

9.1 HEIKE THIEL, MARK VARRELMANN

Institut für Zuckerrübenforschung, Holtenser Landstr. 77, D – 37079 Göttingen

Original language: German

WHAT IS THE ROLE OF THE BV-IAA CANDIDATE INTERACTING AND CO-LOCALIZING WITH BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS (BNYVV) PATHOGENICITY FACTOR?

ABSTRACT

The BNYVV RNA3 encoded protein P25 is responsible for symptom expression in susceptible sugar beet roots. In a yeast two-hybrid (YTH) sugar beet cDNA library screen P25 was found to physically interact with a protein possessing high sequence homology to a cDNA clone (Bv-iaa) of an auxin responsive transcription factor. Previously, it was described that BNYVV induces histological changes in virus infested sugar beet lateral root cells and is involved in an increase of free auxin in susceptible root cells only. Following isolation of full length sequences, the interaction with P25 was confirmed in YTH as well and in vivo using BiFC assay. In agroexpression studies based on N- and C-terminal fusions to fluorescence proteins the Bv-iaa was tested alone and together with P25 for subcellular localisation and interference. The Bv-iaa protein alone was shown to localize in the nucleus. When P25 was co-infiltrated, a partial re-localisation from the nucleus to the cytoplasm was observed. The subcellular distribution of P25, well known as a nucleo-cytoplasmic shuttling protein, was not affected. A possible explanation for this observation might be that P25 targets Bv-iaa and prevents its accumulation within the nucleus to suppress the transcription activation function. Sequence analysis found no Bv-iaa polymorphism between resistant and susceptible sugar beet genotypes, suggesting to act as a possible target of general virus pathogenicity and aggressiveness in the sugar beet host. As auxin responsive transcription factors are known for their involvement in cell growth and differentiation, the hypothesis is raised that the P25-Bv-iaa interaction might lead to the observed auxin increase and induction of small rootlets finally resulting in symptom expression.

QUEL EST LE ROLE JOUE PAR LE CANDIDAT BV-IAA COLOCALISE ET INTERAGISSANT AVEC LE FACTEUR DE PATHOGENITE DU BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS (BNYVV) ?

RÉSUMÉ

La protéine P25 encodé sur ARN3 du virus BNYVV est responsable de la formation de symptômes aussi bien que des réductions du rendement de betteraves sucrières sensibles. P25 a été sélectionnée pour un criblage par banque d'ADNc pour identifier l'interaction entre les protéines dans le système de double-hybride en levures (YTH). P25 a interagi avec un candidat ADNc (Bv-iaa) possédant une homologie élevée avec un facteur de transcription répondant à l'auxine. BNYVV est impliqué dans les changements histologiques de racines latérales infectées de betteraves sucrières, et l'accroissement du taux d'auxine libre n'est détecté que dans des racines sensibles.

Après avoir isolé dans des betteraves sucrières résistantes ainsi que dans des betteraves sensibles une séquence de longueur complète, l'interaction des candidats Bv-iaa avec P25 a pu être confirmée aussi bien dans le YTH que dans le système in vivo BiFC. En plus, on a effectué des études de localisation basées sur des protéines de fusion. La localisation et l'interférence de Bv-iaa seul et avec P25 ont été examinées. La protéine Bv-iaa a pu être localisée dans le noyau cellulaire, ce qui confirme son rôle de facteur de transcription. Lorsque la protéine P25 a été co-infiltrée, on a pu observer une re-localisation partielle du noyau vers le cytoplasme. La localisation de P25 qu'on peut décrire comme une protéine effectuant une navette nucléo-cytoplasmique, n'a pas montré de changement. Une explication possible pourrait être une influence exercée sur le Bv-iaa par la protéine P25. Eventuellement, P25 empêche la localisation du Bv-iaa dans le noyau cellulaire et l'activation de sa fonction de transcription. Des analyses séquentielles du Bv-iaa dans des génotypes résistants et sensibles n'ont pas révélé de différence entre les deux. Comme les facteurs de transcription répondant à l'auxine sont connus pour leur rôle dans le développement cellulaire, l'hypothèse est avancée que l'interaction P25-Bv-iaa serait coresponsable des taux d'auxine accrus, du déséquilibre entre les phytohormones et de la prolifération du chevelu racinaire des plantes infectées de BNYVV.

WELCHE ROLLE SPIELT DER MIT DEM BEET NECROTIC YELLOW VEIN VIRUS (BNYVV)-PATHOGENITÄTSFAKTOR INTERAGIERENDE UND KOLOKALISIERENDE BV-IAA-KANDIDAT?

KURZFASSUNG

P25 welches auf RNA3 des BNYVV kodiert, ist für Ertragsreduktion und Symptomausprägung in anfälligen Zuckerrüben verantwortlich. P25 wurde für ein Zuckerrüben cDNA Bibliothekscreening zur Proteininteraktion in Hefe (YTH) ausgewählt und interagiert mit einem cDNA Kandidaten (Bv-iaa), der hohe Sequenzhomologie zu einem Auxin responsiven Transkriptionsfaktor hat. BNYVV ist in histologischen Veränderungen in infizierten Zuckerrüben Seitenwurzeln involviert, und ein Anstieg von freiem Auxin kann nur in anfälligen Wurzeln nachgewiesen werden. Nach Isolation von Voll-Längen-Sequenzen aus resistenten und anfälligen Zuckerrüben konnte die Interaktion der Bv-iaa Kandidaten mit P25 im YTH wie auch im in vivo System BiFC bestätigt werden. Des Weiteren wurden Fusionsprotein basierte Lokalisationsstudien durchgeführt. Bv-iaa wurde allein und mit P25 auf Lokalisation und Interferenz geprüft. Das Bv-iaa Protein lokalisiert im Zellkern, was seine Rolle als Transkriptionsfaktor bestätigt. Bei Co-Infiltrationsexperimenten mit P25, wurde eine partielle Re-Lokalisation aus dem Kern in das Cytoplasma beobachtet. Die Lokalisation des P25, welches als Shuttle-Protein beschrieben ist, zeigte keinerlei Veränderungen. Eine mögliche Erklärung, könnte die Beeinflussung des Bv-iaa durch P25 sein. Möglicherweise verhindert P25 die Lokalisation des Bv-iaa im Zellkern und die zugehörige Transkriptionsaktivierung. Sequenzanalysen des Bv-iaa in resistenten und anfälligen Genotypen zeigten keine Unterschiede. Da Auxin responsive Transkriptionsfaktoren für ihre Beteiligung an der Zellentwicklung bekannt sind, wird die Hypothese aufgestellt, dass die P25-Bv-iaa Interaktion an den erhöhten Auxingehalten, des Phytohormonungleichgewichts und der Induktion der vermehrten Seitenwurzelbildung in BNYVV infizierten Pflanzen mitverantwortlich ist.