

Mailys PIAU

Identification et étude de partenaires cellulaires des protéines 1A et 2A^{HP} du grapevine fanleaf virus

Résumé

Les plantes se défendent des pathogènes grâce à des gènes de résistance dominants dont le produit interagit avec un facteur d'avirulence du pathogène et déclenche une réponse hypersensible et à des gènes récessifs, variants alléliques de gènes de susceptibilité. Afin de découvrir des gènes de résistance vis-à-vis du grapevine fanleaf virus, j'ai identifié des partenaires cellulaires de la protéine accessoire à la réplication et facteur d'avirulence 2A^{HP} du virus, par co-immunoprécipitation et spectrométrie de masse en tandem. Neuf protéines pourraient intervenir dans la résistance dominante, six comme cofacteurs ou protéines R non conventionnelles et trois comme NLR de type helper. Parmi les facteurs de susceptibilité potentiels de nombreux candidats sont connus pour leur rôle dans la traduction coiffe-indépendante, le transport de vésicules et le système du protéasome. Parallèlement j'ai étudié l'interaction entre la protéine virale 1A et les isoformes ATG8a, ATG8c1 et ATG8i de l'autophagie, par mutagenèse aléatoire de la protéine virale. En contexte viral, cinq des neuf mutants générés ne sont plus infectieux parmi lesquels deux portent des substitutions de résidus essentiels dans des motifs prédits de liaison à ATG8 et modifient le profil d'interaction avec ATG8.

Mots-clé : HR, gène de résistance, facteurs de susceptibilité, GFLV, autophagie, interactions protéine-protéine, CoIP, gène dominant, gène récessif, népovirus.

Abstract

Plants possess dominant and recessive resistance genes to defend themselves against pathogens. Dominant R genes encode NLR receptors that induce hypersensitive response upon interaction with an avirulence factor. Recessive resistance genes are allelic variants of susceptibility genes. To uncover resistance genes against grapevine fanleaf virus, I identified the cellular interactants of protein 2A^{HP} which is both an avirulent factor and a replication associated protein. Nine proteins: six potential cofactors or unconventional R proteins and three helper type NLRs possibly participate in dominant resistance. Among possible susceptibility factors, many are involved in cap-independent translation, vesicular trafficking and the proteasome system. I also studied the interaction between GFLV 1A protein and isoforms ATG8a, ATG8c1 and ATG8i of the autophagy related proteins, using random mutagenesis to alter protein 1A. In the viral context, five of the nine generated mutants were no longer infectious, two of which harbored substitutions of important amino acids in putative ATG8-interacting motifs and further modified the pattern of ATG8 interaction.

Keywords: HR, resistance genes, susceptibility factors, autophagy, protein-protein interactions, CoIP, dominant gene, recessive gene, nepovirus, GFLV.