

438

Julius-Kühn-Archiv

58. Deutsche Pflanzenschutztagung

10. - 14. September 2012
Technische Universität Braunschweig

- Kurzfassungen der Beiträge -



Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen

119-Rott, M.; Büttner, C.; von Barga, S.

Humboldt-Universität zu Berlin

Heterologe Expression der viralen Proteinase des *Cherry leaf roll virus* (CLRV)

Heterologous expression of the viral proteinase of Cherry leaf roll virus (CLRV)

Cherry leaf roll virus (CLRV), ein *Nepovirus* der Subgruppe C, gehört zur 2009 eingeführten Familie der Secoviridae (Sanfacon et al., 2009). Das bipartite Genom besteht aus einzelsträngiger RNA, die zwei Polyproteine (P1 und P2) kodiert. P1 beinhaltet charakteristische Domänen für einen Proteinase-Cofaktor (PCo), eine Helikase (Hel), ein genome-linked Protein (VPg), eine Proteinase (Pro) und eine RNA-abhängige Polymerase (Pol). P2 beinhaltet neben einer Region am 5'-Ende, der noch keine Funktion zugeordnet werden konnte, das movement Protein (MP), sowie das coat Protein (CP) (von Barga et al., 2012). Die Polyproteine werden posttranslational durch die virale Proteinase zu funktionellen Einheiten prozessiert. Die Analyse der Vollängensequenz zeigt diverse putative Prozessierungsstellen, die analog zu experimentell bestätigten Schnittstellen verwandter Proteinasen aus den Nepoviren *Tomato ringspot virus* (ToRSV, Wang et al., 1999, Wang und Sanfacon, 2000) und *Arabidopsis mosaic virus* (ArMV, Wetzel et al., 2008) liegen. Zur funktionalen Charakterisierung der Proteinase von CLRV wird diese, sowie Bereiche des P2-Polyproteins, die putative Erkennungsstellen kodieren, heterolog in *E. coli* exprimiert. Anschließend erfolgt die native Aufreinigung der Proteine unter Verwendung eines N-terminalen His-Tags über NTA-Agarose. Die proteolytische Aktivität der Proteinase, sowie die putativen Prozessierungsstellen des P2 werden *in vitro* experimentell verifiziert.