opens new research prospects aiming at better understanding the molecular mechanism governing *Nepovirus* transmission by nematodes.