

Vergleich der 3' nicht-kodierenden Regionen (3' NCRs) ausgewählter *Cherry leaf roll virus* (CLRV) Varianten



Jenny Robel, Juliane Langer, Susanne von Bargen, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Email: phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Einleitung

CLRV, ein Nepovirus der Subgruppe C, besteht aus zwei positiv orientierten, getrennt verpackten, einzelsträngigen RNA-Molekülen (Abb.2). Innerhalb dieser Gruppe besitzt es sowohl die längste 3' NCR, als auch die kürzeste 5' NCR. Bislang wurde davon ausgegangen, dass zum Erhalt funktioneller Strukturen und der Replikationsfähigkeit die 3' NCRs beider RNAs eines Isolates generell identisch sind.

Die Untersuchung von jeweils 10 Klonen aus drei unabhängigen RNA1- und RNA2-spezifischen Amplifikationen der 3' NCRs sollen Aufschluss über die Homogenität der CLRV 3' NCRs von RNA1 und RNA2 geben.

M & M

Aus drei unabhängigen Gesamt-RNA-Präparationen wurden mit RNA1- und RNA2-spezifischen Primern die 3' NCRs von verschiedenen CLRV-Isolaten aus Walnuss, Rhabarber, Kirsche, Holunder und Himbeere amplifiziert. Die erhaltenen 3' NCRs wurden kloniert. Von bis zu 10 der klonierten 3' NCR-Fragmente erfolgte ein Verdau mit den Restriktionsenzymen AluI, DraI und HincII. Anschließend konnten die Bandenmuster verglichen werden.

Ergebnisse & Zusammenfassung

Es bestehen CLRV-Isolat-abhängige Unterschiede in der Homogenität der Restriktionsmuster in der RNA1 und RNA2-3' NCR (Abb. 3). Die RFLP-Analyse der 3' NCRs des Walnuss-Isolates führte zu einem einheitlichen Restriktionsmuster in der RNA1 und RNA2 3' NCR. Die CLRV-Isolate aus Rhabarber und Kirsche haben bis zu drei Abweichungen vom Konsensus-Restriktionsmuster in der 3' NCR beider RNAs. Deutlich variabler ist das Holunder-Isolat. Bei den 3 verwendeten Restriktionsenzymen treten jeweils 2 Restriktionsmuster der 3' NCR in gleicher Häufigkeit (n=15 bzw. 17) auf.



In drei von vier untersuchten CLRV-Isolaten zeigte sich eine deutliche Sequenzstabilität in der 3' NCR der jeweiligen RNA, wohingegen das Holunderisolat eine höhere Variantenhäufigkeit der 3' NCR aufweist. Insgesamt deuten die RFLPs auf das Vorhandensein von mindestens zwei stabilen Sequenzvarianten innerhalb des Holunder-Isolates hin.

Zusammenfassung

Die mittels RFLP-Analyse untersuchte Sequenzvariabilität der 3' NCR aus drei unabhängigen RNA-Populationen zeigt, dass drei (Rhabarber, Walnuss und Kirsche) der fünf untersuchten CLRV-Isolate innerhalb dieses Genombereiches homogen sind. Das Isolat aus Holunder wies beim Vergleich der RNA-Populationen eine größere Variantenvielfalt innerhalb der 3' NCRs auf. Für das Virus-Isolat aus Himbeere liegen derzeit noch nicht ausreichend Klone der RNA2-3' NCR vor, um eine abschließende Aussage über die tatsächliche Heterogenität der beiden 3' NCRs in diesem Isolat treffen zu können.



Isolat-spezifische Unterschiede in der Sequenzvariabilität bzw. -stabilität innerhalb der 3' NCRs von CLRV

Ausblick

Die Sequenzierung der insgesamt identifizierten 3' NCR-Varianten wird weitere Informationen über die Variabilität der CLRV-3' NCR liefern.

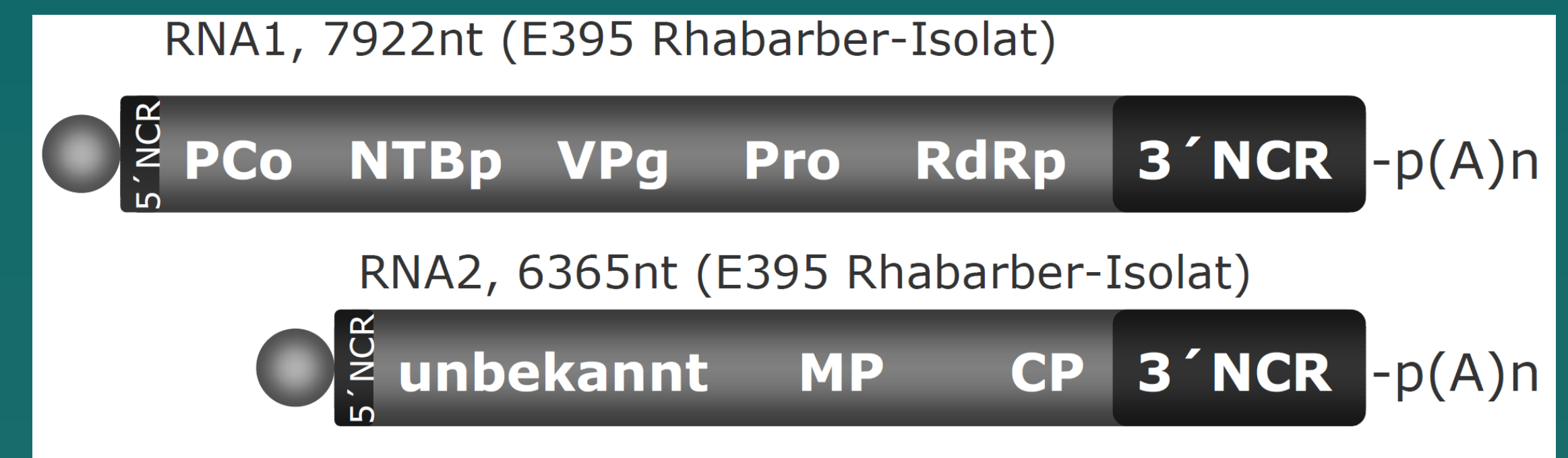
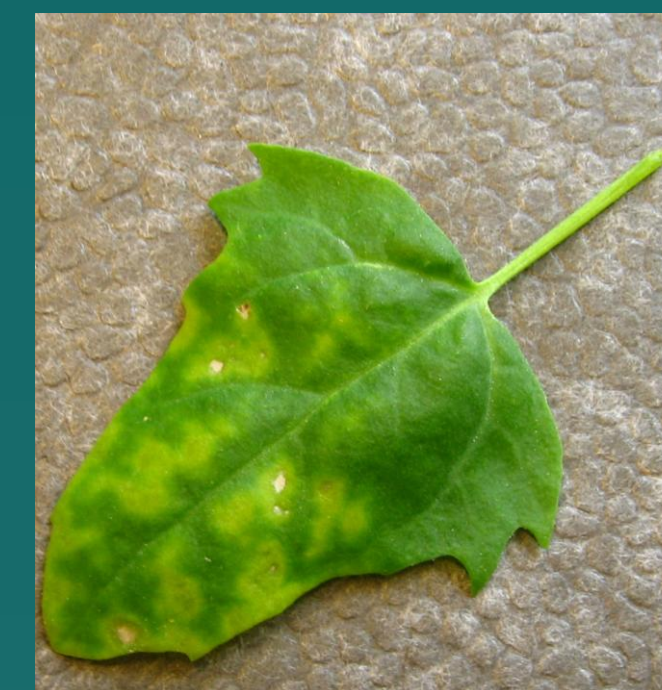


Abb. 1: CLRV infiziertes *Chenopodium quinoa* – Blatt, Abb. 2: Genomorganisation von CLRV

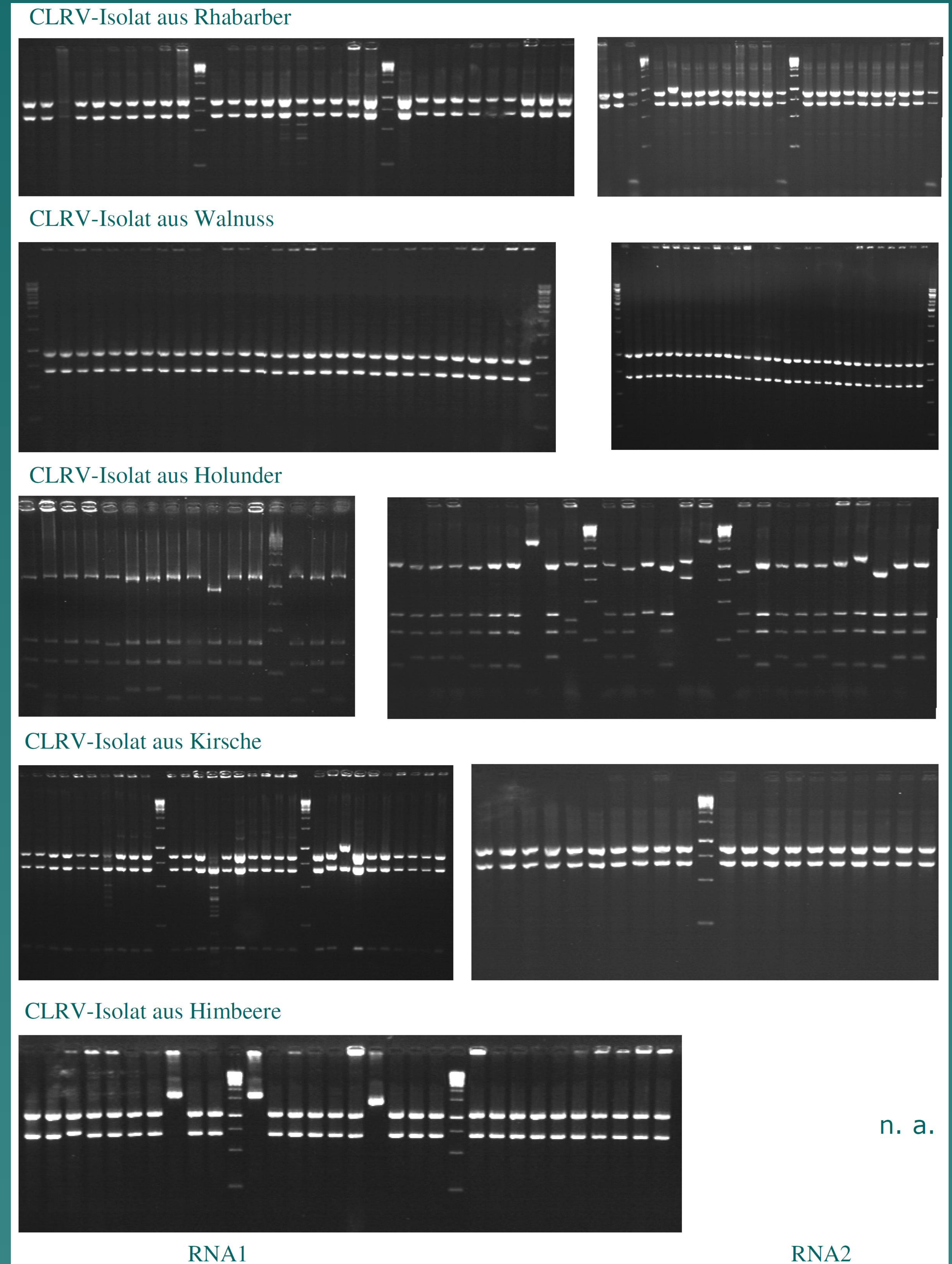


Abb. 3: DraI-RFLP der RNA1- & RNA2-3' NCR der fünf untersuchten CLRV-Isolate

Tab. 1: Anzahl der individuellen Restriktionsmuster der 3' NCR der RNA1 (blau) und RNA2 (rot) für 5 untersuchte CLRV-Isolate. Die Anzahl der Bandenmuster, die sowohl in der RNA1 als auch in der RNA2 auftreten, sind in der Schnittmenge vermerkt. (n.a. nicht analysiert)

	Alu I			Dra I			Hinc II		
	RNA 1	RNA 2	Schnittmenge	RNA 1	RNA 2	Schnittmenge	RNA 1	RNA 2	Schnittmenge
Rhabarber	2	1	2	2	1	2	0	1	2
E 395	2	1	2	2	1	2	0	1	2
Walnuss	0	1	1	0	1	0	1	1	1
E 326	0	1	1	0	1	0	1	1	1
Holunder	2	2	4	1	2	3	1	2	6
E 603	2	2	4	1	2	3	1	2	6
Kirsche	0	1	1	3	1	0	3	1	0
E 327	0	1	1	3	1	0	3	1	0
Himbeere	3	n.a.	n.a.	3	n.a.	n.a.	3	n.a.	n.a.
E 802	3	n.a.	n.a.	3	n.a.	n.a.	3	n.a.	n.a.

Danksagung

Dankenswerterweise dürfen wir unsere Arbeiten – seit Beginn der Großbaumaßnahmen an unserem Gebäude – am Julius Kühn-Institut in Dahlem durchführen und haben dort unseren vorübergehenden Sitz.