

Lokalisation des EMARaV p4-Proteins *in planta* mittels *Agrobacterium*-vermittelter Transformation

J. Roßbach¹, S. von Bargaen¹, H.-P. Mühlbach² & C. Büttner¹

¹ Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin; Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

² Universität Hamburg, Biozentrum Klein Flottbek; Ohnhorststraße 18, 22609 Hamburg

Das *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) infiziert natürlich verschiedene *Sorbus*-Spezies und verursacht chlorotische Ringflecken sowie Scheckungen an Blättern (Grimová et al., 2015; Robel et al., 2013). Eine virusbedingte Degeneration der Pflanzen wird vermutet (Benthack et al., 2005). EMARaV besitzt ein negativ-orientiertes, einzelsträngiges RNA-Genom aus vier monocistronischen Segmenten (Mielke and Mühlbach, 2007). Eine Funktionszuweisung für die von RNA1 bis RNA3 kodierten Proteine (p1 bis p3) war mittels Sequenzabgleich möglich. Für das RNA4-kodierte p4-Protein konnte bislang keine Funktion ermittelt werden. Für Pflanzenviren ist die Existenz eines Transport-Proteins essentiell (Seron and Haenni, 1996) und viele besitzen zudem ein Supressorprotein des posttranskriptionellen *Gene Silencings* (PTGS). Diese Funktionen werden nicht durch die RNA1-RNA3 kodierten Proteine des EMARaV abgedeckt. Durch Lokalisation eines GFP-markierten p4 in der pflanzlichen Zelle sollen mögliche Hinweise zur Funktion dieses Proteins gesammelt werden. Dazu wurde das p4-Protein von EMARaV sowie das Transport-Protein NSm des *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in den Vektor pCambia1302 kloniert und *Agrobacterien* des Stamms C58C1 mit den Konstrukten transformiert. Mittels Anti-gfp Antikörpern konnten beide Konstrukte im Western Blot in Blattproben zu verschiedenen Zeitpunkten (24 h, 48, 72h sowie 6 Tage) nach Agroinfiltration von *Nicotiana benthamiana* Blättern detektiert werden. Erste Ergebnisse zur Lokalisation des p4-Proteins in Epidermiszellen von agroinfiltrierten *N. benthamiana* Blättern mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) werden vorgestellt und diskutiert.

Benthack, W., Mielke, N., Büttner, C., Mühlbach, H.P., 2005. Double-stranded RNA pattern and partial sequence data indicate plant virus infection associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Archives of Virology* 150, 37-52.

Grimová, L., Marek, M., Konrady, M., Ryšánek, P., 2015. Newly identified host range of *European mountain ash ringspot-associated virus* (EMARaV) and its distribution in the Czech Republic. *Forest Pathology* 45, 177-189.

Mielke, N., Mühlbach, H.P., 2007. A novel, multipartite, negative-strand RNA virus is associated with the ringspot disease of European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.). *Journal of General Virology* 88, 1337-1346.

Robel, J., Büttner, T., Mühlbach, H.-P., von Bargaen, S., Büttner, C., 2013. First detection of European mountain ash ringspot-associated virus in *Sorbus aria* and *Sorbus intermedia*, AAB Conference, 25.-27.09.2013, Norwich.

Seron, K., Haenni, A.L., 1996. Vascular movement of plant viruses. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI* 9, 435-442.