



Vergleich der Hüllproteine ausgewählter *Cherry leaf roll virus*-Isolate aus unterschiedlichen genetischen Gruppen

J. Langer, J. Gentkow, K. Petrik, A. Rumbou, S. von Bargaen, C. Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55-57, 14195 Berlin; E-mail: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Einführung

Das *Cherry leaf roll nepovirus* (CLRV), ein Vertreter der Familie *Comoviridae*, ist ein weltweit verbreitetes Pathogen an Obstgehölzen, Zier- und Gemüsepflanzen. CLRV-Isolate weisen sowohl unterschiedliche serologische Eigenschaften auf als auch eine Wirtspflanzen-spezifische Variabilität innerhalb eines 380 bp langen Teilbereichs der 3'-nicht translatierten Region (3'-UTR) der viralen RNA. 73 untersuchte CLRV-Isolate aus insgesamt 20 unterschiedlichen holzigen Wirtspflanzen wiesen Sequenzunterschiede bis zu 16,4 % auf und ließen sich in sechs phylogenetische Gruppen einteilen (**A = Süßkirsche**, **B = Rhabarber**, **C = Himbeere**, **D1 = Walnuss-West**, **D2 = Walnuss-Ost**, **E = Holunder**; REBENSTORF, 2005).

Die genetische Diversität von CLRV-Isolaten innerhalb kodierender Genomabschnitte wurde anhand der vollständigen Hüllprotein-Sequenzen von 12 Isolaten analysiert: drei Birken-Isolate E120, E441 und I2 (S63537), zwei Holunder-Isolate E804 und E603, fünf Walnuss-Isolate Wox, Wsp, W8 (ZHOU et al., 1998), E326 und E648, ein Ebereschen-Isolat E693 und ein Himbeer-Isolat E802.

Ergebnisse

Der Hüllprotein-kodierende Sequenzbereich der 12 untersuchten CLRV-Isolate umfasst 1539 bzw. 1542 (Gruppe A) Nukleotide, was einer Polypeptidkette der Hüllproteine (CP) von 512 bzw. 513 aa entspricht. Die viralen Strukturproteine besitzen ein Molekulargewicht zwischen 55,9 und 56,4 kDa.

Phylogenetische Gruppen (Anzahl der Gruppenmitglieder)	Nukleotidsequenzen	Aminosäuresequenzen
Intra-Gruppen-Sequenzdiversitäten		
Birken-Gruppe (2)	8 - 9 %	3 - 4 %
Walnuss-Gruppe (5)	1 - 4 %	1 - 4 %
Holunder-Gruppe (4)	1 - 11 %	1 - 4 %
Inter-Gruppen-Sequenzdiversitäten		
Birke-Walnuss	20 - 22 %	13 - 15 %
Birke-Holunder	22 - 23 %	13 - 14 %
Walnuss-Holunder	16 - 17 %	8 - 9 %

Tab.1: Genetische Distanz innerhalb und zwischen den phylogenetischen Gruppen, errechnet aus dem Vergleich der Nukleotid- (1539 - 1542 nt) und Aminosäure- (512 - 513 aa) Sequenzen mit dem Programm ClustalX

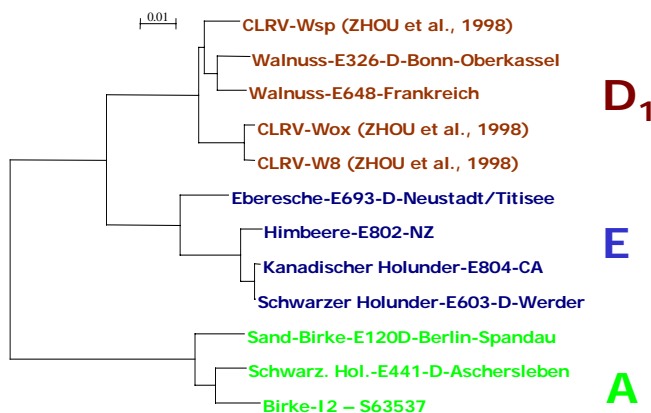


Abb.2: Phylogenetische Analyse der 512 bzw. 513 Aminosäuren langen CLRV-Hüllprotein-Sequenz von 12 verschiedenen Isolaten

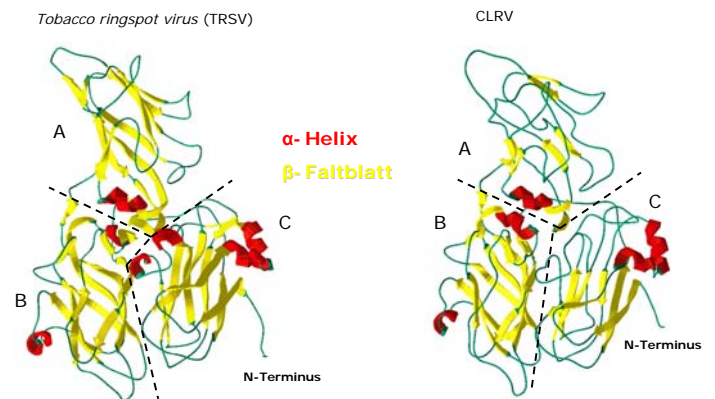


Abb. 1: Das auf der Grundlage der Aminosäuresequenz berechnete Strukturmodell des CLRV-Hüllproteins (rechts) zeigt einen ähnlichen Aufbau wie das 1998 veröffentlichte Modell des TRSV-Hüllproteins nach Chandrasekar, V. und Johnson, J.E (links). Das Protein faltet sich vom N-zum C-Terminus in drei Domänen (C, B, A).

Die Nukleotid-Sequenz des Hüllproteins zeigt insgesamt eine höhere Diversität von bis zu 23 % (Tab.1), als der bisher untersuchte 375 bp lange Teilbereich der 3'-UTR (max. 16,4 %). Auf Aminosäureebene wiesen die Hüllproteine Sequenzunterschiede bis zu 15 % auf. Die phylogenetische Gruppierung der 12 untersuchten CLRV-Isolate nach Wirtspflanzenart, basierend auf der 3'UTR, konnte durch die Analyse eines kodierenden Genombereichs bestätigt werden. Eine Ausnahme stellt das Himbeer-Isolat dar, dass hier keine eigene Gruppe stellt, sondern sich in die Holunder-Gruppe (E) einordnet, was jedoch mit der serologischen Reaktion korreliert. Bei zwei weiteren Isolaten aus Süßkirsche (E327) und Rhabarber (E395), von denen noch nicht das vollständige Hüllprotein sequenziert wurde, ergaben sich, basierend auf einem 894 bzw. 612 bp langen Teilbereich der Hüllproteine, weiterhin die bisher ermittelten phylogenetischen Gruppenzugehörigkeiten.

Literatur

- Chandrasekar, V., Johnson, J.E.: The structure of tobacco ringspot virus: a link in the evolution of icosahedral capsids in the picornavirus superfamily. *Structure* v6 pp.157-171, 1998
- Combet, C.; Jambon, M.; Deléage, G. & Geourjon, C.: Geno3D: Automatic comparative molecular modelling of protein. *Bioinformatics*, 2002, 18, 213-214
- Rebenstorf, K., Candresse, T., Dulucq, M.J., Büttner, C., Obermeier, C.: 2006: Host species-dependent population structure of a pollen-borne plant virus, Cherry leaf roll virus (CLRV). *J. Virol.* 80, 2453-2462.
- Zhou, Y., Civerolo, E.L., Melvin, J.A., 1998 : Comparative nucleotide sequences of the coat protein-encoding region of the genomes of Cherry leaf roll virus strains infecting walnut. *Acta Hort.* 472: 321-324.