

# Untersuchungen zur Translationsinitiation der RNA1- und RNA2-kodierten Polyproteine des Cherry leaf roll virus

## *Study of translation initiation of RNA1- and RNA2-encoded polyproteins of Cherry leaf roll virus*

Mathias Breuhahn<sup>1</sup>, Susanne von Bargaen<sup>1</sup>, Juliane Langer<sup>1</sup>, Markus Rott<sup>1</sup>, und Carmen Büttner<sup>1\*</sup>

### **Zusammenfassung**

*Cherry leaf roll virus* (CLRV), ein *Nepovirus* der Subgruppe C aus der Familie der *Secoviridae* besitzt ein bipartites Genom. Das aus einzelsträngiger positiv orientierter RNA bestehende Genom kodiert zwei Polyproteine (P1 und P2) (von Bargaen *et al.*, 2012). Das Virus weist aufgrund seiner weltweiten Verbreitung an Obst- und Laubgehölzen eine Vielzahl von genetischen Polymorphismen auf (Woo und Pearson, 2014). Sequenzvariabilitäten zeigen sich unter anderen in der 5' terminalen Region der viralen RNA. Einige CLRV Isolate besitzen nur ein Start-Codon, wohingegen andere innerhalb des offenen Leserahmens über ein zweites ATG verfügen, welches ebenfalls der Translationsinitiation dienen könnte. Ziel der Studie war die Überprüfung ob das zweite Start-Codon zur Translation der Polyproteine von CLRV genutzt wird. Dazu wurden die 5' terminalen Regionen der RNA1 und RNA2 von CLRV kloniert. Mittels overlap extension PCR wurden Konstrukte mit Punktmutationen erzeugt, in denen das erste, das zweite oder aber beide Start-Codons eliminiert waren. Die Expression der Polypeptide von den Wildtyp- bzw. mutierten Konstrukten erfolgte *in vitro*. Ergebnisse zur Identifikation der Start-Codons, die zur Expression von P1 und P2 des CLRV *in vitro* genutzt werden, werden vorgestellt.

### **Abstract**

*Cherry leaf roll virus* (CLRV) is a bipartite single-stranded (+) RNA virus of the family *Secoviridae* (Genus *Nepovirus*, subgroup C). Each genome segment encodes one large polyprotein (P1 and P2) (von Bargaen *et al.*, 2012). CLRV affecting fruit and other deciduous tree species worldwide is diverse as different isolates exhibit considerable genetic polymorphisms (Woo and Pearson, 2014). Sequence variabilities are also observed within the 5' terminal regions of the viral RNAs. Some isolates contain a single start codon, while others comprise a second in frame ATG in the open reading frames encoded by RNA1 and RNA2, which may serve as an alternative translation initiation site. To check this hypothesis we cloned the 5' terminal regions of RNA1 and RNA2 of CLRV. Point mutations of the first, the second or both tentative start codons were inserted by overlap extension PCR eliminating the ATG. Wildtype as well as mutated constructs were expressed *in vitro* and results of synthesized polyproteins from different initiation sites are presented.

### **Literatur**

VON BARGEN 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.  
WOO ENY, PEARSON MN, 2014: Comparison of complete nucleotide sequences and genome organization of six distinct cherry leaf roll virus isolates from New Zealand. *Archives of Virology* 159, 3443-3445.

### **Adresse der Autoren**

<sup>1</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

\* Ansprechpartner: PROF. DR. Carmen BÜTTNER, [phytomedizin@agrار.hu-berlin.de](mailto:phytomedizin@agrار.hu-berlin.de)