

Les Nanobodies, un nouvel outil de diagnostic de la maladie du court-noué de la vigne

Léa Ackerer

Résumé

La maladie du court-noué est principalement causée en Europe par le Grapevine fanleaf virus (GFLV) et l'Arabis mosaic virus (ArMV). Le principal moyen de lutte contre sa dispersion consiste à certifier l'absence de ces virus dans les vignes commercialisées par des méthodes sérologiques tels que le DAS-ELISA. De par leurs propriétés biophysique et structurale exceptionnelles, les Nanobodies (Nb) issus des domaines variables d'immunoglobulines (Ig) composées uniquement de chaînes lourdes, se distinguent avantageusement des Ig conventionnelles. L'objectif majeur de ma thèse était d'établir un test de diagnostic du court-noué à base de Nb. À partir de deux collections de Nb contre le GFLV et l'ArMV, j'ai identifié des Nb reconnaissant un large spectre d'isolats viraux. Leur fusion à une protéine fluorescente ou à la phosphatase alcaline a conduit à l'obtention de réactifs de détection performants du GFLV et de l'ArMV par DAS-ELISA. La structure atomique d'un complexe Nb/GFLV résolue à 2.8 Å par cryomicroscopie électronique a permis de cartographier l'épitope en surface du virus et a révélé une couverture maximale de la particule virale par le Nb. La comparaison des tests Nb à des réactifs sérologiques commerciaux a révélé leur supériorité en terme de sensibilité et de spécificité, ouvrant ainsi la voie à la commercialisation d'un nouveau test de diagnostic des virus du court-noué de la vigne.

Abstract

The grapevine fanleaf disease is mainly caused in Europe by the Grapevine fanleaf virus (GFLV) and the Arabis mosaic virus (ArMV). The principal mean to limit their spread, is to certify their absence in marketed grapevines by serological methods such as DAS-ELISA. Their unique biophysical and structural properties make the variable domains of heavy chain-only immunoglobulin, called Nanobodies (Nb) a real asset for the development of a diagnostic test against fanleaf disease viruses. I identified Nb able to detect a broad spectrum of viral isolates from two Nb collections against GFLV and ArMV. Their fusion to a fluorescent protein or to a bacterial alkaline phosphatase resulted in the production of efficient DAS-ELISA detection reagents. The atomic structure of a Nb/GFLV complex was solved at 2.8 Å by cryoelectron microscopy, allowing the precise mapping of the viral epitope. This result showed a maximum coverage of the viral particle by the Nb, leading to a maximal signal in DAS-ELISA. The full Nb tests against GFLV and ArMV were compared to commercial reagents and showed the superiority of the former in both sensitivity and specificity, opening the way for the development and commercialization of a new type of serological kits for the detection of grapevine viruses.