Genomorganisation der RNA1 des *Cherry leaf roll virus* (CLRV)

S. von Bargen[1], J. Langer[1], A. Rumbou[1], J. Gentkow[2], C. Büttner[1]

[1] Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57,D-14195 Berlin, susanne.von.bargen@agrar.hu-berlin.de

[2] aktuelle Adresse: Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie, Weinberg 3, D-06120 Halle/Saale

Einleitung

Bisher ist die Genomorganisation des *Cherry leaf roll virus* (CLRV), welches viele Obst- und Laubgehölze infiziert, bis auf wenige Sequenzinformationen der 3´ proximalen Bereiche der RNA1 und RNA2 nicht bekannt. CLRV wurde aufgrund der langen 3´ nicht-kodierenden Region in die Subgruppe C der Nepoviren eingeordnet.

Methoden und Ergebnisse

Die RNA1 des bipartiten Genoms eines CLRV-Isolates aus Rhabarber (Rheum rhabarbarum, E395) wurde sequenziert und mit anderen Nepoviren der Subgruppe C - *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Blackcurrant reversion virus* (BRV) und *Peach rosette mosaic virus* (PRMV) - verglichen. Das Polyprotein1 des Rhabarberisolates (PP1, ORF12-6350 nt; 2112 Aminosäuren) enthält N-terminal einen Protease-Cofaktor (**PCo**), gefolgt von einer NTB-bindenden Protein-Domäne (**NTB**) dem genomgekoppelten viralen Protein (**VPg**) sowie eine Protease (**Pro**) und die virale Replikase (**RdRp**). Die Funktion der putativen Proteine konnte anhand charakteristischer Aminosäure-(aa) Sequenzmotive identifiziert werden. Für das virale VPg von CLRV, welches höchste Ähnlichkeiten zum ToRSV-VPg kodierenden Bereich aufweist, wurden mit Hilfe der Computerprogramme NetPicoRNA V1.0 bzw. NetCorona V1.0 Protease-Schnittstellen an ähnlicher Position vorhergesagt (Q1121/S1122 und Q1150/S1151), wie sie für das *Tomato ringspot virus* (ToRSV) determiniert wurden.

Schlussfolgerung

Die Genomorganisation der RNA1 der CLRV Isolate E395 aus Rhabarber und E326 aus dem holzigen Wirt Walnuss entspricht der anderer Nepoviren der Subgruppe C.

Literatur

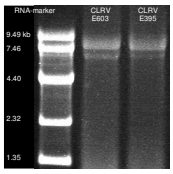
Argos (1988) NAR 16, 9909-9919; **Gorbalenya** et al. (1989a) J. Mol. Evol. 24, 256-268; **Gorbalenya** et al. (1989b) FEBS letters 243, 103-114; **Rott** et al. (1995) JGV 76, 465-473; **Wang** et al. (1999) JGV 80, 799-809.

Genomorganisation des Isolates CLRV-E395

RNA1, 7918 nt (ORF: Nukleotide 12-6350; Polyprotein 1: 2112 aa)

RNA2, ca. 6800 nt

virale RNA



Genomische RNA der Isolate E603 und E395. Denaturierende Agarosegel-Elektrophorese gereinigter CLRV-Partikel.

Motiv des Protease-Cofaktors (PCo)

```
                          490       500       510       520       530       540       550       560
                   ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
CLRV-E395          FVRALRDEFSNSVGKYLNAVSEYKAQIENFWAWAVRWSNNLMNKVDVSLRALQGSAFFAAALVIVGGIVYLIENLLPPAA 467
CLRV-E326          FVRALRDEFSNSVGKYLNAVSEYKAQIENFWAWAVRWSNNLMNKVDVSLRTLQGSAFFAAALVIIGGIVYLIENLLPPAT 467
BRV-NC003509       FFQTLKSKFFEFLKPYIQHAIYASAEIEKYWAFIHGWATKMWNNVGVELQALGDAAWWAIGITMVCGIVTLVEKLLVYLG 463
ToRSV-NC003840     FVKLLREHFDDTIGKWIPKLLGATQKIEELWRWSLEWAQNMSKKLDVSLRVLRGSALVGVGLLLVSGILYFAEQLLRSFG 553
PRMV-AF06626       ILDKCKYCFMSTFSPFLASLQSAKAEIEKFWQNCMSWARNLWSKAHLALQALGLYAIWALVLTILCGIVYLLESLFITAG 455
Consensus          :.   :  * . .  ::      . :**: *     *: :: .:  : *:.*   *  .  : :: **: : *.*:
                              FxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxWxxxxxxxxxxxLxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxLxE
```

F-x$_{27}$-W-x$_{11}$-L-x$_{21}$-L-x$_{1}$-E (Rott et al., 1995)

Motiv des Nukleotid-bindenden Proteins (NTBp)

```
                          810       820       830       840       850       860       870       880
                   ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
CLRV-E395          YFFGKARTGKTIFANNFKNTMVQYLGTTSENIFYKNARDQFWPKYRQQAIVIVDDLSAVENPPS--LESEFIQLMSTMPY 778
CLRV-E326          YFFGKARTGKTIFANNFKNTMVQYLGTTSENIFYKNARDQFWPKYRQQAIVIVDDLSAVENPPS--LESEFIQLMSTMPY 778
BRV-NC003509       YIYGKSHCGKSLFMEDVSRALLKENGHAPNDIYAKNARDSFWSGYLQHACVQVDDLSACVTRPS--LESEFLQLVGSKMY 773
ToRSV-NC003840     YLYGGPRCGKSLFAQSFMNAAVDFMGTTVDNCYFKNARDDFWSGYRQEAICCVDDLSSCETQPS--IESEFIQLITTMRY 870
PRMV-AF06626       YIFGASQCGKSTLANYLCPLLLAHMGWDAHDVYSKDPTEGYWSGYYQQKCLKMDDLSAVVPKQVSPLEQQLIPLISTEEK 772
Consensus          *::* .: **: : : .    :   *   .: : *:. : :*. * *.    :****:        :*.::: *: :
                      GxxGxGKS/TxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxDD
```

Gxx(G)xGKS/T-x$_{n}$-D/ED (Gorbalenya et al., 1989a)

putatives VPg (3.28 kDa) mit flankierenden 3C-Protease (Pro) Erkennungsstellen

```
                          1240      1250      1260      1270      1280      1290      1300      1310
                   ....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|....|
CLRV-E395          RQIFCGGVG-AGSAGAMMKMSVQS-------TIPSGSDVQSYASRNLRRVYRPTRLGLQSAMNPVETVSQAEQLMAWIDT 1171
CLRV-E326          RQIFCGGVG-AGSAGAMMKMSVQS-------TVPSGSDVQSYASRNLRRVYRPTRLGLQSAMNPVETVSQAEQLMAWIDT 1171
BRV-NC003509       QTFVAGTSSALVSAGMITQLSANAGSVCTSASNPSGAASYVSSNIPIHHRWRSNYSERSYALNSNLEDKYLLDLLVWLQI 1155
ToRSV-NC003840     QAIFCGAAGGTVSMAAVGKMTVQS-------TIPSGSYADVYNARNMTRVFRPQSVQGSSLAEAQFNESHAVNMLVRIDL 1262
PRMV-AF06626       KTFLSGSVGFGSALALKNQLDVHSSVASSGSIATQSYARSIPIVWAKVARYANVHSQVEESSHFNFFEDGLAHLLVRLVG 1198
Consensus          : :..*  .   : .   :: .::          ...          :      .   .   .   .::. :   274
```

predicted by NetPicoRNA V1.0 (0.546) NetCorona V1.0 (0.545)
NetCorona V1.0 (0.677)

Q/E ✂ G/S (Wang et al., 1999)

Motiv der viralen Cystein-Protease (Pro)

H-x$_{30-46}$-E-x$_{69-101}$-CG-x$_{6-8}$-G-x$_{3-5}$-G-x-H/LxxG
(Gorbalenya et al., 1989b)

H-x$_{47}$-E-x$_{104}$-CG-x$_{6-8}$-G-x$_{3-5}$-N-x-H/LxxG CLRV, Nepovirus Subgruppe C

Motiv der viralen Replikase (RdRp)

DxxxD-x$_{n}$-DxxxTxxxN-x$_{n}$-GDD
(Argos, 1988)

Danksagung

Finanziell wurde das Projekt durch die DFG (Bu890/8-1 und Bu890/8-2) unterstützt.