

**ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR LEBENSMITTEL-
VETERINÄR- UND AGRARWESEN**



„Vom Lebensmittel zum Genussmittel - was essen wir morgen?“



Tagungsbericht 2010

BERICHT

ALVA – Jahrestagung 2010

„Vom Lebensmittel zum Genussmittel – was essen wir morgen?“

31. Mai – 1. Juni 2010

Tagungsort:

Bildungshaus Schloss Puchberg

A- 4600 Wels, Puchberg 1

Tel: +43-(0)7242 47537

Fax: +43-(0) 7242 47537 - 55

<http://www.bildungshaus-puchberg.at>

Die nicht-kodierenden Genomregionen des Cherry leaf roll virus

The non-coding regions of Cherry leaf roll virus

Juliane Langer*, Susanne von Bargaen und Carmen Büttner

Einleitung

Das weltweit verbreitete *Cherry leaf roll virus* (CLRV) infiziert natürlich Forst- und Obstgehölze aus mindestens 17 Gattungen sowie auch einige krautige Pflanzen. Damit ist das CLRV bislang das einzig bekannte Pflanzenvirus, das solch einen weiten Wirtspflanzenkreis an Gehölzen aufweist.

Das CLRV ist ein Nepovirus mit einem zweigeteilten, einzelsträngigen (+)RNA-Genom. RNA1 und RNA2 eines CLRV-Isolats (E395, Rhabarber) konnten vollständig sequenziert werden und sind 7922 nt bzw. 6365 nt lang. Beide RNAs besitzen einen offenen Leserahmen, jeweils begrenzt durch eine 5' und eine 3' nicht-kodierende Region (NCR).

Material und Methoden

Für die molekularbiologische Charakterisierung des CLRV wurden vier Isolate aus unterschiedlichen Wirtspflanzen (Rhabarber, Schwarzer Holunder, Süßkirsche, Walnuss) und phylogenetischen Gruppen (Rebenstorf et al., 2006) repräsentativ für die genetische Heterogenität des CLRV ausgewählt. Die CLRV-Isolate aus den Originalwirtspflanzen werden in *Chenopodium quinoa* erhalten und vermehrt. Aus dem infizierten Pflanzenmaterial werden die Viruspartikel bzw. die Virus-RNA in hoher Konzentration gewonnen und das Genom mit Hilfe verschiedener PCR-Techniken entschlüsselt und sequenzanalytisch charakterisiert.

Ergebnisse und Diskussion

Im Vergleich zu anderen Nepoviren der Subgruppe C besitzt das CLRV sowohl die kürzeste 5' NCR (11 nt) als auch die längste 3' NCR (1538-1602 nt). Sequenzanalysen beider nicht-kodierenden Genomregionen lassen vermuten, dass beim CLRV die funktionelle Regulation der Translation anders als bei anderen Nepoviren organisiert ist. So sind bislang keine äquivalenten Sequenzmotive und -elemente identifiziert worden, die auf eine für das Genus typische Cap-unabhängige Translationsinitiation hinweisen. Vielmehr deuten die ungewöhnlich kurzen CLRV-5' NCRs und der sogenannte *Kozak*-Sequenzkontext des Startkodons der RNAs darauf hin, dass beim CLRV die Translation durch den Mechanismus des ribosomalen Scannings am ersten Startkodon, analog zu den pflanzlichen mRNAs, initiiert wird. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Translationsmechanismen, die von verwandten Viren genutzt werden, wobei die pflanzlichen Ribosomen durch sogenannte *internal ribosomal entry sites* (Sekundärstrukturen innerhalb der 5' NCRs) an die viralen RNAs binden. Die bis zu 1600 nt langen 3' NCRs verschiedener CLRV-Isolate weisen Sequenzunterschiede von 4,7-26 % auf. Die Sequenzvariabilität innerhalb der 3' NCR ist dabei nicht gleichmäßig verteilt. So ist der 3' terminale Bereich deutlich konservierter (nur bis 16,7 % Sequenzunterschiede) als der 5' proximale (bis 33,7 %), der an die kodierende Genomregion anschließt. Die Heterogenität der 3' NCR zwischen CLRV-Isolaten spiegelt sich auch in der Sekundärstruktur dieser Region wieder; allerdings konnte eine sehr stabile und in allen untersuchten Isolaten konservierte, etwa 200 nt umfassende *hairpin*-Struktur lokalisiert werden, die auf eine essentielle funktionelle Rolle in der Translation und/oder Replikation des Virus hindeutet. Funktionelle Analysen dieser Struktur wie auch insgesamt der 5'- und 3'- NCRs stehen aber noch aus.

Zusammenfassung

Das CLRV besitzt ein bipartites ss (+) RNA-Genom, dessen Sequenzinformation kürzlich vervollständigt werden konnte. Am 5' und 3' Terminus der RNAs flankieren die nicht-kodierenden Genomregionen jeweils einen offenen Leserahmen. Bei anderen Nepoviren wurde die essentielle Bedeutung der nicht-kodierenden Regionen (NCR) im Cap-unabhängigen Translationsmechanismus nachgewiesen, der für viele RNA-Viren ohne Cap-Struktur beschrieben ist. Nach ersten Sequenzanalysen hinsichtlich Sekundärstrukturbildung und translationsassoziiierter Sequenzmotive innerhalb der 5'- und 3'- NCRs, wie sie für andere Viren bekannt sind, gibt es für das CLRV bislang keine Hinweise auf diesen Genustypischen Regulationsmechanismus. Darüberhinaus konnte für das CLRV eine konservierte Sekundärstruktur innerhalb der 3' NCR nachgewiesen werden, die möglicherweise ein für den Replikationszyklus wichtiges Regulationselement darstellt.

Abstract

Cherry leaf roll virus (CLRV) is a nepovirus with a bipartite ss (+) RNA genome which has recently been completely sequenced. Both RNAs exhibit one open reading frame which are flanked by the shortest 5' non-coding region (NCR; 11 nt) and the longest 3' NCR (1538-1602 nt) within the genus. For some nepoviruses and other RNA viruses without a cap structure it has been shown that the non-coding regions play essential roles within the cap-independent translation initiation. But the screening of CLRV NCRs for translation-associated elements and secondary sequence analysis suggest a different functional regulation of translation for this virus. Furthermore, a conserved secondary structure was found within the 3' NCR of all investigated CLRV isolates indicating towards an important function within the replication cycle of the virus.

Literatur

REBENSTORF K, CANDRESSE T, DULUCQ MJ, BÜTTNER C, OBERMEIER C, 2006: Host species dependent population structure of a pollen-borne plant virus, Cherry leaf roll virus. *Journal of Virology* 80, 2453-2462.

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 in der Königin-Luise-Straße 19, D-14195 Berlin

Adressen der Autoren

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Department für Nutzpflanzen- und Tierwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin; c/o Julius Kühn-Institut, Königin-Luise-Straße 19, 14195 Berlin, Deutschland

* Ansprechpartner: DI Juliane Langer, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de