



Interaction de la polymérase 3D du virus de la fièvre aphteuse avec la réponse interféron de type I (IFN I) / un lien avec la persistance virale ?

Morgan Sarry, Souheyla Benfrid, Cindy Bernelin-Cottet, Anthony Relmy, Aurore Romey, Anne-Laure Salomez, Grégory Caignard, Stéphan Zientara, Damien Vitour, Labib Bakkali Kassimi, et al.

► To cite this version:

Morgan Sarry, Souheyla Benfrid, Cindy Bernelin-Cottet, Anthony Relmy, Aurore Romey, et al.. Interaction de la polymérase 3D du virus de la fièvre aphteuse avec la réponse interféron de type I (IFN I) / un lien avec la persistance virale ?. XXIVèmes Journées Francophones de Virologie, Apr 2022, Strasbourg, France. anses-04527748

HAL Id: anses-04527748

<https://anses.hal.science/anses-04527748>

Submitted on 30 Mar 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

Interaction de la polymérase 3D du virus de la fièvre aphteuse avec la réponse interféron de type I : un lien avec la persistance virale ?

Morgan Sarry^{1,2}, Souheyla Benfrid¹, Cindy Bernelin-Cottet¹, Anthony Relmy¹, Aurore Romey¹, Anne-Laure Salomez¹, Caignard Gregory¹, Stephan Zientara¹, Damien Vitour¹, Labib Bakkali Kassimi¹ et Sandra Blaise-Boisseau¹

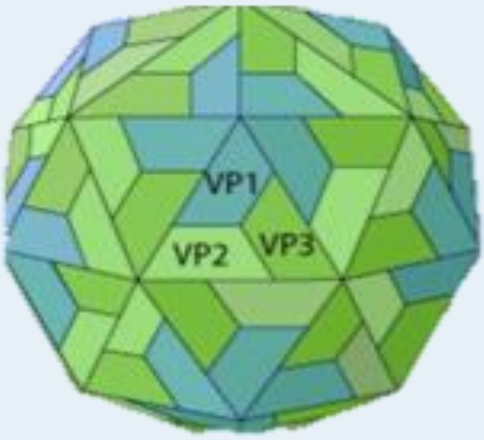
¹ UMR VIROLOGIE, INRAE, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, ANSES Laboratoire de Santé Animale, Université Paris-Est, 94700 Maisons-Alfort, France.
² Ecole doctorale ABIES – AgroParisTech – 16 Rue Claude Bernard, 75005 Paris, France

Correspondance : morgan.sarry@anses.fr

P.020

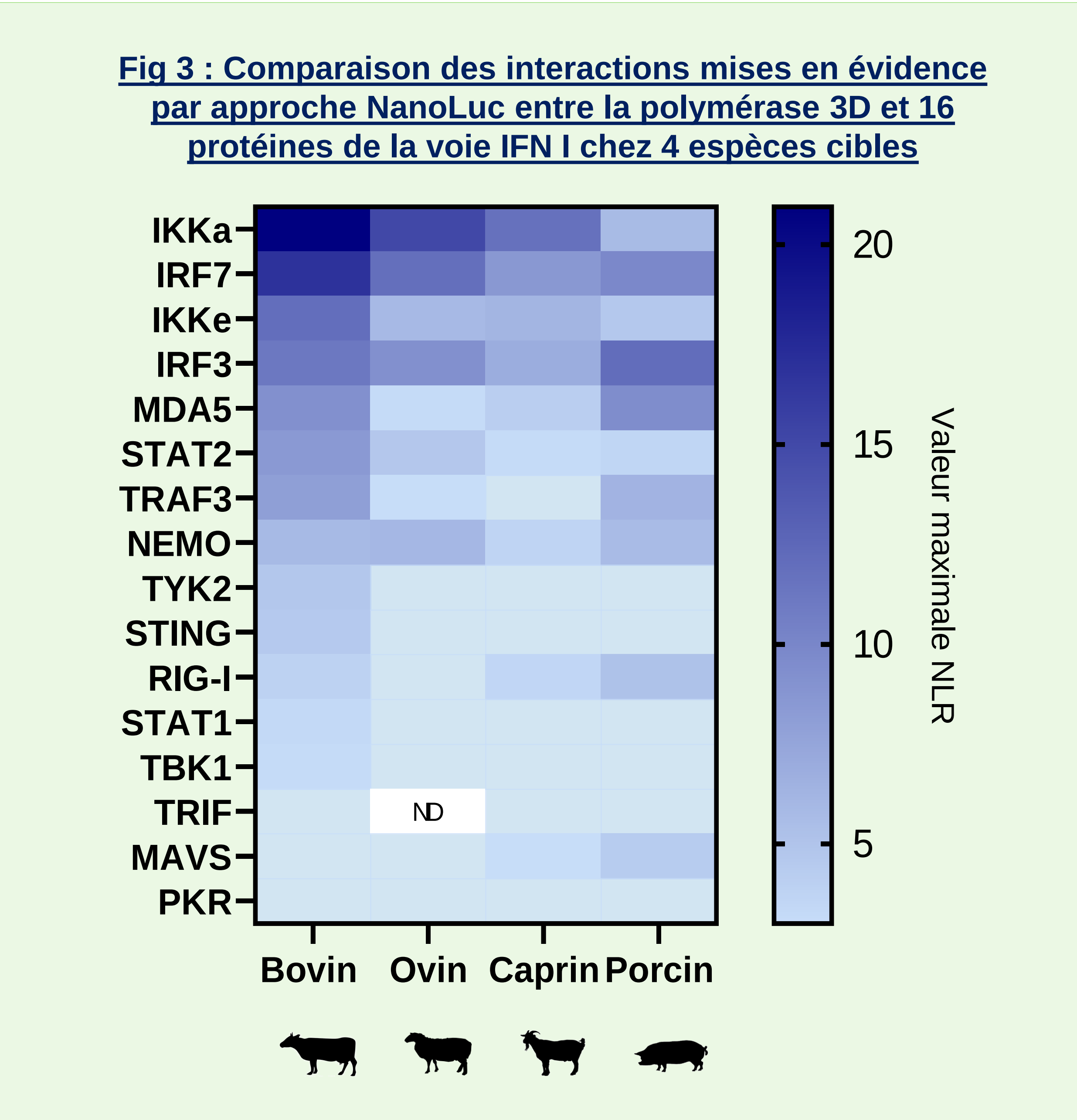
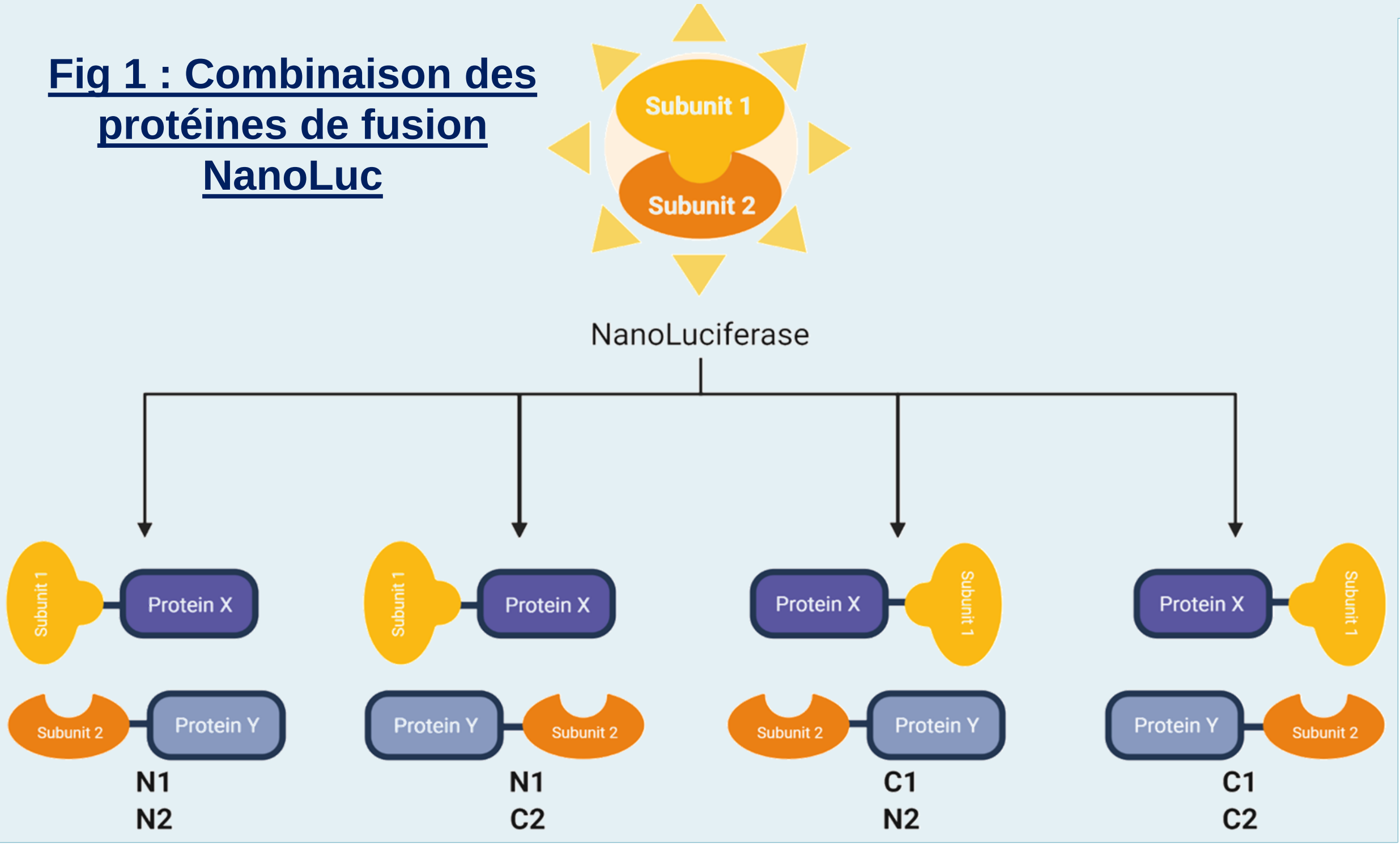
Contexte & Objectif de l'étude

- La fièvre aphteuse (FA) est une **maladie virale hautement contagieuse** causée par un **Picornavirus** affectant les artiodactyles sauvages et domestiques.
 - L'une des problématiques liées à la FA est la **persistance** de son agent étiologique le **Foot-and-Mouth Disease Virus (FMDV)** chez les ruminants¹.
 - La création d'un **équilibre virus-hôte** basé sur des **interactions protéine-protéine (IPP)** fait partie des pistes pouvant expliquer la persistance du FMDV².
 - La persistance du FMDV a été démontrée chez les **bovins** et les **petits ruminants** mais **pas chez le porc**³.
- L'objectif de cette étude est de **mettre en évidence les IPP entre le FMDV et la réponse interféron de type I (IFN I)** et de **déterminer leur éventuelle spécificité d'hôte**.



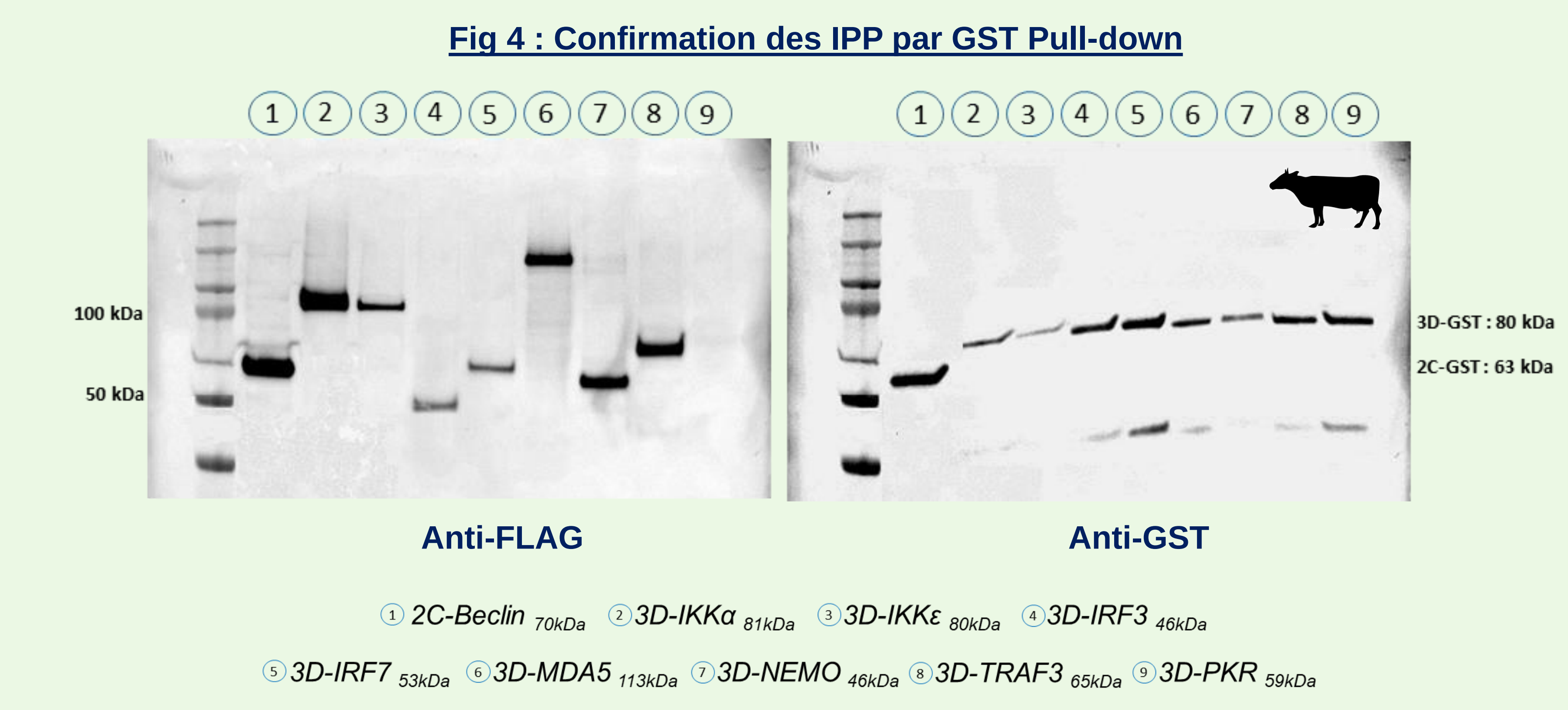
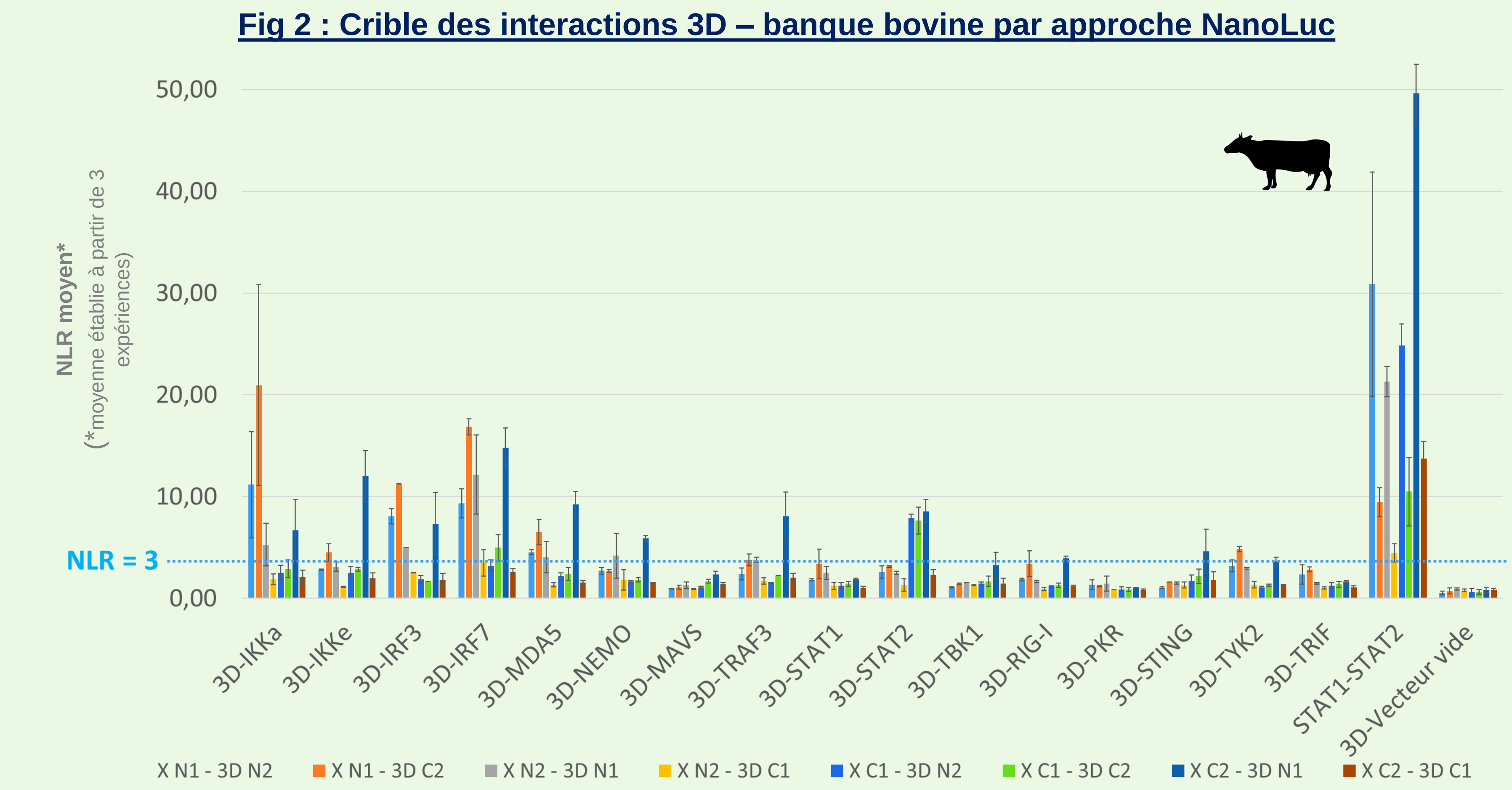
Méthodes

- Les interactions entre les protéines d'une souche de **FMDV de type O** et **16 protéines de la voie IFN I** bovines, ovines, caprines et porcines ont été criblées par **approche NanoLuc-2-Hybrid**⁴.
- Cette méthode repose sur le **réassemblage** de deux sous-unités d'une molécule bioluminescente : la **Nanoluciférase**.
- La multiplication des combinaisons testées (**sous-unités NanoLuc en N ou en C-terminal, 8 combinaisons au total, Fig 1**) permet une **meilleure spécificité et sensibilité**⁴.
 - Pour cela, des cellules HEK 293T ont été **co-transfectées** avec 3 plasmides exprimant respectivement une **protéine virale fusionnée** à une **sous-unité de Nanoluc**, une **protéine de la voie IFN I fusionnée** à l'autre **sous-unité de Nanoluc** et la **Renilla Luciférase** servant à la normalisation des résultats (**Fig 2**).
- Les IPP mises en évidence par crible NanoLuc pour la banque bovine ont été confirmées par **chromatographie d'affinité GST Pull-down**.
 - Pour cela, des cellules HEK 293T ont été **co-transfectées** avec 2 plasmides exprimant respectivement une **protéine virale étiquetée GST** et une **protéine de la voie IFN I étiquetée FLAG**. Les protéines-GST ont ensuite été **captées sur des billes** de glutathion sépharose, puis les protéines-FLAG interagissant avec les protéines-GST sont détectées par **immunomarquage**.



Résultats

Normalized luminescence ratio (NLR) =
$$\frac{\text{Luminescence NanoLuciférase } 3D-X}{\text{Luminescence Renilla Luciférase } 3D-X} \times 1000$$



Conclusions et perspectives

- Les cribles NanoLuc ont permis de mettre en évidence de nombreuses IPP impliquant différentes protéines virales.
- Les résultats les plus prometteurs ont été obtenus avec la **polymérase 3D** pour laquelle aucune interaction avec la voie IFN I n'est décrite à ce jour.
- Ces **IPP semblent conservées** parmi les espèces testées mais avec des **forces relatives variables (Fig 3)**.
- 7 IPP** entre la polymérase 3D et la banque bovine ont pu être **confirmées par GST Pull-down (Fig 4)**.
- Confirmation de ces IPP en cours **par co-localisation**.
- Confirmation des IPP en cours **pour les autres espèces par GST Pull-down**.
- Confirmation des IPP **en contexte infectieux en cellules primaires** à venir.

Références

1. Stenfeldt & Arzt 2020
2. Pfaff *et.al.* 2019
3. Stenfeldt *et.al.* 2014
4. Choi *et.al.* 2019