

## **34-2 - Charakterisierung der Transportprotein- kodierenden Region des *Cherry leaf roll virus* (CLRV)**

*Analysis of the putative movement protein- coding region of Cherry leaf roll virus (CLRV)*

**Luise Dierker, Susanne von Barga, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland, Markus.Rott@agrar.hu-berlin.de

Das *Cherry leaf roll virus* (CLRV) der Gattung *Nepovirus* ist weltweit in einer Vielzahl krautiger und holziger Wirtspflanzenarten vertreten. Die natürliche Verbreitung kann vertikal durch Saatgut und horizontal durch Pollen erfolgen, so dass bei einer systemischen Ausbreitung des Virus in der Wirtspflanze auch die reproduktiven Organe infiziert sind. Die interzelluläre Ausbreitung des Virus innerhalb der Pflanze über Plasmodesmata erfolgt entlang tubulärer Strukturen die durch das Transportprotein gebildet werden. Der interzelluläre Transport von CLRV erfolgt als Partikel. Daher ist davon auszugehen, dass neben dem Transportprotein (MP, 385 aa, 42 kDa) auch das Hüllprotein (CP, 512 aa, 56 kDa) an der Ausbreitung in der Pflanze beteiligt ist. Das Transportprotein von CLRV gehört zur Familie der 30 K *movement*-Proteine und besitzt eine zentrale Domäne aus  $\beta$ -Faltblattelementen und  $\alpha$ -Helices (Melcher, 2000). Innerhalb dieser Region weist das MP von CLRV ein konserviertes Prolin an Position 223 der Aminosäuresequenz auf, wie es für Transportproteine der Nepoviren charakteristisch ist (Mushegian et al., 1994). In dieser Arbeit wurden CLRV-Sequenzen von Transportprotein-kodierenden Bereichen von Isolaten verschiedener phylogenetischer Gruppen miteinander verglichen. Zudem wurde die Domänenstruktur der CLRV-MPs mit Hilfe verschiedener Computerprogramme analysiert. Basierend darauf wurden Deletionsmutanten des MP von CLRV aus Rhabarber hergestellt. Diese Mutanten wurden im Hefe Zwei-Hybrid-System (YTHS) eingesetzt, um funktionelle Bereiche des MP, die Protein-Interaktionsdomänen darstellen und u.a. zur Dimerisierung dieses Proteins beitragen, zu determinieren.

Literatur

MELCHER, U., 2005: The '30 K' superfamily of viral movement proteins. *J. Gen. Virol.* **81** (1), 257-266.

MUSHEGIAN, A. R., 1994: The putative movement domain encoded by nepovirus RNA-2 is conserved in all sequenced nepovirus. *Arch. Virol.* **135** (3-4), 437-441.

## **34-4 - Komparative Analysen der vollständigen Genome der *Acholeplasmataceae* zeigen grundlegende Unterschiede im Metabolismus und Virulenzfaktoren auf**

*Comparative Analyses of the Complete Genomes of *Acholeplasmataceae* show Basic Differences in Metabolism and Virulence Factors*

**Michael Kube, Christin Siewert, Sabine Holz, Bojan Duduk<sup>2</sup>, Jelena Mitrovic<sup>2</sup>, Erich Seemüller<sup>3</sup>, Richard Reinhardt<sup>4</sup>, Carmen Büttner**

Humboldt-Universität zu Berlin, Fakultät für Lebenswissenschaften, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

<sup>2</sup>Institute of Pesticides and Environmental Protection, Belgrade/Serbia

<sup>3</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

<sup>4</sup>Max Planck Genome Centre Cologne, Köln

Die *Acholeplasmataceae* umfassen das provisorische Taxon *Candidatus* *Phytoplasma* und *Acholeplasma*. Die *Phytoplasmen* sind mit Krankheiten in über eintausend Pflanzen assoziiert, während die *saprophytischen* *Acholeplasmen* nicht als primäre Pathogene charakterisiert sind. Für die Gattung *Acholeplasma* lag bisher nur die Genomsequenz von *A. laidlawii* vor. Um diese Informationslücke zu schließen, bestimmten wir vollständig die Genome von *A. palmae* und *A. brassicae* via Sanger- und Pyrosequenzierung. Die zirkulären Chromosomen von *A. palmae* und *A. brassicae*

weisen eine Länge von 1,6 Mb (G + C 29%) und 1,9 Mb (G + C 36%) auf und kodieren 1,439 und 1,690 Proteine. Phytoplasma-Genome grenzen sich durch zahlreiche horizontale Gentransferereignisse, Rearrangements und Genduplikationen grundlegend von den Acholeplasmen ab. Duplikationen sind auf die rRNA-Operons von *A. brassicae* beschränkt oder einzelne Gene wie das single stranded binding Protein (SsB). Im genetischen Repertoire der Acholeplasmen liegen zudem das Zellteilungsprotein FtsZ, der FOF1 ATP Synthetase- sowie der Rnf-Komplex, SecG, als auch eine vergleichsweise reichhaltige Ausstattung mit ABC Transportern und ein komplexer Kohlenhydratstoffwechsels vor. Komparative Analysen zeigen eine Genomkondensation in beiden Gattungen auf, sowie eine frühe evolutionäre Aufspaltung. Abseits des gemeinsamen Genpools ist das Fehlen von Schlüsselgenen der obligat parasitären Phytoplasmen in den Acholeplasmen hervorzuheben. Zu dieser Gruppe gehört die Kodierung wichtiger metabolischer Funktionen (z.B. Malatdehydrogenase), aber auch Funktionen der Pathogen-Wirt-Interaktion (Membranproteine, Effektoren).

#### Literatur

KUBE M, SIEWERT C, MIGDOLL AM, DUDUK B, HOLZ S, RABUS R, SEEMÜLLER E, MITROVIC J, MÜLLER I, BÜTTNER C, REINHARDT R., 2014: Analysis of the complete genomes of *Acholeplasma brassicae*, *A. palmae* and *A. laidlawii* and their comparison to the obligate parasites from 'Candidatus Phytoplasma'. J Mol Microbiol Biotechnol. **24**(1):19-36.

### **34-5 - Analyse von exprimierten Genen des phytopathogenen Bakteriums 'Candidatus Phytoplasma mali' zeigt wichtige Einblicke in Virulenz und Metabolismus**

**C. Siewert, T. Luge<sup>2</sup>, B. Duduk<sup>3</sup>, E. Seemüller<sup>4</sup>, C. Büttner, S. Sauer<sup>2</sup> und M. Kube**

Humboldt-Universität zu Berlin, Fakultät für Lebenswissenschaften, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin

<sup>2</sup>Otto Warburg Laboratory, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Germany

<sup>3</sup>Institute of Pesticides and Environmental Protection, Serbia

<sup>4</sup>Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau

'Ca. *Phytoplasma mali*' ist ein phytopathogenes Bakterium der Familie Acholeplasmataceae und der Klasse Mollicutes. Es ist bekannt als Verursacher der Apfeltriebsucht, wobei es die Siebzellen kolonisiert und in der Folge eine Reihe von Symptomen auftreten, wie die Hexenbesenformation und die verminderte Fruchtgröße und -qualität. Dies führt in ganz Europa zu großen Ernteverlusten. Obwohl die Genomsequenz dieses Pathogen seit 2008 vorliegt, gibt es nur wenig Literatur zu einzelnen exprimierten Genen und bisher wenig Literatur zu einer ungerichteten Proteom- oder Transkriptionsanalyse dieser oder anderer Phytoplasma.

In dieser Arbeit wurde eine Illumina RNA-Seq zur Transkriptions- und Shotgun-Massenspektroskopie zur Proteomanalyse an einer mit 'Ca. *P. mali*' Stamm AT infizierten *Nicotiana occidentalis* Pflanze durchgeführt. Über 200 exprimierte Gene konnten identifiziert werden. Es wurden einige an der Pathogen-Wirt-Interaktion beteiligten exprimierte Gene identifiziert, wie ein lcmE-ähnliches Proteins (Sekretionssystem Typ IVB), ein SAP11-ähnliches Proteins welches als Effektor von Phytoplasmen bekannt ist, das Immunodominante Membranprotein Imp und einige HflB Proteasen und AAA+-ATPasen. Exprimierte Gene des Metabolismus zeigen, dass viele ABC-Transporter aktiv sind und ein alternativer Glykolyse Stoffwechselweg zur Gewinnung eines Moleküls ATP unter Verbrauch von Acetat wird aktiviert wird.