

Le virus Y de la pomme de terre (PVY - genre *Potyvirus*, famille *Potyviridae*) est l'un des six virus dont la présence est réglementée lors du contrôle de la qualité sanitaire des semences de pomme de terre. En raison de sa gamme d'hôtes importante (principalement des solanacées), de sa capacité à être transmis par de nombreuses espèces de pucerons, le PVY est répandu sur tous les continents. Les isolats PVY se répartissent en groupes de souches (PVY⁰, PVY^N) et en variants (PVY^{NTN}, PVY^{N-W}) selon leurs propriétés biologique, moléculaire et sérologique. Depuis une trentaine d'années, des anticorps monoclonaux commerciaux sont disponibles permettant la détection et l'identification de deux groupes sérologiques au sein du PVY : sérotype-O (PVY⁰, PVY^{N-W}) et sérotype-N (PVY^N, PVY^{NTN}). Cependant, la fiabilité de ces outils est remise en question suite à la description récente de sérotypes particuliers. Grâce au développement d'une banque d'anticorps monoclonaux (Mabs) adaptée à la diversité du PVY, nous nous proposons de décrire la variabilité immunologique des populations de PVY et d'étudier les interactions antigène/anticorps afin de développer des outils de diagnostic plus performants.

Matériels et Méthodes

La région N-terminale (N-ter) de la protéine de capsid (CP) de 82 isolats PVY^N et 49 isolats PVY⁰ du laboratoire a été séquencée et comparée à celles disponibles dans les banques de données (Figures 1 et 2).

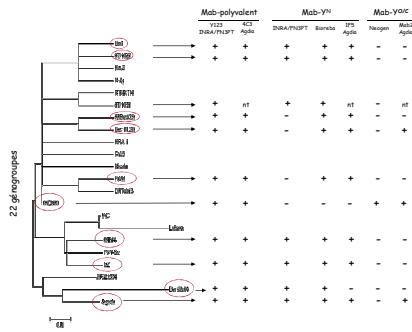


Figure 1 : Confrontation entre la diversité moléculaire observée sur la région N-terminale de la CP des isolats PVY^N et la diversité sérologique des 22 groupes obtenus avec les Mabs de référence. nt : non testé ; ○ : isolats PVY^N sélectionnés pour développer la banque de Mabs.

- Sur la base de leurs caractéristiques moléculaire (CP N-ter) et sérologique, 10 isolats PVY^N et 11 isolats PVY⁰ ont été sélectionnés pour les procédures d'immunisation de souris.

- Deux lots de cinq souris (BalbC) ont été immunisés indépendamment par deux injections intra podales (à 14 jours d'intervalle) avec les 10 isolats PVY^N en mélange ou les 11 isolats PVY⁰.

- Les ganglions poplités de chacune des cinq souris ont été prélevés et regroupés pour générer des hybridomes à partir des lymphocytes qu'ils contenaient.

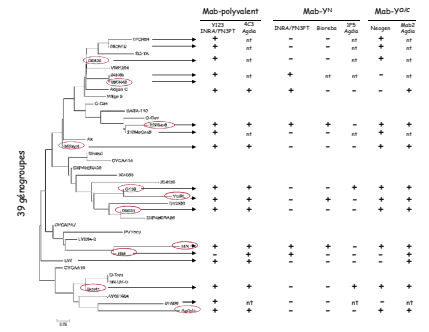


Figure 2 : Confrontation entre la diversité moléculaire observée sur la région N-terminale de la CP des isolats PVY⁰ et la diversité sérologique des 39 groupes obtenus avec les Mabs de référence. nt : non testé ; ○ : isolats PVY⁰ sélectionnés pour développer la banque de Mabs.

Variabilité sérologique

1 Obtention de la banque de Mabs

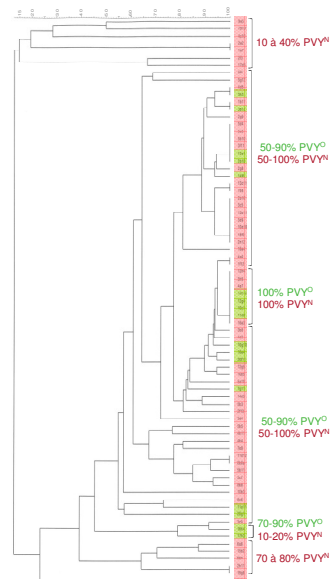


Figure 3 : Regroupement des 77 Mabs de la banque selon leur réactivité vis-à-vis des 21 isolats PVY utilisés pour les immunisations. □ : Mabs obtenus suite à l'immunisation des isolats PVY^N / des isolats PVY⁰.

- Une banque de 77 Mabs a été obtenue :
 - 17 suite à l'immunisation des isolats PVY⁰.
 - 60 suite à l'immunisation des isolats PVY^N.

- Basé sur la spécificité de reconnaissance de cette gamme d'isolat de référence (21 isolats PVY^N et PVY⁰), ces 77 Mabs se répartissent en 52 groupes (Figure 3).

- 8 Mabs polyvalents reconnaissent ces 21 isolats PVY

- 11 Mabs reconnaissent spécifiquement les 10 isolats PVY^N.

- La majorité des Mabs reconnaissent aléatoirement tout ou partie de notre gamme d'isolats de référence PVY⁰ et PVY^N.

2 Réactivité des Mabs

- Les 17 Mabs obtenus par immunisation des isolats PVY⁰ ont été confrontés à une première série de 130 isolats PVY européens recueillis dans le cadre du consortium « PVY^{wide} organization ».
- Chacun de ces Mabs présente une spécificité de réaction différente.

3 Recherche des régions antigéniques

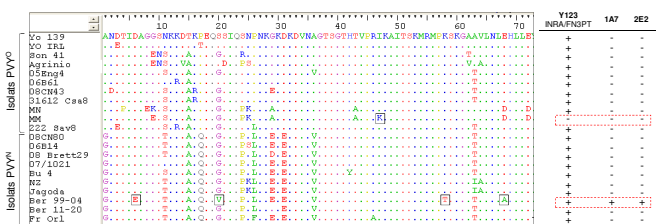


Figure 4 : Confrontation entre l'alignement de séquences de la protéine de capsid des isolats PVY utilisés pour les immunisations et la réactivité de différents anticorps monoclonaux (Y123, 1A7, 2E2). □ : acides aminés potentiellement impliqués dans la reconnaissance antigène-anticorps.

- La mutation de l'acide aminé I/K en position 47 bloquerait la réaction antigène/anticorps avec le MAb Y123 (isolat MM).
- Les acides aminés en position 6, 20, 58 et/ou 68 semblent impliqués dans une région antigénique reconnue par les Mabs 1A7 et 2E2 (isolat Ber 99-04).

Conclusions et perspectives

- Le PVY présente une diversité sérologique beaucoup plus importante que celle estimée dans les années 80. Les 77 Mabs de la banque révèlent au minimum la présence de 52 épitopes sur la particule virale.
- Les isolats PVY^N présentent au moins 10 épitopes dont la fréquence varie au sein de cette population.
- L'association de deux Mabs de la banque nous permet de disposer d'un outil de détection/identification des isolats PVY^N.

- Poursuivre le typage sérologique des anticorps monoclonaux de la banque sur notre collection d'isolats PVY recueillis en Europe et sur les autres continents.
- Affiner l'analyse de la variabilité sérologique du PVY en définissant les différentes régions antigéniques.
- Définir les outils sérologiques les mieux adaptés afin de suivre les différentes populations de PVY.