

# **Développement et utilisation de nanobodies dirigés contre le Grapevine fanleaf virus (GFLV) en lutte antivirale et comme biocapteur in planta**

**Caroline Hemmer**

## **Résumé**

Par leur stabilité, leur petite taille et leur nature monomérique, les domaines variables des immunoglobulines à chaînes lourdes, ou Nanobodies (Nb), sont incontournables en diagnostic et recherche médicale. Pourtant, leur utilisation en agro-biotechnologies demeure confidentielle. Dans l'idée de les utiliser pour étudier et combattre le Grapevine fanleaf virus (GFLV), responsable de la maladie du court-noué très préjudiciable à l'économie viticole mondiale, j'ai produit une collection de Nb spécifiques du GFLV. Fusionné à une protéine fluorescente et exprimé en plante de façon stable, un de ces Nb (alors appelé Chromobody, Cb) a conféré une haute résistance au GFLV inoculé mécaniquement ou transmis par nématodes. Le potentiel du Cb comme biocapteur a été validé par le suivi in vivo d'un isolat contournant la résistance mais toujours reconnu par le Cb. La structure du complexe Nb/GFLV a été résolue à 2,8 Å et révèle la zone occupée par le Nb à la surface de la capsid. Ces résultats ouvrent des perspectives innovantes pour la compréhension du cycle infectieux d'un phytovirus et l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte antivirale.

## **Development and use of nanobodies against Grapevine fanleaf virus (GFLV) for antiviral resistance and live-cell imaging**

### **Abstract**

Due to their small size, high stability and strict monomeric nature, Nanobodies (Nbs) deriving from camelids heavy chain only antibodies have proven very valuable as diagnostic and therapeutic tools. However their use in agro biotechnology remains limited. In order to apply Nbs to the study and the control of grapevine fanleaf degeneration, I produced a collection of Nbs against Grapevine fanleaf virus (GFLV), the causal agent of this devastating disease worldwide. When fused to a fluorescent protein and stably expressed in plants, one of these Nbs (called Chromobody, Cb) conferred high resistance to GFLV, whether inoculated mechanically or by vector-mediated transmission. The identification of an isolate overcoming the resistance but still bound by the Cb allowed real-time tracking of the infection showing the high potential of Cbs as biosensors. The cryoEM structure of the Nb/GFLV complex was obtained at 2,8 Å and provides a clear picture of the footprint of the Nb on the surface of the GFLV capsid. These results pave the way for the innovative use of Nbs to unravel viral life cycle and to counter viral diseases.