

Die nicht-kodierenden Genomregionen des *Cherry leaf roll virus*

J. Langer, S. von Bargaen, C. Büttner

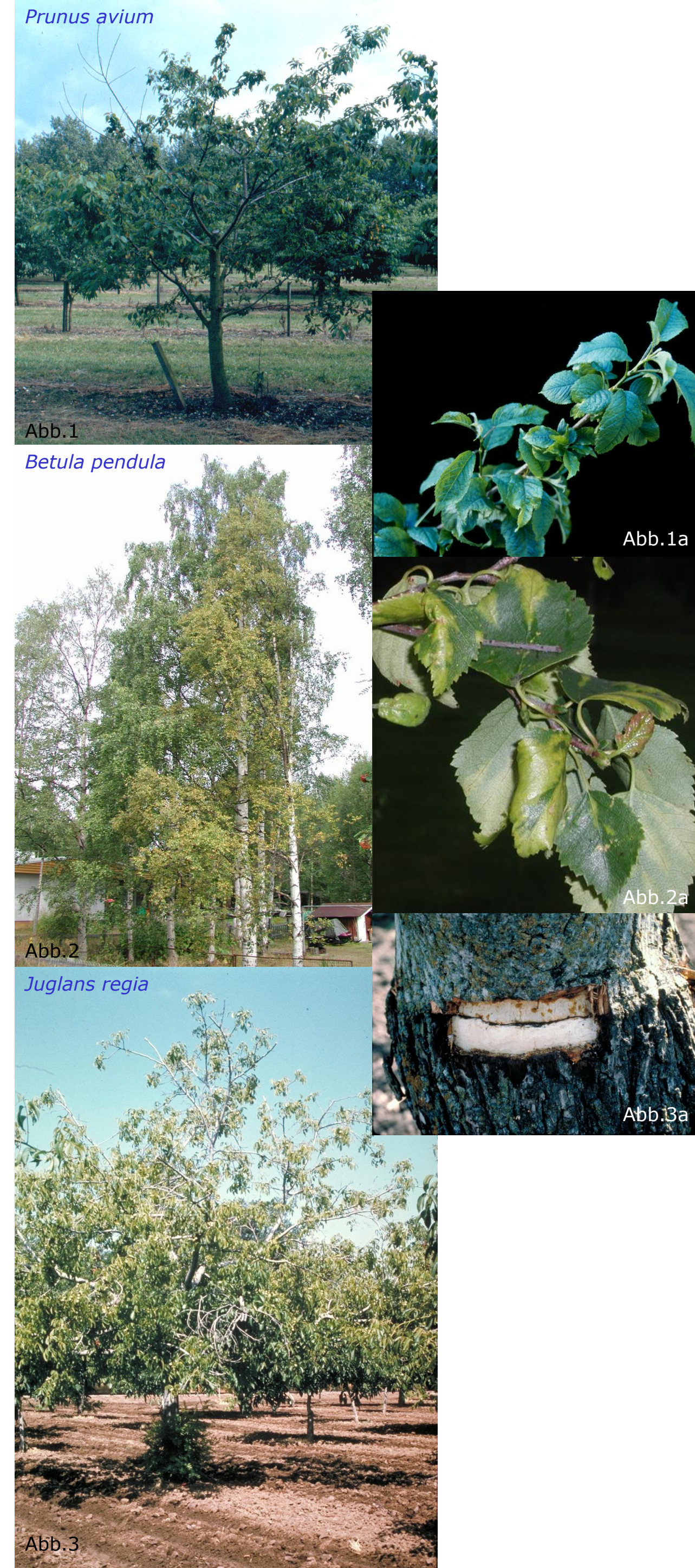
Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät,
Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften,
Fachgebiet Phytomedizin; Königin-Luise-Str. 19, D-14195 Berlin
phytomedizin@agrar.hu-berlin.de



Wirtspflanzenkreis des *Cherry leaf roll virus*

Das natürliche Auftreten des *Cherry leaf roll virus* wurde weltweit an Laub, Obst- und Ziergehölzen in 17 Gattungen nachgewiesen, dabei besonders häufig an *Betula* spp., *Sambucus nigra*, *Juglans regia* und *Prunus avium*. Eine schnelle Verbreitung des Virus beobachten wir seit 2003 in Finnland, wo die Zunahme von virusverdächtigen Symptomen in den landesweiten Birkenbeständen mit CLRV-Infektionen assoziiert werden konnte.

Ein charakteristisches Symptom einer CLRV-Infektion ist die bei bestimmten Walnuss-Pfropfkombinationen auftretende „Blackline Disease“, gekennzeichnet durch eine Gewebenekrotisierung der Pfropfstelle im kambialen Stammbereich infolge einer CLRV-Infektion (Abb.3a).



Molekulare Charakteristika des *Cherry leaf roll virus*

CLRV ist ein Nepovirus der Familie *Comoviridae* mit einem bipartiten, einzelsträngigen (+)RNA-Genom. RNA1 und RNA2 eines CLRV-Isolats (E395, Rhabarber) konnten vollständig sequenziert werden (Abb. 4). Die Genomorganisation des CLRV entspricht der von anderen Nepoviren. Beide RNAs besitzen einen offenen Leserahmen, jeweils begrenzt durch eine 5' und eine 3' nicht-kodierende Region (NCR). Beide ORFs kodieren jeweils für ein Polyprotein, die posttranslational durch RNA1 kodierte Proteasen in die einzelnen funktionellen Proteine gespalten werden. Im Vergleich zu anderen Nepoviren der Subgruppe C besitzt das CLRV sowohl die kürzeste 5' NCR (Abb. 5) als auch die längste 3' NCR (Abb. 6).

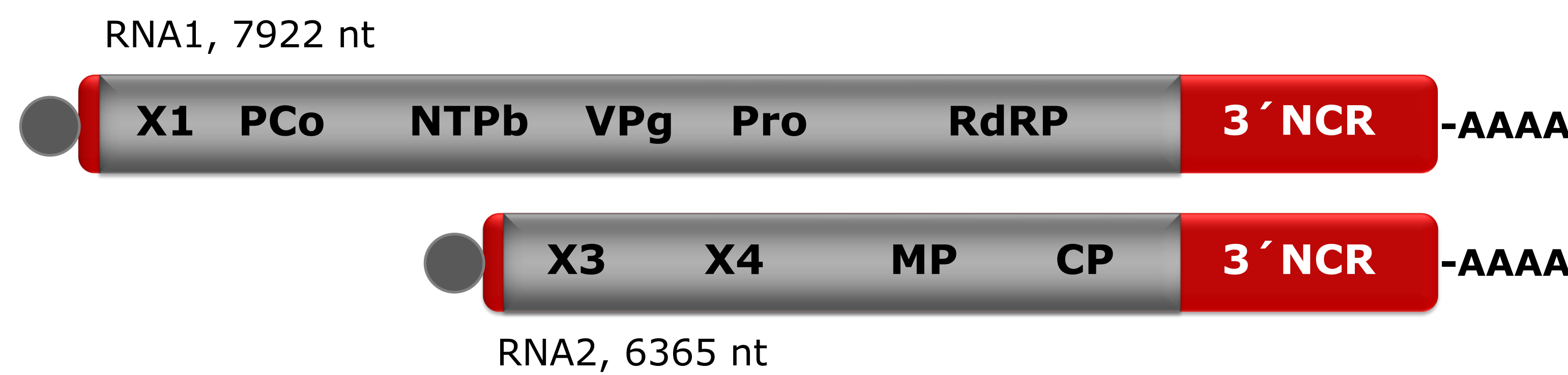


Abb.4: Genomorganisation des Isolates CLRV-E395 aus Rhabarber

Die CLRV-5' nicht kodierenden Regionen (11 nt)

5' end consensus, nepoviruses (Fuchs et al., 1989)

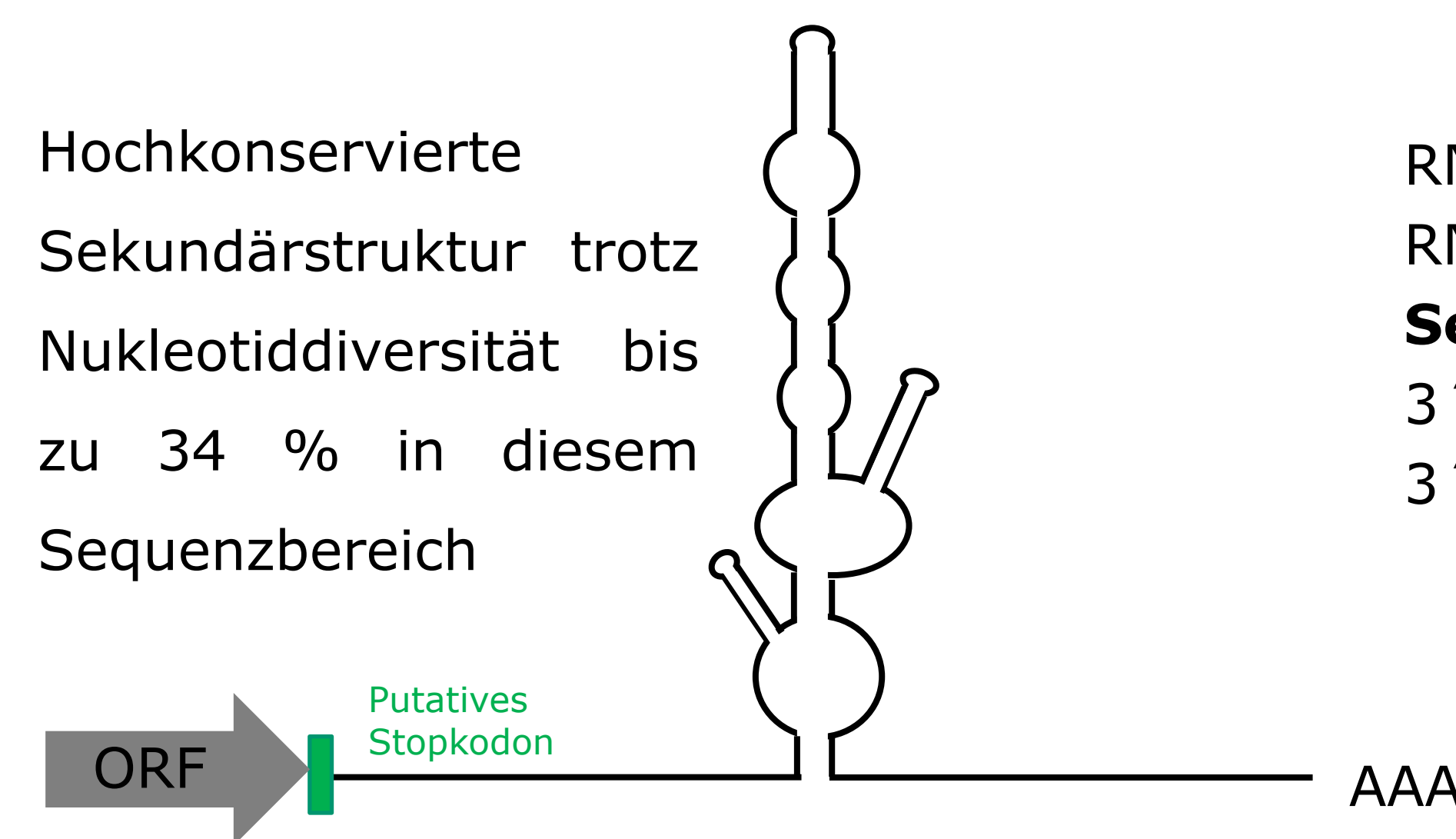
U (U/G) G A A A A (U/A) (U/A) (U/A)	
RpRSV	-----UUUGUCUUCAUCUCAGUC...136 nt
GFLV	-AUGAAAA-UUUCACCAAGUUCUACG...242 nt
AzMV	-AUGAAAA-UUUUUGUGGAGUUUUUA...227 nt
TRSV	-UUGAAAA-UUCUCGCACAAGGUUCCCG...100 nt
TBRV	-UUGAAAA-GAAUUUUCAAGUCUUCGC...239 nt
BRSV	-UUGAAAA-UAAUUUUCAAGUCUUUAC...260 nt
GCMV	-UUGGAAA-AUUUUUCCAAAAGCUUAUA...215 nt
ToRSV	NNAGCGAAAAUCUGGUGAUUUCCAACUU...77 nt
BRV	UUUCAAAAAGCUCUUUCCUAGAACUUUUG...66 nt
CLRV-E395	-UUGAAAACAAUUGGUAAGCCACAG...11 nt
CLRV-E603	UUUGAAAACAAUUGGUAAGCCACAG...12 nt
CLRV-E327	-UUGAAAACAAUUGGUAAGCCACAG...11 nt
CLRV-E326	-UUGAAAACAAUUGGUCAGGCCAUAG...11 nt

Putatives Startkodon

Optimaler Kozak-Kontext AAAUUGG, identisch zu dem in dikotylen Pflanzen-mRNAs für ribosomales Scanning (Translationsstart)

Abb. 5: Vergleich der CLRV-5' NCR mit anderen Nepoviren

Die CLRV-3' nicht kodierenden Regionen (6 CLRV-Isolate)



Hochkonservierte Sekundärstruktur trotz Nukleotiddiversität bis zu 34 % in diesem Sequenzbereich

RNA1-3' NCR: 1538-1587 nt
RNA2-3' NCR: 1554-1602 nt
Sequenzdiversität
3' NCR-RNA1/RNA2: bis 5%
3' NCR/6 Isolate: 4-22%

Abb. 6: Hohe Sequenzidentitäten der 3' NCRs der RNA1 und RNA2 eines CLRV-Isolates und auch zwischen den Isolaten

Sequenzanalysen beider nicht-kodierenden Genomregionen lassen vermuten, dass beim CLRV die funktionelle Regulation der Translation anders als bei anderen Nepoviren organisiert ist.

Funktion der nicht-kodierenden Regionen im cap-unabhängigen Translationsmodell am Beispiel des *Blackcurrant reversion virus* (Nepovirus Subgruppe C)

IRES

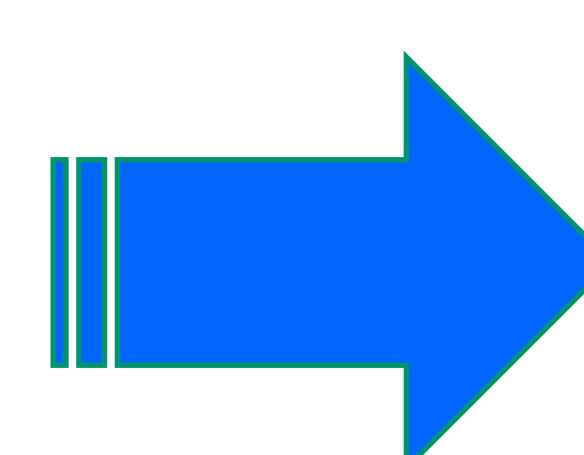
Internal ribosomal entry site (Rekrutierung der pflanzlichen Ribosomen an die virale RNA)

Kissing stem loops

Direkte Basenpaarungen zwischen 5' und 3' stem loops (Zirkularisierung der viralen RNA: räumliche Nähe der beiden RNA-Enden)

CITE

Cap-independent translational enhancer: Sequenzbereich innerhalb der 3' NCR; steigert die Translationseffizienz



Keine Hinweise auf eine cap-unabhängige Translationsinitiation nach Sequenzanalyse der CLRV-RNA1- 5' - und 3' NCRs

- keine IRES-ähnlichen Strukturen innerhalb der 5' NCR
- optimaler Sequenzkontext des Startkodons für Translationsinitiation
- keine komplementären Nukleotidbereiche mit Basenpaarungspotential zwischen 5' -and 3' NCR
- bislang keine Identifikation von CITES

Danksagung

Dieses Projekt wird finanziell durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Bu 890/12-1) unterstützt. Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten - seit Beginn der Großbaumaßnahmen in unserem Gebäude - am Julius Kühn-Institut in Dahlem durchführen und haben dort unseren vorübergehenden Sitz in der Königin-Luise-Str. 19, 14195 Berlin