

DR DAVID GILMER  
Professor  
Université Louis Pasteur – Institut de Biologie Moléculaire des Plantes  
12 rue du Général Zimmer  
F-67084 -STRASBOURG

**Original language: English**

## **BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS RNA-5-ENCODED P26 PROTEIN.**

### **Abstract:**

A full-length cDNA clone of RNA-5 has been obtained from a BNYVV-Pithiviers isolate and allows production of *in vitro* infectious transcripts. When inoculated together with RNA-1 and -2, RNA-5 induces "Pithiviers isolate"-specific necrotic symptoms in *C. quinoa* leaves. We demonstrated that such a necrosis was a consequence of the expression of p26 protein. Using hemagglutinin HA- and GFP-tagging strategies, determinants for the sub cellular localization of the protein have been found. P26 appears as a nuclear and cytoplasmic protein. Seeking for a nuclear function, we found that P26 is able to activate the transcription in yeast. The transcription activation domain has been located within the first 55 amino-acids of the protein. Alanine scanning mutants of the domain have been characterized for their abilities to activate the transcription in a yeast one-hybrid system, to induce necrosis and to locate within the nucleus. We studied the functions of the p26 protein encoded by an Asian isolate. This protein, which slightly differs in size and sequence, shares the same properties as Pithiviers RNA-5-encoded p26.

---

## **PROPRIETES BIOLOGIQUES DE LA PROTÉINE P26 CODÉE PAR L'ARN-5 DU VIRUS DES NERVURES JAUNES ET NECROTIQUES DE LA BETTERAVE**

### **Abrégé :**

Un clone complet d'ADNc infectieux a été obtenu à partir d'un isolat viral provenant de Pithiviers. Ce clone d'ADNc permet la synthèse de RNA infectieux *in vitro*. Lorsqu'ils sont inoculés en présence des ARN-1 et -2 du virus, des symptômes caractéristiques de nécroses apparaissent sur la feuille de *C. quinoa*. Nous avons démontré que l'apparition de la nécrose est la conséquence de l'expression de la protéine p26. En utilisant des protéines étiquetées par l'épitope HA et par la protéine GFP, nous avons recherché les déterminants de la localisation subcellulaire de la protéine. La protéine p26 apparaît comme une protéine nucléaire et cytoplasmique. En recherchant sa fonction nucléaire, nous avons trouvé que cette protéine est capable d'activer la transcription dans la levure. Le domaine responsable de l'activation de la transcription a été localisé parmi les 55 premiers acides aminés de la protéine. Une étude par mutagenèse dirigée Alanine scanning des aminoacides de ce domaine a été réalisée et les mutants caractérisés pour leur capacité à activer la transcription, à induire des symptômes nécrotiques et à se localiser dans le noyau. Nous avons recherché les propriétés d'une protéine p26 d'un isolat Asiatique. Cette protéine p26 qui diffère légèrement par sa taille et sa séquence de celle de l'isolat Pithiviers présente les mêmes propriétés que la protéine p26 codée par l'ARN-5 de l'isolat Pithiviers.

## **BIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN DES VON RNA5 DES RIZOMANIAVIRUS KODIERTEN PROTEIN P26**

### **Kurzfassung:**

Ein komplett infizierter ADNC Clon wurde aus einem viralen Isolat mit Herkunft Pithiviers gewonnen. Dieser ADNC Clon erlaubt, die *in vitro* Synthese von infizierter RNA. Bei Inokulierung in Gegenwart des ARN-1 und -2 des Virus, treten charakteristische Nekrose-Symptome auf *C. Quinoa* Blättern auf. Wir konnten nachweisen, dass das Auftreten der Nekrose die Konsequenz der Ausprägung des Proteins p26 ist. Durch Verwendung der etkierten Proteine durch das Epitop HA und das Protein GFP, haben wir die Determinanten der subzellulären Lokalisierung des Proteins untersucht. Das Protein p26 erscheint als nukleares und zytoplasmisches Protein. Bei der Untersuchung seiner nuklearen Funktion fanden wir, dass dieses Protein in der Lage ist, die Transkription in Hefe zu aktivieren. Das verantwortliche Gebiet der Aktivierung der Transkription wurde unter den 55 ersten Aminosäuren des Proteins lokalisiert. Eine Untersuchung durch kontrollierte Mutagenese, Alanin Scanning und der Aminosäuren dieses Gebietes wurde vorgenommen und die Mutanten wurden auf ihre Fähigkeit hin, die Transkription zu aktivieren, nekrotische Symptome zu induzieren und sich im Kern zu lokalisieren charakterisiert. Wir haben die Eigenschaften eines p26 Proteins eines asiatischen Isolats untersucht. Dieses p26 Protein unterscheidet sich leicht in seiner Größe und Sequenz von dem Pithiviers Isolat, verfügt aber über dieselben Eigenschaften wie das p26 Protein, das durch die ARN-5 des Pithiviers Isolats kodiert wird.

---

---