

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).

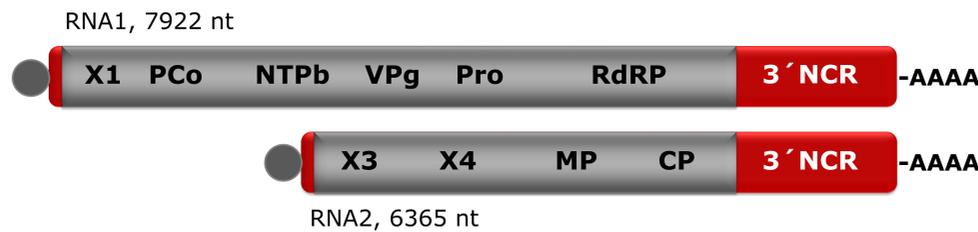


Abb.4: Genomorganisation des Isolates CLRV-E395 aus Rhabarber

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

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

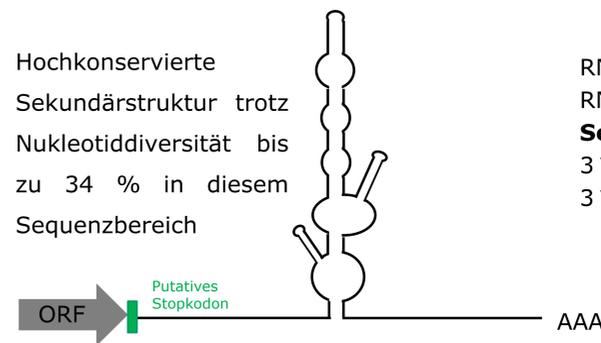
U (U/G) G A A A A (U/A) (U/A) (U/A)	
RpRSV	-----UUUGUCUUCAUCUCAGUC...136 nt
GFLV	-AUGAAAA-UUUCACCAAGUUCUACG...242 nt
AzMV	-AUGAAAA-UUUUUGUGGAGUUUUUA...227 nt
TRSV	-UUGAAAA-UUCUCGCACAAGGUUCCCG...100 nt
TBRV	-UUGAAAA-GAAAUUUUCAAGUCUUCGC...239 nt
BRSV	-UUGAAAA-UAAUUUUUCAAGUCUUUAC...260 nt
GCMV	-UUGGAAA-AUUUUUCCAAAAGCUUAUA...215 nt
ToRSV	NNAGCGAAAAUCUGGUGAUUCCACUU...77 nt
BRV	UUUCAAAAAGCUCUUUCUAGAACUUUUG...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

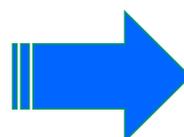
Internal ribosomal entry site (Rekrutierung der pflanzlichen Ribosomen an die virale RNA)

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