



HAL
open science

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



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

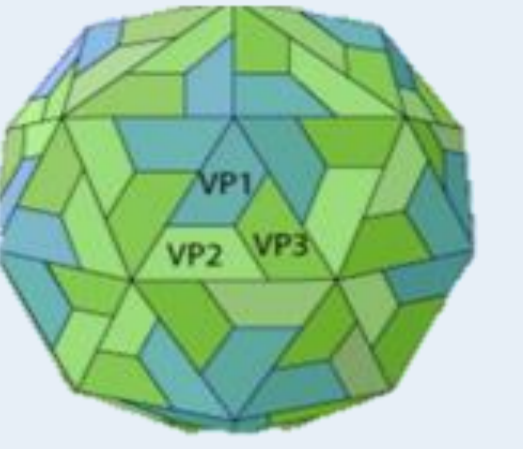
¹ UMR VIROLOGIE, INRAE, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, ANSES Laboratoire de Santé Animale, Université Paris-Est, 94700 Maisons-Alfort, France. ² Ecole doctorale ABIES – AgroParisTech – 16 Rue Claude Bernard, 75005 Paris, France

Correspondance : morgan.sarry@anses.fr

P.020

Contexte & Objectif de l'étude

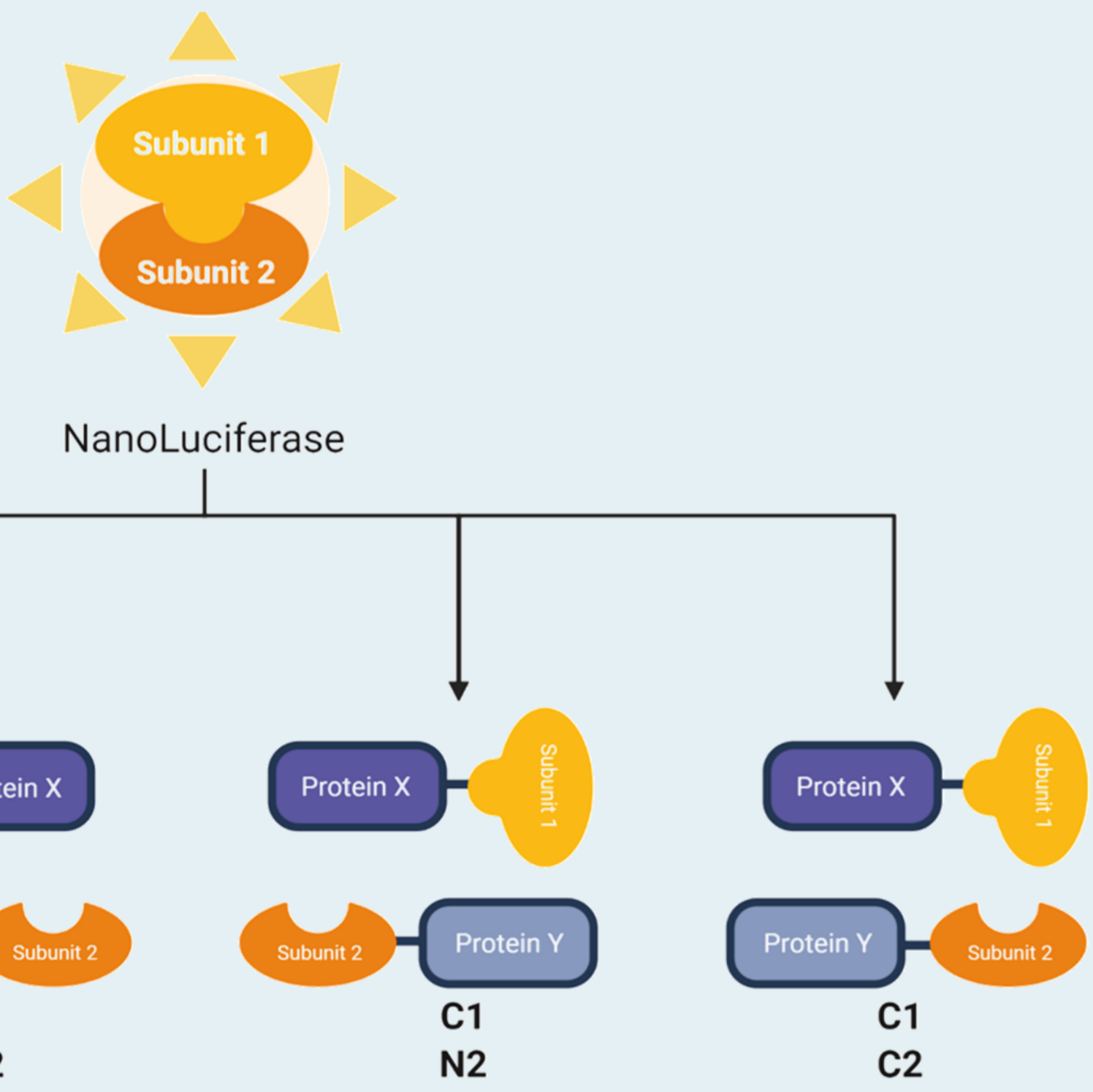
- La fièvre aphteuse (FA) est une maladie virale hautement contagieuse causée par un Picornavirus affectant les artiodactyles sauvages et domestiques.
 - L'une des problématiques liées à la FA est la persistance de son agent étiologique le Foot-and-Mouth Disease Virus (FMDV) chez les ruminants¹.
 - La 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 porc³.
- 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-Hybrid⁴.
- 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 sensibilité⁴.
 - 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.

Fig 1 : Combinaison des protéines de fusion NanoLuc



Résultats

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

Fig 2 : Crible des interactions 3D – banque bovine par approche NanoLuc

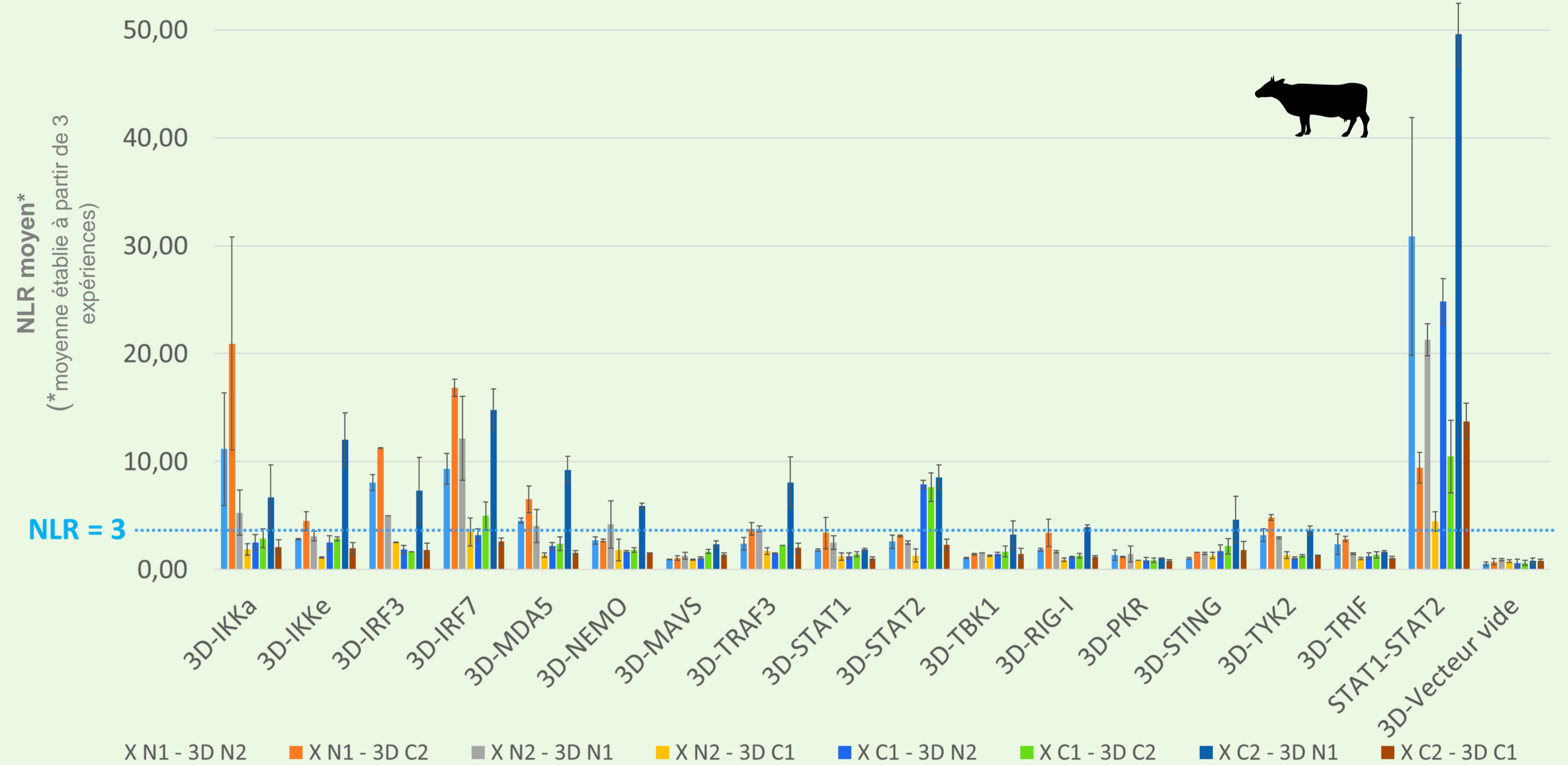


Fig 3 : Comparaison des interactions mises en évidence par approche NanoLuc entre la polymérase 3D et 16 protéines de la voie IFN I chez 4 espèces cibles

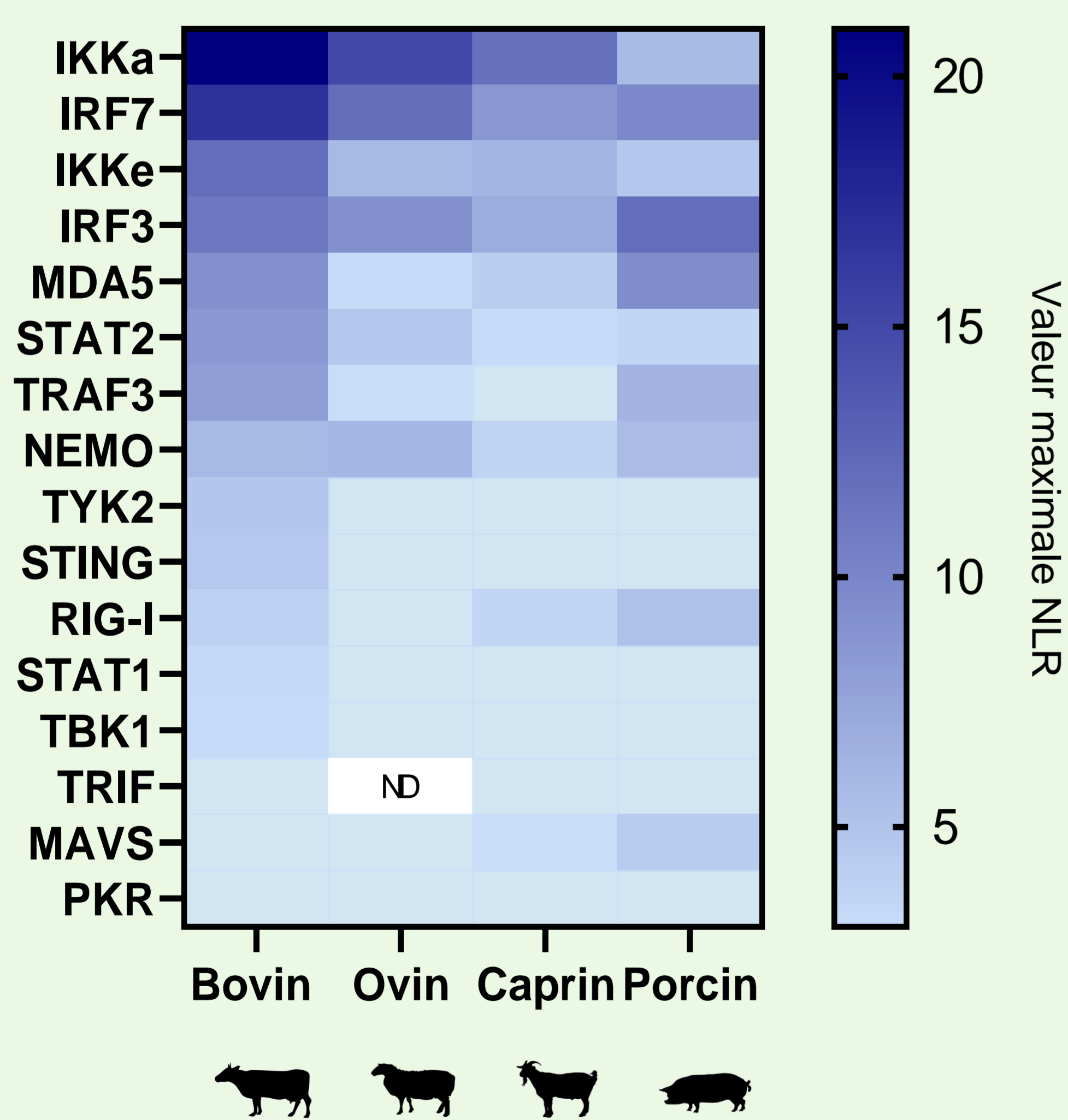
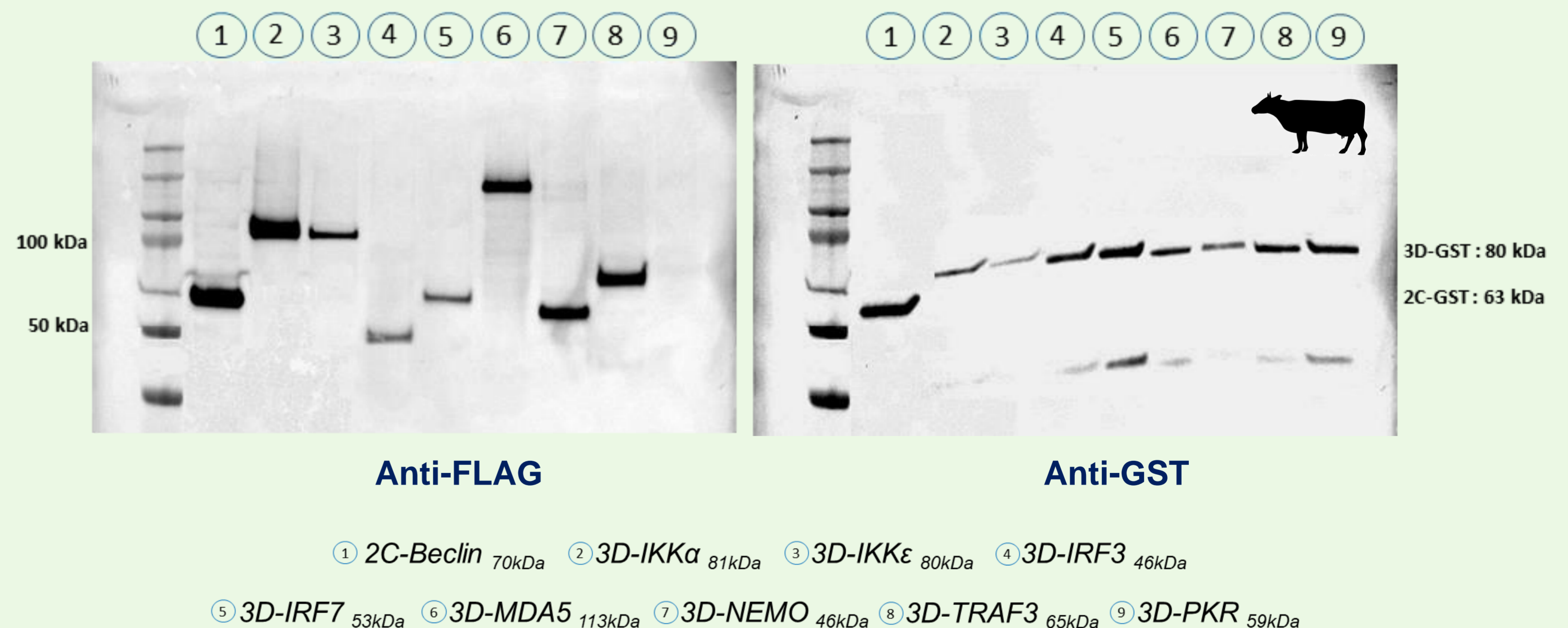


Fig 4 : Confirmation des IPP par GST Pull-down



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

- Stenfeldt & Arzt 2020
- Pfaff et al. 2019
- Stenfeldt et al. 2014
- Choi et al. 2019