

## Charakterisierung der viralen Proteinase des *Cherry leaf roll virus* (CLRV)

Rott M., Büttner C., von Barga S.

Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin

Nepoviren (Familie *Secoviridae*, Sanfacon *et al.*, 2009) besitzen zwei RNAs, die zu zwei Polyproteinen translatiert werden. Aus diesen Polyproteinen können intermediäre, durch eine virale Proteinase teilweise prozessierte, sowie final maturierte Proteine hervorgehen, die verschiedene Aktivitäten haben (Chisholm *et al.*, 2001). Der regulierten Maturation der Polyproteine kann also im Rahmen der Verbreitungs- und Vermehrungsstrategie des Virus eine essentielle Funktion zukommen. Die Voraussetzung für die funktionale Charakterisierung viraler Genprodukte ist daher die Aufklärung der Prozessierung in ihre Untereinheiten.

Das bipartite Genom von *Cherry leaf roll virus* (CLRV, *Nepovirus* der Subgruppe C) kodiert die zwei Polyproteine P1 und P2. P1 beinhaltet charakteristische Domänen für einen Proteinase-Cofaktor (PCo), eine Helikase (Hel), ein *genome-linked* Protein (VPg), eine Proteinase (Pro) und eine RNA-abhängige Polymerase (Pol). P2 beinhaltet das *movement Protein* (MP) und das *coat Protein* (CP) (von Barga *et al.*, 2012). Die Polyproteine werden durch die Proteinase zu funktionellen Einheiten maturiert. Die Analyse der Vollängensequenz zeigt potentielle Prozessierungsstellen, die analog zu experimentell bestätigten Schnittstellen verwandter Proteinasen aus Nepoviren liegen (Wang und Sanfacon, 2000, Wetzel *et al.*, 2008).

Zur funktionalen Charakterisierung der Proteinase von CLRV werden diese, sowie die Bereiche der beiden Polyproteine, die putative Erkennungsstellen kodieren, *in vitro* exprimiert. Anschließend werden die proteolytische Aktivität der Proteinase, sowie die putativen Prozessierungsstellen der Polyproteine *in vitro* experimentell verifiziert.

von Barga S; Langer J; Robel J; Rumbou A; Büttner C (2012). Complete nucleotide sequence of *Cherry leaf roll virus* (CLRV), a subgroup C nepovirus. *Virus Research* 163, 678-683.

Chisholm J; Wieczorek A; Sanfacon H (2001). Expression and partial purification of recombinant tomato ringspot nepovirus 3C-like proteinase: comparison of the activity of the mature proteinase and the VPg-proteinase precursor. *Virus Research* 79,153-164.

Sanfacon H; Wellink J; Le Gall O; Karasev A; van der Vlugt R; Wetzel T (2009). *Secoviridae*: a proposed family of plant viruses within the order Picornavirales that combines the families *Sequiviridae* and *Comoviridae*, the unassigned genera *Cheravirus* and *Sadwavirus*, and the proposed genus *Torradovirus*. *Archives of Virology* 154, 899-907.

Wang A; Sanfacon H (2000). Proteolytic processing at a novel cleavage site in the N-terminal region of the tomato ringspot nepovirus RNA-1-encoded polyprotein *in vitro*. *Journal of*

*General Virology* 81, 2771–2781.

Wetzel T; Chisholm J; Bassler A; Sanfacon H (2008). Characterization of proteinase cleavage sites in the N-terminal region of the RNA1-encoded polyprotein from *Arabidopsis mosaic virus* (subgroup A nepovirus). *Virology* 375, 159-169.