

Genomorganisation der RNA2 des *Cherry leaf roll virus* (CLRv)



S. von Barga¹, J. Langer¹, A. Rumbou², J. Gentkow³, C. Büttner¹

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Phytomedizin, c/o JKI, Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin, susanne.von.barga@agrar.hu-berlin.de

² aktuelle Adresse: NAGREF, Volos, Griechenland

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

Einleitung

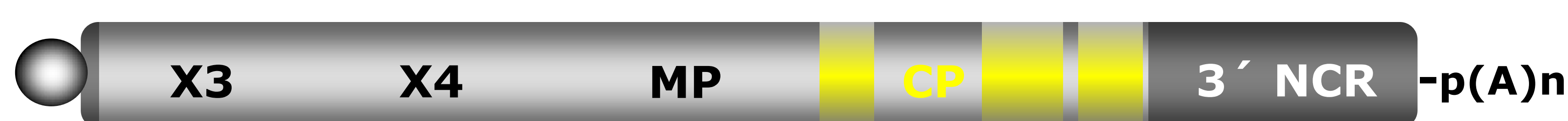
Bisher ist die Genomorganisation des *Cherry leaf roll virus* (CLRv), welches viele Laubgehölze infiziert, bis auf wenige Sequenzinformationen der 3' proximalen Bereiche der RNA1 und RNA2 nicht veröffentlicht. CLRv wurde aufgrund der langen 3' nicht-kodierenden Region in die Subgruppe C der Nepoviren eingeordnet. Nach vollständiger Sequenzierung der RNA1 eines CLRv-Isolates aus Rhabarber (E395) liegt erstmals eine vollständige RNA2-Sequenz dieses Virus vor.

Genomorganisation des Isolates CLRv-E395 aus Rhabarber

RNA1, 7922 nt (ORF: Nukleotide 12-6350; Polyprotein 1: 2112 aa, 236 kDa)



RNA2, 6365 nt (ORF: Nukleotide 12-4781; Polyprotein 2: 1589 aa, 175 kDa)



virale RNA

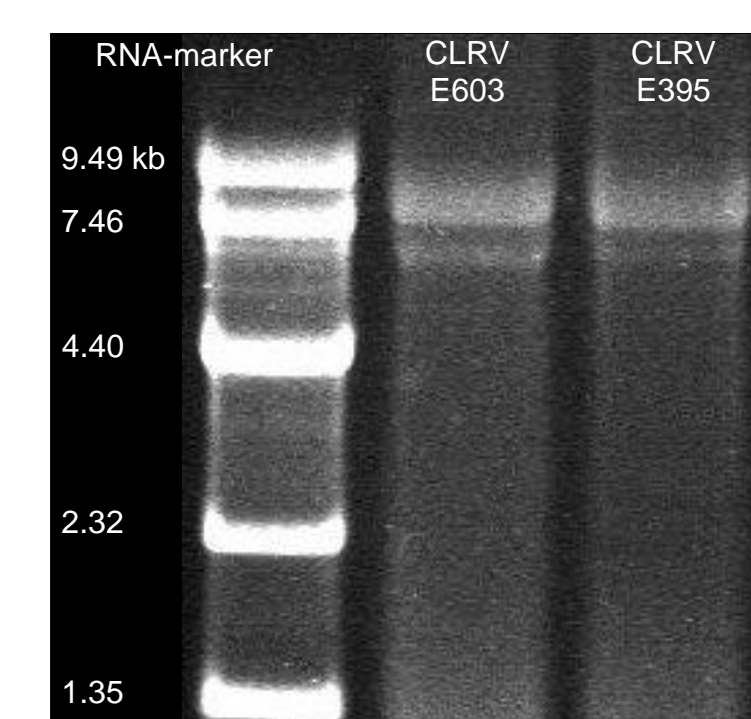


Abb 1: Genomorganisation von CLRv (links) sowie virale RNA der Isolate E603 bzw. E395 (oben). Denaturierende Agaroselelektrophorese gereinigter CLRv-Partikel.

5' terminale Homologie des bipartiten CLRv-Genoms

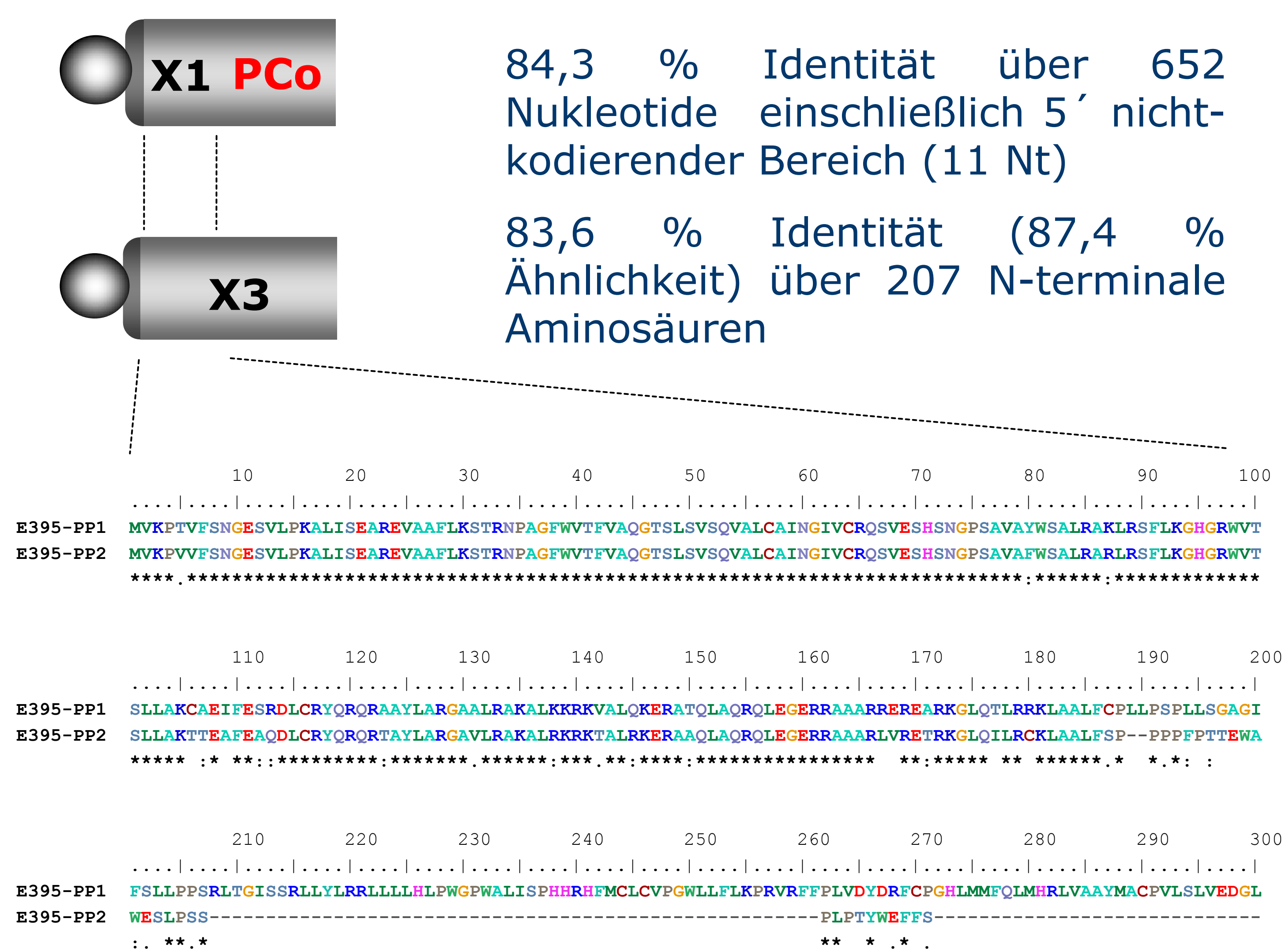


Abb. 2: Aminosäure-Sequenzalignment (ClustalW) der homologen Region des RNA1-kodierten Polyproteins (PP1) mit dem RNA2-kodierten PP2 des Isolates CLRv-E395 (aus Rhabarber). Identische Aminosäuren sind mit einem Stern markiert, ähnliche mit einem Punkt bzw. Doppelpunkt gekennzeichnet. Die Identitäts- bzw. Ähnlichkeitsanalyse wurde mit Hilfe der Ähnlichkeitsmatrix BLOSUM62 kalkuliert.

Hüllprotein (CP) 512 aa, 56,3 kDa



PP21086-1182 aa PP21246-1414 aa PP21419-1580 aa

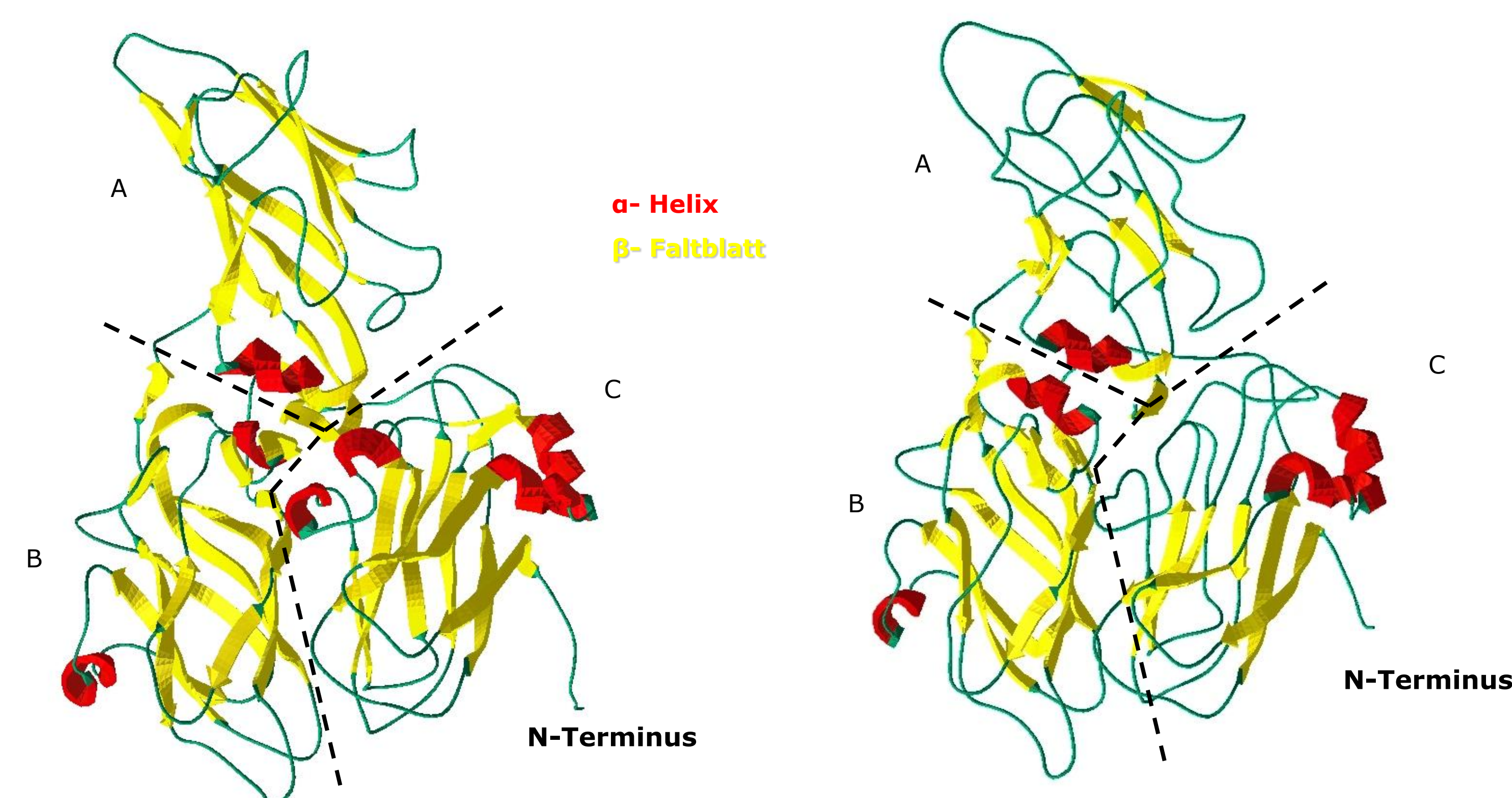


Abb. 3: Das auf der Grundlage der Aminosäuresequenz berechnete Strukturmodell des CLRv-Hüllproteins (rechts) zeigt einen ähnlichen Aufbau wie das Modell des TRSV-Hüllproteins nach Chandrasekar und Johnson (links). Das Protein enthält drei Strukturdomänen (N-terminal = C, central = B und C-terminal = A).

Methoden und Ergebnisse

Die RNA2 wurde durch cDNA-Synthese Verfahren in Kombination mit RT-PCR kloniert, sequenziert und mit anderen Nepoviren - *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Blackcurrant reversion virus* (BRV) und *Tobacco ringspot virus* (TRSV) - verglichen.

Die RNA2 des CLRv-E395 (6365 Nukleotide ohne poly-A Schwanz) enthält 5' proximal eine 652 Nukleotide lange Region, die zur RNA1 homolog ist (Abb. 2) und für ein Alanin-reiches Polypeptid kodiert wie bereits für ToRSV und andere Nepoviren beschrieben (Rott et al. 1991; Lammers et al. 1999). Die Funktion der putativen Proteine X1 bzw. X3 ist bisher für kein Virus innerhalb des Genus bekannt. Vorausgesetzt die Translation wird am 1. Startcodon (AUG, Position 12) initiiert, kodiert die CLRv-RNA2 ein 1589 Aminosäure langes Polyprotein (PP2) mit einer molekularen Masse von 174,86 kDa. Das putative RNA2-kodierte X4-Protein (Abb. 1) weist in der BLAST-Analyse (BlastX, Standardeinstellungen) keine signifikanten Sequenzhomologien zu in den Datenbanken hinterlegten Proteinsequenzen auf. Der C-proximale Teil des PP2 kodiert für das putative Transportprotein (MP), welches höchste Aminosäure-Identitäten zum MP von ToRSV aufweist, sowie das virale Hüllprotein (CP, 512 Aminosäuren, 56,3 kDa).

Die Sequenz des CP enthält 3 für Nepoviren charakteristische Proteindomänen (Abb. 3).

Schlussfolgerung

Die Genomorganisation der RNA2 des CLRv-Isolates E395 aus Rhabarber zeigt höchste Übereinstimmungen zur RNA2 des ToRSV Subgruppe C.

Literatur

- Rott M.E., Tremaine J.H., Rochon D.M. 1991. JGV 76, 465-473.
- Chandrasekar V. und Johnson J.E. 1998. Structure 6, 157-171.
- Lammers A.H., Allison R.F., Ramsdell D.C. 1999. Virus Research 65, 57-73.

Danksagung

Finanziell wurde das Projekt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Bu890/8-1 und Bu890/8-2) unterstützt. Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten - seit Beginn der Großbaumaßnahmen unseres Gebäudes - am Julius Kühn-Institut in Dahlem durchführen und haben dort unseren vorübergehenden Sitz.