

GRAŻYNA GARBACZEWSKA

*Katedra Botaniki, Wydział Rolniczy,
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego,
Rakowiecka 26/30, 02-528 Warszawa*

WIRUS MOZAIKI KALAFIORA — CaMV — MODEL ŻYCIOWY WIRUSA Z ODWROTNĄ TRANSKRYPCJĄ

WSTĘP

Procesy składające się na mechanizm powstawania chorób wywoływanych przez patogeny, jak i badania tych procesów określa się terminem patogenezą. Na patogenezę ma wpływ wiele czynników związanych z porażeniem organizmu gospodarza oraz czynników kontrolujących zdolność patogena do infekcji pojedynczej komórki i transportu międzykomórkowego (HULL 1991).

Jednym z patogenów są wirusy obligatoryjne pasożyty, które dysponują ograniczoną informacją zakodowaną w genomie do przeprowadzenia swego cyklu życiowego. Mają one zwykle 4 do 10 genów ściśle związanych z transkrypcją, replikacją lub transportem wirusa. Stąd podczas infekcji wirusy muszą jednocześnie modyfikować wiele właściwości w komórce rośliny — gospodarza, aby zrealizować swój cykl życiowy. Naturalna infekcja rośliny obejmuje oddziaływanie między 3 genomami: wirusa, rośliny i wektora. Wirusy roślin wymagają mechanicznego uszkodzenia w czasie wnikania do komórki gospodarza i zazwyczaj to uszkodzenie powodują wektory, na przykład mszyce, skoczki, nicienie. Jeśli komórka rośliny jest podatna, wirus się w niej namnaża. Następnie przemieszcza się do sąsiednich komórek opanowując całą roślinę. Wynikiem namnażania i transportu są zmiany prowadzące do procesu chorobowego. Na ogół plon upraw roślin porażonych znacznie się zmniejsza.

Dążeniem rolników, ekonomistów, a zwłaszcza patologów roślin jest możliwość ograniczenia wielkości strat. Zadanie to wydaje się być coraz bardziej rzeczywiste, od kiedy zaczęto wprowadzać nowe rozwiązania oparte na znajomości molekularnego podłoża oddziaływań wirus-wektor (PIRONE 1991) zamiast chemicznego zwalczania wektorów.

Podobnie rozszerzono metody stosowane w praktyce rolniczej oparte na selekcji form odpornych lub podatnych na patogena. Aby metody te były skuteczne, muszą uwzględniać wyniki badań dotyczące interakcji genomów wirusa i rośliny (PFEIFFER i MESNARD 1995). Molekularne mechanizmy odporności zakładają, że wirus w roślinie jest transportowany bardzo szybko, a jego mały genom może ewoluować. Równocześnie wiadomo, że rośliny podatne nie mogą

bronąć się ucieczką przed patogenem, ani że ich genom złożony z tysięcy genów nie może ewoluować równie szybko jak genom wirusa po to, by roślina stała się odporna lub przestała spełniać warunki właściwe dla gospodarza patogena.

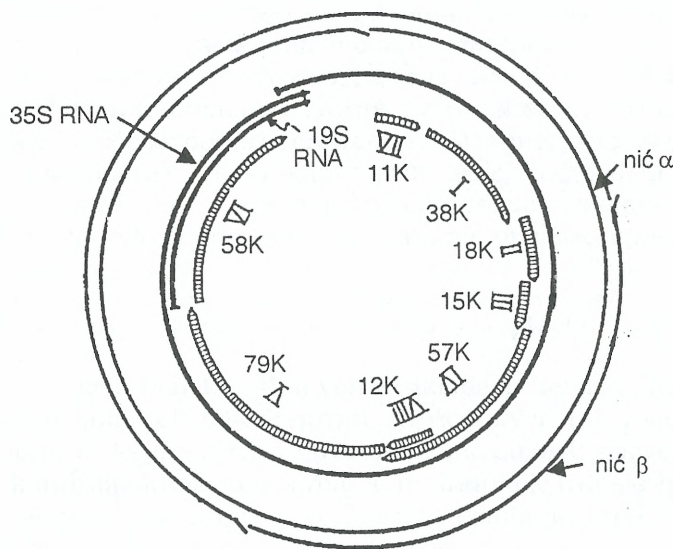
Specyficzność gospodarza danego wirusa polega na interakcji produktów jego genów z produktami genów patogena. Określenie białek gospodarza, z którymi współdziała wirus i możliwość wprowadzania nowych genów stanowi główny cel mechanizmów odporności roślin.

Ze względu na budowę genomu wirusa mozaiki kalafiora — CaMV i przebieg jego cyklu życiowego jest on atrakcyjnym modelem do zaprezentowania poglądów wyjaśniających interakcje między rośliną gospodarzem lub nie gospodarzem i wirusem, w oparciu o które powstają nowe strategie stosowane do ograniczania skutków chorób wirusowych i wykorzystania genomu CaMV do wprowadzania nowych genów.

BUDOWA GENOMU CaMV I JEGO CYKL ŻYCIOWY

Wirus mozaiki kalafiora — CaMV należy do wyjątkowej grupy wśród wirusów roślin, którą charakteryzuje genom w formie dwuniciowego DNA (ds DNA), podczas gdy większość wirusów porażających rośliny (20 grup spośród opisanych z 25) ma genom (+) ss RNA czyli jednoniciowe, pozytywne RNA (CORNUET 1987).

CaMV jest wirusem sferycznym (ikosahedrycznym) o średnicy około 50 nm, o masie cząsteczkowej $22,8 \times 10^6$ d (CHAUVIN i współaut. 1979), w którym kwas nukleinowy jest złożony z kolistej podwójnej nici DNA o długości 8031 par zasad — 8kb, nić (-) DNA α ma jedno pęknięcie, nić (+) DNA β ma dwa pęknięcia. Genom DNA jest zorganizowany z 8 genów (FRANCK i współaut. 1980, HOWARTH i współaut. 1981). Zidentyfikowano część produktów białkowych tych genów i ich funkcje (AL ANI 1980) (ryc. 1).



Ryc. 1. Genetyczna organizacja CaMV (wg PFEIFFERA i HÖHN 1987).

Nić α — kodowana, ma 1 pęknięcie; nić β — niekodowana, ma 2 pęknięcia; DNA koduje 8 genów — ORFs, podane są masy cząsteczkowe białek; transkrypty RNA, 19S i 35S mają różne promotory, ale ten sam koniec 3'; 19S RNA zawiera informację genu VI; 35S RNA zawiera informację całego genomu CaMV.

Rycina 1 przedstawia genetyczną organizację CaMV.

Gen I — ORF I koduje białko (38kd) — P1 związane z przemieszczaniem się wirusa — (LINSTEAD i współaut. 1988, ALBRECHT i współaut. 1988), białko to cechuje zdolność do łączenia się z RNA (CITOVSKY i współaut. 1991).

Gen II — ORF II koduje białko związane z nabywaniem wirusa przez mszyce (WOOLSTON i współaut. 1983, ARMOUR i współaut. 1983), białko P2 zidentyfikowano w inkluzjach zwanych wiropłazmą elektronoprzezierną — II typ, a zawarte w nich cząstki CaMV są źródłem infekcyjnego wirusa dla wektora, jakim są mszyce (ESPINOSA i współaut. 1991).

Gen III — ORF III koduje białko P3 wykazujące niespecyficzną aktywność łączenia się z DNA (MESNARD i współaut. 1990).

Gen IV — ORF IV koduje białko kapsydu P4 (coat protein) (DAUBERT i współaut. 1982).

Gen V — ORF V koduje enzym — odwrotną transkryptazę — P5 (TOH i współaut. 1983) oraz proteinazę aspartanową (TORRUELLA i współaut. 1989).

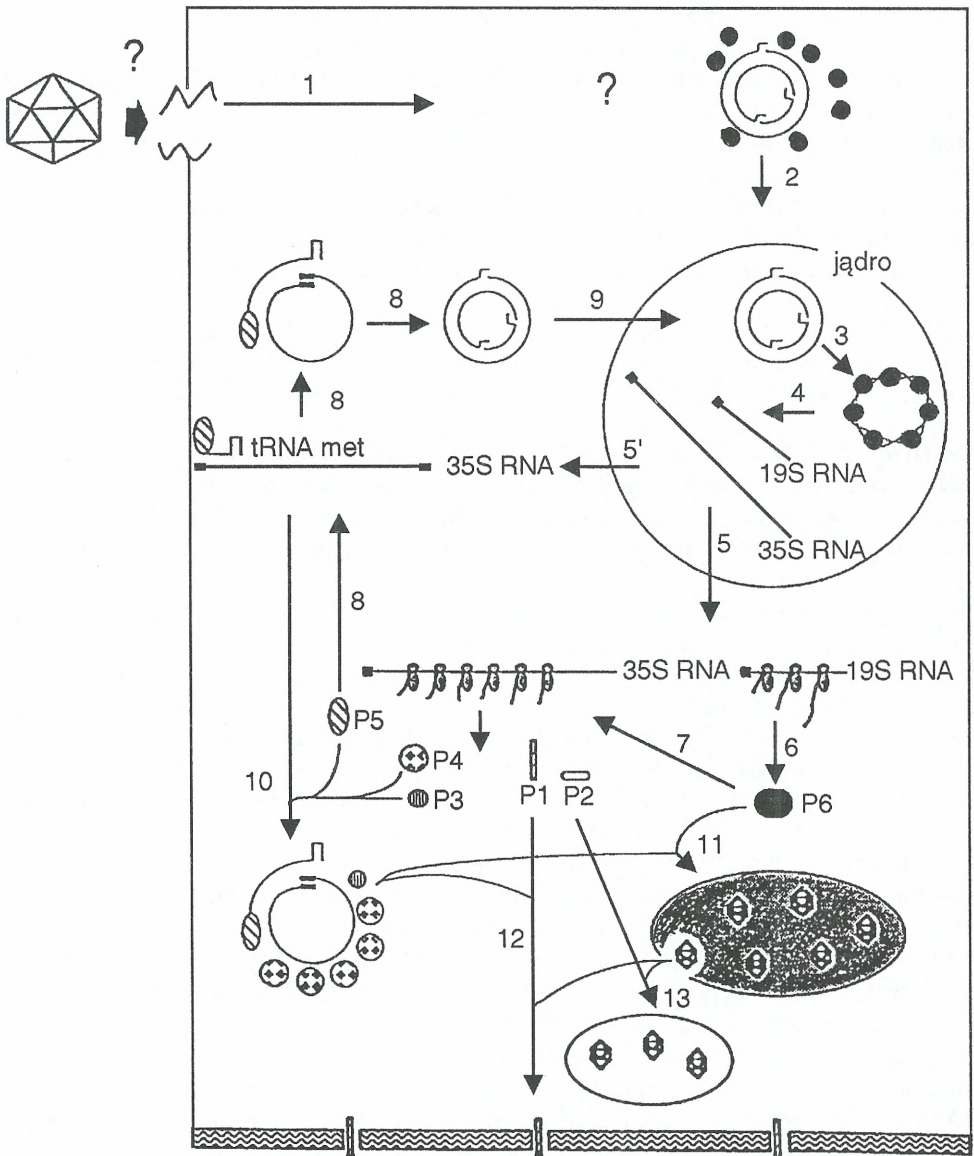
Gen VI — ORF VI koduje białko (P6) tworzące wiropłazmę elektronogęstą typ I — (ODELL i HOWELL 1980, COVEY i HULL 1981), białko służy do regulacji translacji, to znaczy jest posttranskrypcyjnym transaktywatorem translacji (GOWDA i współaut. 1989, BONNEVILLE i współaut. 1989). Gen VI odgrywa ważną rolę w nasileniu symptomów i specyficzności gospodarza, ma wpływ na transport w reakcji systemicznej rośliny (TAKAHASHI i współaut. 1989, DAUBERT i ROUTH 1990).

Gen VII i VIII — nie kodują białek, ale być może są związane z ekspresją 35 S RNA — policistronowego mRNA.

SCHEMAT CYKLU ŻYCIOWEGO CaMV

Schemat cyklu życiowego CaMV przedstawiono na rycinie 2. 1 — infekcja przez inokulację mechaniczną lub wprowadzenie wirusa przez mszyce; 2 — po odplaszczenu wiriona dwuniciowe cząsteczki DNA dostają się do jądra — (nie wiadomo, jak i gdzie zachodzi odbicie wirusa); 3 — ds DNA są łączone z histonami gospodarza w formę „minichromosomu”; 4 — „minichromosom” — nić α jest transkrybowana z udziałem komórkowej RNA polimerazy II w dwie formy przenośnikowego mRNA, 19S RNA i 35S RNA; 5 — transkrypty są wysyłane do cytoplazmy; 6 — 19S RNA podlega translacji na P6 — jest to białko stanowiące główny składnik wiropłazmy typu I; 7 — białko P6 uczestniczy także w posttranskrypcyjnej transaktywacji jako niezbędny czynnik do translacji 35S RNA w: P1 — niestrukturalne białko (transport), P2 — białko związane z przenoszeniem wirusa przez mszyce, P3 — białko mające niespecyficzną zdolność łączenia się z DNA, P4 — białko kapsydu, P5 — odwrotna transkryptaza; 8 — 35S RNA + P5 — odwrotna transkrypcja, najpierw powstaje nić (-) DNA potem (+) DNA; 9 — w „skrótowym” cyklu DNA może migrować z powrotem do jądra i wytwarzać dodatkowe transkrypty 35S RNA; 10 — produkty genów P3, P4 i P5 są syntetyzowane na 35S RNA; 11 — montaż i dojrzewanie wirionów wymagają produktu P6, składnika wiropłazmy (typ I), w której cząstki CaMV mogą być gromadzone; 12 — transport wirusa do sąsiednich komórek przez plazmodesmy

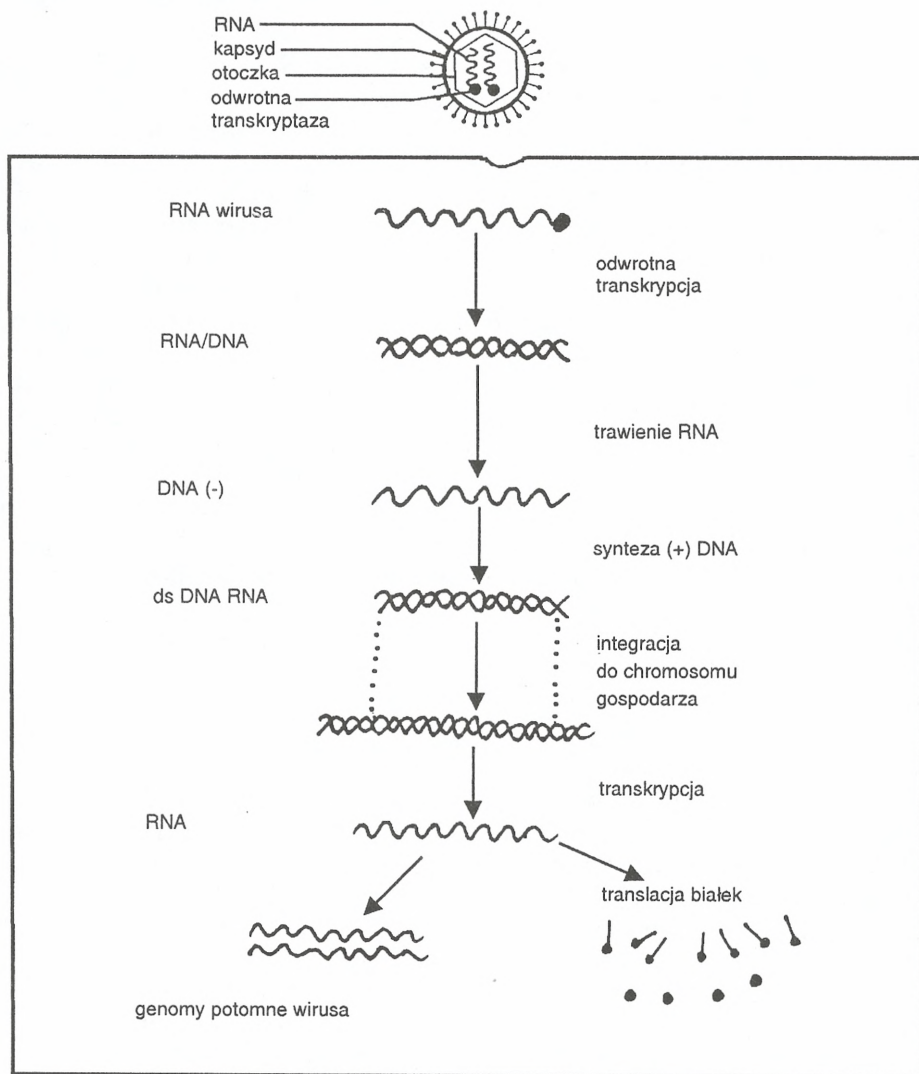
wymaga białka kodowanego przez gen *I*; 13 — wiriony zawarte w elektronoprzetrznej wiropłazmie (typu II) są formą CaMV transportowaną przez mszyce.



Ryc. 2. Schemat cyklu życiowego CaMV.

Wyjątkowość pararetrowirusów, do których należy CaMV, polega również na tym, że w cyklu życiowym uczestniczy enzym odwrotna transkryptaza, analogicznie jak w grupie zwierzęcych wirusów — retrowirusów: onkogennych, lentiwirusów typu HIV czy SIDA lub hepadnawirusów (wirus zapalenia wątroby typu B — HBV) (ryc. 3).

W przypadku retrowirusów, które mają genom ds RNA odwrotna transkryptaza katalizuje syntezę kopii wirusowego DNA na nici genomowego RNA. Natomiast pararetrowirusy mają genom ds DNA i tutaj udział odwrotnej transkryptazy następuje po utworzeniu transkryptów RNA, kiedy 35S RNA — staje się matrycą do syntezy kopii genomowego DNA: najpierw (-) DNA, a następnie (+) DNA.



Ryc. 3. Cykl życiowy retrowirusów.

Istotną różnicą między porównywanymi grupami wirusów jest również to, że DNA retrowirusów powstałe w procesie odwrotnej transkrypcji ulega integracji z chromosomowym DNA gospodarza, podczas gdy genom ds DNA CaMV nie

podlega takiemu włączaniu, a tworzy tylko formę tak zwanego „minichromosomu” (OLSZEWSKI i współaut. 1982).

W cyklu życiowym CaMV, którego model przedstawił PFEIFFER i współaut. (1983, 1987) (ryc. 2) wyróżnia się etapy, z których część jest zlokalizowana:

— w jądrze komórkowym: łączenie wirusowego ds DNA z histonami gospodarza w „minichromosom”; transkrypcja na „minichromosomie” przenośników RNA: 19S RNA — gen VI; 35S RNA — pełna kopia genomu — 8031 par nukleotydów i małe RNA „short-stop” — złożone ze 180 nukleotydów;

— w cytoplazmie: odwrotna transkrypcja: na 35S RNA synteza kopii nici (-) DNA, a następnie (+) DNA; translacja białek: na 19S RNA — białko wiropłazmy; na 35S RNA — wszystkie produkty białkowe genów; składanie i dojrzewanie cząstek w wiropłazmach.

Następstwem przedstawionych procesów jest obraz cytologiczny, w którym cząstki wirusa i wiropłazma dwóch typów są zlokalizowane w cytoplazmie porażonych komórek (ryc. 4). Interesujące są bardzo nieliczne obserwacje, które pokazują obecność cząstek CaMV w jądrze komórkowym: *Nicotiana clevelandii* szczep W-260 (GRACIA i SHEPHERD 1987); *Brassica pekinensis* (kapusta pekińska) — cząstki szczepu PDL 1 (GARBACZEWSKA i KERLAN 1992). Interpretacja tej lokalizacji jądrowej jest trudna do wyjaśnienia za pomocą proponowanego modelu, a obecność wirusa w jądrze może zakłócać metabolizm rośliny.

Innym zagadnieniem pozostającym dotychczas bez wyjaśnienia jest miejsce i sposób odbiałczania cząstek wirusa mozaiki kalafiora. Wiadomo, że cząstki CaMV mają ogromną stabilność i wymagają środowiska silnie zasadowego do dysocjacji wirusowego DNA od białek kapsydu. Sugeruje to, że w procesie potrzeba wiele energii, która prawdopodobnie pochodzi ze specyficznych struktur błonowych.

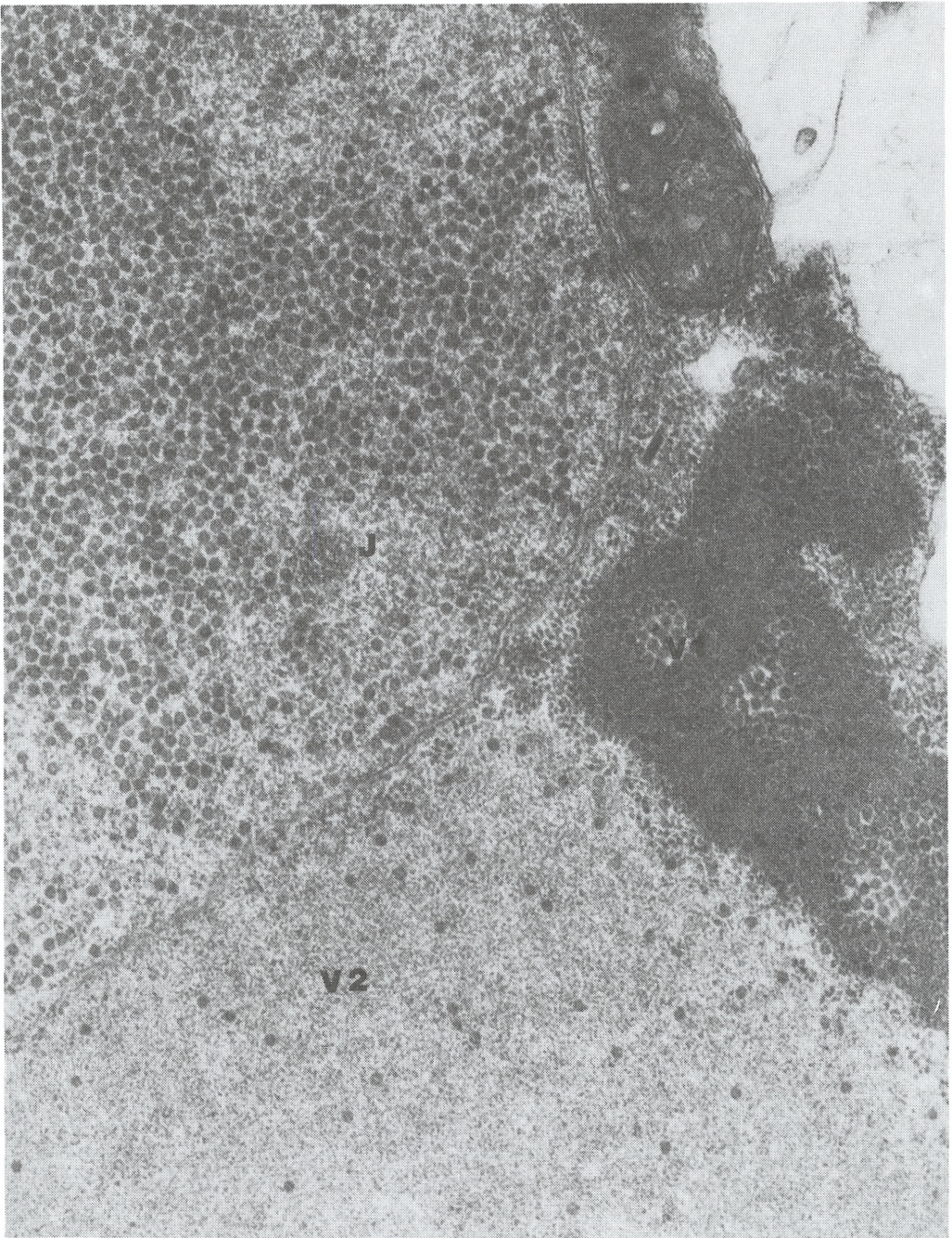
W cyklu życiowym CaMV na powstałym w jądrze komórkowym „minichromosomie” zachodzi transkrypcja przenośników RNA, które przemieszczają się do cytoplazmy.

Główna rola w cyklu życiowym CaMV przypada 35S RNA, które w procesie odwrotnej transkrypcji jest matrycą dla genomu ds DNA wirusa oraz służy do translacji produktów białkowych całego polycistronowego genomu wirusa.

Był badany mechanizm kontroli transkrypcji 35S RNA (COVEY i współaut. 1990, COVEY i TURNER 1991). Sądzi się, że transkrypcja 35S RNA jest kontrolowana przez jeden z genów. Wyklucza się raczej gen VI (białko wiropłazmy), który jest syntetyzowany konstytutywnie (COVEY i TURNER 1991). Natomiast rolę tę może pełnić gen IV odpowiedzialny za białko kapsydu (FUETTERER i HOHN 1991).

Porównywano również poziom m RNA: 35S, 19S i „short stop” w roślinach różniących się podatnością na infekcję CaMV. W roślinach o dużej podatności (kalafior) stwierdzono niski poziom przenośników 19 i 35S RNA, natomiast frakcja „short stop” RNA była wysoka. Wyniki były przeciwstawne dla roślin odpornych, co wskazuje na rolę regulacyjną tego małego RNA złożonego ze 180 nukleotydów i zakończonego sygnałem polyaenyacji — poly (A). Wydaje się, że odgrywa on podobną rolę w powstawaniu reakcji obronnych przez aktywowanie kinaz, jak u retrowirusów (SANFAÇON 1991).

Natomiast translacja policistronowego 35S RNA wymaga białka ORF (VI) (BONNEVILLE i współaut. 1989, GOWDA i współaut. 1989). Wskazuje na to niska



Ryc. 4. Fragment komórki miękiszowej liścia kapusty pekińskiej porażonej CaMV — PDL 1. W jądrze komórkowym (J) są widoczne liczne cząstki wirusa.

W cytoplazmie są dwa typy wiropłazmy. V1 elektronogęsta z licznymi cząstkami wirusa; V2 elektronoprzezierna z niewielką liczbą cząstek wirusa.

proporcja 19S:35S RNA w roślinach odpornych, gdzie ilość produktu ORF VI jest niewystarczająca do regulacji translacji z 35S RNA (HOHN 1990).

KIERUNKI BADAŃ Z WYKORZYSTANIEM CaMV

Powodem licznych prac nad CaMV są: a) zastosowanie ich genomu o strukturze ds DNA do badania funkcji poszczególnych genów i oddziaływań z genomem gospodarza; b) analogia budowy genomu i cyklu życiowego z retrowirusami, które są przyczyną groźnych chorób ludzi; c) wykorzystanie genomu w formie mRNA jako silnego wektora do wprowadzania genów do tkanek roślin, zwierząt i drożdży.

Genomy kilku szczepów CaMV zostały sekwencjonowane, określono zakres ich gospodarzy i wywołane przez nie symptomy. W odróżnieniu od wirusów roślin genom (+) ss RNA, genom ds DNA CaMV może być stosowany do inokulacji, a równocześnie może być dzielony na funkcjonalne fragmenty i testowany w roślinach transgenicznym (ANDERSON i współaut. 1992, SANFAÇON i współaut. 1991, SANFAÇON i WIECZOREK 1992, SAUNDERS i współaut. 1990). Przeprowadzano również zamianę fragmentów genomu CaMV tworząc tak zwane wirusy chimeryczne, a właściwie genomy hybrydowe z zastosowaniem enzymów restrykcyjnych. Następnie inokulowano rośliny o różnym stopniu odporności tymi genomami hybrydowymi, co umożliwiło określenie specyficznej roli genów CaMV.

Dla uzyskania roślin odpornych wprowadza się sekwencje kodujące białka, zaburzające cykl rozwoju wirusa, na przykład dla CaMV gen VI (białko wiropłazmy) lub gen IV (białko kapsydu) w orientacji sensownej lub antysensownej.

BIĄŁKA KODOWANE PRZEZ GENOM CaMV A INDUKCJA OBJAWÓW CHOROBYCH

Genom CaMV koduje 6 różnych białek, które są możliwymi sprawcami objawów chorobowych roślin. Wiadomo też, że nasilenie symptomów nie jest uwarunkowane koncentracją wirusa w tkankach rośliny. Każde z 6 białek wypełnia jedną z podstawowych funkcji cyklu życiowego CaMV, takich jak replikacja, transport czy przenoszenie wirusa przez mszyce, a jednocześnie ma wpływ na powstające symptomy w roślinie, jak na przykład karłowatość lub też decyduje o spełnianiu przez roślinę funkcji gospodarza. Te zależności są rezultatem kompleksowej interakcji białek wirusa ze specyficznymi białkami gospodarza.

PRODUKT BIAŁKOWY GENU VI

Szczególną cechą ultrastruktury komórek porażonych CaMV lub należących do grupy pararetrowirusów jest występowanie w cytoplazmie dwóch form inkluzji białkowych zwanych wiropłazmą (ryc. 4). Matriks wiropłazmy typu I jest miejscem gromadzenia się cząstek CaMV, a także miejscem składania cząstek i ich dojrzewania, ponieważ wykryto w niej aktywność odwrotnej transkryptazy (MAZZOLINI i współaut. 1989, MESNARD i współaut. 1990).

Głównym składnikiem wiropłazmy jest białko P6 (62 kDa) kodowane przez gen VI. Białko to daje efekty plejotropowe, ponieważ poza rolą strukturalną jest

zdolne aktywować ekspresję innych genów CaMV (SCHOLTHOF i współaut. 1992, BONNEVILLE i współaut. 1989) przez zwiększenie translacji genów z 35S RNA.

Ostatnio wykazano, że gen VI CaMV także uczestniczy w determinowaniu zakresu roślin gospodarzy wirusa (SCHOELZ i współaut. 1986, SCHOELZ i SHEPHARD 1988) i ma znaczącą rolę w powstawaniu symptomów, na przykład ma wpływ na wystąpienie chloroz rzepy (DAUBERT i współaut. 1984, ANDERSON i współaut. 1992).

Większość szczepów CaMV poraża systemicznie tylko rośliny z rodziny *Brassicaceae*. Jednak pewna grupa szczepów jest zdolna do porażania roślin z rodziny *Solanaceae*, a przebieg replikacji i rozprzestrzenianie wirusa w tych roślinach są różne, na przykład:

1. Szczep CabbS wywołuje reakcję lokalną na *Datura stramonium* (bieluń dziędzierzawa), *Nicotiana bigelovii*, *Nicotiana edwardsonii*.

2. Szczep D4 indukuje systemiczną mozaikę na *Datura stramonium*, *Nicotiana bigelovii*.

3. Szczep W 260 infekuje systemicznie *N. bigelovii* i *D. stramonium*, ale daje nekrozy na *D. stramonium*, a mozaikę na *N. bigelovii*.

Poprzez zmianę segmentów genomu między klonowanymi szczepami CaMV wykazano, że gen VI szczepu D4 jest odpowiedzialny za wystąpienie systemicznej mozaiki na *Datura* i *N. bigelovii* (DAUBERT i ROUTH 1990).

W przypadku innych szczepów także inne geny CaMV oddziałują na wystąpienie systemicznego rozprzestrzeniania szczepu W 260 w roślinach *Datura stramonium*. Reakcja ta zależy nie tylko od produktu genu VI, ale również od interakcji z genami I i IV (QIU i SCHOELZ 1992). Jednocześnie wyniki te wskazują, że w pewnych roślinach wytworzenie białka P6 może powodować reakcję obronną, a w następstwie ograniczenie transportu wirusa w roślinie. Białko P6 szczepów D 4 i W 260 nie wywołuje reakcji obronnej.

W transgenicznym roślina *N. bigelovii* (SCHOELZ i współaut. 1991) wykazali, że ekspresja produktu genu VI ze szczepu o systemicznej reakcji gospodarza powoduje zmianę w transporcie cząstek szczepu CaMV, który charakteryzował się reakcją lokalną, a wprowadzony gen spowodował uzyskanie przez wirusa zdolności do transportu na dalekie odległości.

Wykazano też, że gen VI jest włączony w indukcję chloroz i ma wpływ na powstawanie fenotypu karłowatości poprzez regulację translacji innych genów (ANDERSON i współaut. 1992).

Interesujące są wyniki badań odnoszące się do roślin nie gospodarzy CaMV. Ekspresja genu VI w transgenicznym roślina — nie gospodarzach, na przykład *N. tabacum* może wywoływać objawy charakterystyczne dla szczepów CaMV (BAUGHMAN i współaut. 1988, GOLDBERG i współaut. 1991, BALLAZS 1990), jednak może powodować powstanie bardzo silnych objawów. Białko P6 wywołuje wówczas tak zwany „toksyczny efekt”, podczas gdy rośliny gospodarza są bardziej tolerancyjne na białko P6 i lepiej znoszą procesy namnażania wirusa.

PRODUKT BIAŁKOWY GENU IV

Gen IV koduje białko kapsydu CaMV, któremu przypisuje się indukcję fenotypu karłowatości rzepy (ANDERSON i współaut. 1991). Białko kapsydu

wirusa mozaiki ogórka wpływa na wystąpienie chloroz na tytoniu (NELSON i współaut. 1990), a białko kapsydu wirusa mozaiki lucerny ALMV wpływa na zmianę fenotypu rośliny. Natura oddziaływań białek kapsydu z roślinami nie jest wyjaśniona. Natomiast w przypadku porażenia tytoniu wirusem mozaiki tytoniu sądzi się, że nagromadzenie białek kapsydu TMV w tylakoidach gran chloroplastów zakłóca procesy fotosystemu II i jest przyczyną wystąpienia chloroz (DAWSON 1991).

PRODUKT BIAŁKOWY GENU I

Gen *I* koduje białko transportowe 38 kDa podobne do białka TMV — 30 kDa (TOMENIUS i współaut. 1987) i mające zdolność do łączenia się z kwasem nukleinowym (CITOVSKY i współaut. 1991), stąd białko to może uczestniczyć w transporcie całych wirionów, jak i kwasów nukleinowych (CITOVSKY i ZAMBRYSKI 1992). Ekspresja objawów porażonych roślin jest uwarunkowana sposobem transportu wirusa w roślinie — transport lokalny odbywa się przez plazmodesmy z komórki do komórki lub transport w tkankach przewodzących na dalekie odległości — reakcja systemiczna. Produkt genu *I* był lokalizowany w plazmodesmach (LINSTEAD i współaut. 1988).

INNE PRODUKTY BIAŁKOWE GENÓW CaMV

Gen *II* koduje białko związane z nabywaniem wirusa przez mszyce i stanowiące główny składnik wiropłazmy typu II. Białko to ma wpływ kontrolujący na żerowanie i infekcyjność mszyc, a także pośrednio wpływa na fenotyp karłowatości, podobnie jak produkt genu *V* (STRATFORD i COVEY 1989).

UWAGI KOŃCOWE

Badania z użyciem transgenicznych roślin do ekspresji wirusowych genów wykazały, że właściwości kilku z nich umożliwiają antywirusową strategię. W przypadku CaMV dotyczy to głównie genów *VI* i *IV*. Dla innych wirusów zwiększenie odporności roślin na porażenie było uzyskane przez wprowadzenie do ich genomu następujących transgenów (NELSON i współaut. 1990):

1. Kodujących białko płaszczu — otrzymano rośliny transgeniczne, każdą z innym genomem wirusa: mozaiki tytoniu (TMV), potywirusa ziemniaka (PVY), wirusa liściozwoju ziemniaka (PLRV), wirusa mozaiki ogórka (CMV), wirusa mozaiki lucerny (ALMV) i CaMV — następuje wówczas zmiana dynamicznej równowagi między procesami montażu cząstek wirusa a dysocjacją białek kapsydu, bądź też inhibicja receptorów komórkowych, odpowiedzialnych za uwalnianie kwasu nukleinowego genomu wirusa od białek kapsydu.

2. Replikaz — następuje obniżenie procesów namnażania się wirusa, nadprodukcja RNA lub antysense RNA chroni przed wirusową infekcją.

Jednocześnie wyniki z transfekcją roślin nie-gospodarzy wskazują na trudności w regeneracji roślin i powstawanie zmienionego fenotypu. Roślina gospodarz poddana transfekcji w ten sam sposób z genem *VI* nie daje tak silnych objawów. Może to świadczyć o koewolucji rośliny i wirusa (ZIJLSTRA i HOHN 1992).

Można też sądzić, że czynniki genetyczne gospodarza kontrolują zdarzenia cyklu życiowego CaMV przebiegające w jądrze, podczas gdy zdarzenia cytoplazmatyczne cyklu są kontrolowane przez geny CaMV.

Jednym z najbardziej interesujących odkryć dotyczących CaMV było stwierdzenie, że jego 35S RNA może być silnym promotorem o konstytutywnej ekspresji przy wprowadzaniu genów do komórek roślin z klasy jedno- i dwuliściennych (SANDERS i współaut. 1987, BATTRAW i Hall 1990) komórek zwierzęcych (BALLAZS i współaut. 1989) i drożdży (HIRT i współaut. 1990), a być może znajdzie też zastosowanie jako wektor transgenów do komórek grzybów.

Transkrypty RNA CaMV, w tym 35S mają sygnały polyadenylacji podobne do tych, które występują w m RNA roślin, zwierząt, drożdży i retrowirusów (SANFACON 1991).

Poznanie regulacji transkrypcji genomu CaMV, roli sygnałów transkrypcyjnych i oddziaływań produktów białkowych genów wirusa z genomem roślin mogą wpłynąć na powstanie nowych metod inżynierii odporności, mających zastosowanie dla różnych organizmów, nie tylko roślinnych.

THE CAULIFLOWER MOSAIC VIRUS, CaMV, AS A REVERSE TRANSCRIPTASE DEPENDENT MODEL OF VIRAL LIFE CYCLE

Summary

CaMV, causes disease only in a narrow group of plants but is of special scientific interest because it resembles animal retroviruses both in its genome structure and the life cycle. CaMV genome consists of double-stranded circular DNA composed of 8 genes. One of them encodes reverse transcriptase, the enzyme catalysing DNA synthesis on RNA. CaMV genome is readily divided into fragments which can be used in studies on the effect of the host plant properties on the expression of viral genes.

LITERATURA

- AL ANI R., PFEIFFER P., WHITECHURCH O., LESOT A., LEBEURIER G., HIRTH L., 1980. A virus specified protein produced upon infection by cauliflower mosaic (CaMV). *Ann. Inst. Pasteur Virol.* 131 E. 33-53.
- ALBRECHT H., GELDREICH A., MENISSIER-DE MURCIA J., KIRCHHERR D., MESNARD J. M., LEBEURIER G., 1988. Cauliflower mosaic virus gene I product detected in a cell-wall-enriched fraction. *Virology* 163, 503-508.
- ANDERSON E. J., SHIRLEY G., QIU S. G., SCHOELZ J. E., 1991. Genetic analysis of determinants of disease severity and virus concentrations in cauliflower mosaic virus. *Virology* 181, 647-655.
- ANDERSON E. J., TRESE A. T., SEHGAL O. P., SCHOELZ J. E., 1992. Characterization of a chimeric cauliflower mosaic virus isolate that is more severe and accumulates to higher concentrations than either of the strains from which it was derived. *Mol. Plant Microbe Interact.* 5, 48-56.
- ARMOUR S. L., MELCHER U., PIRONE T. P., LITTLE D. J., ESSENBERG R. G., 1983. Helper component for aphid transmission encoded by region II of cauliflower mosaic virus DNA. *Virology* 129, 25-30.
- BALAZS E., 1990. Disease symptoms in transgenic tobacco induced by integrated gene VI of cauliflower mosaic virus. *Virus Genes* 3, 205-211.
- BALAZS N., BROIDO S., SOREG H., LOYTER A., 1989. Efficient functioning of plant promoters and poly (A) sites in *Xenopus* oocytes. *Nucleic Acids Res.* 19, 7891-7903.
- BATTRAW M. J., HALL T. C., 1990. Histochemical analysis of CaMV 35S promoter- α -glucuronidase gene expression in transgenic rice plants. *Plant Mol. Biol.* 15, 527-538.
- BAUGHMAN G. A., JACOBS J. D., HOWELL S. H., 1988. Cauliflower mosaic virus gene VI produces a symptomatic phenotype in transgenic tobacco plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 733-737.

- BONNEVILLE J. M., SANFACON H., FUTTERER J., HOHN T., 1989. *Posttranscriptional trans-activation in cauliflower mosaic virus*. Cell 59, 1135–1143.
- CHAUVIN C., JACROT B., LEBEURIER G., HIRTH L., 1979. *The structure of cauliflower mosaic virus, a neutron diffraction study*. Virology 96, 640–641.
- CITOVSKY V., KNORR D., ZAMBRYSKI P., 1991. *Gene I, a potential cell-to-cell movement locus of cauliflower mosaic virus encodes an RNA-binding protein*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88, 2476–2480.
- CITOVSKY V., ZAMBRYSKI P., 1992. *How do plant virus nucleic acids move through intercellular connections*. Bio Essays 13, 8., 373–379.
- CORNUET P., 1987. *Elements de virologie vegetale* INRA. Paris.
- COVEY S. N., HULL R., 1981. *Transcription of cauliflower mosaic virus DNA. Detection of transcripts, properties and location of the gene encoding the virus inclusion body protein*. Virology 3, 463–474.
- COVEY S. N., TURNER D. S., LUCY A. P., SAUNDERS K., 1990. *Host regulation of the cauliflower mosaic virus multiplication cycle*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87, 1633–1637.
- COVEY S. N., TURNER D. S., 1991. *Comparison of viral nucleic acid intermediates at early and late stages of cauliflower mosaic virus infection suggests a feedback regulatory mechanisms*. J. Gen. Virol. 72, 2603–2606.
- DAWSON W. O., 1991. *The pathogenicity of tobacco mosaic virus*. Sem. in Virology 2, 131–137.
- DAUBERT S., RICHINS R., SHEPHERD R. J., GARDNER R. C., 1982. *Mapping of the coat protein gene of cauliflower mosaic virus by its expression in a procariotic system*. Virology 122, 444–447.
- DAUBERT S., ROUTH G., 1990. *Point mutations in cauliflower mosaic virus gene VI confer host-specific symptom changes*. Mol. Plant Microbe Interact. 3, 341–345.
- DAUBERT S., SCHOELZ J., DEBAO L., SHEPHERD R. J., 1984. *Expression of disease symptoms in cauliflower mosaic virus genomic hybrids*. J. Mol. Appl. Genet. 2, 537–546.
- ESPIÑOZA A. M., MEDINA V., HULL R., MARKHAM P. G., 1991. *Cauliflower mosaic virus gene II produkt forms distinct inclusion bodies in infected plant cells*. Virology 185, 337–344.
- FUTTERER J., HOHN T., 1991. *Translation of a polycistronic mRNA in the presence on the cauliflower mosaic virus transactivator protein*. EMBO J., 10, 3887–3896.
- FRANCK A., JONARD G., RICHARDS K., 1980. *Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA*. Cell. 21, 285–294.
- GARBACZEWSKA G., KERLAN C., 1992. *Localization of cauliflower mosaic virus in the cell nucleus of Brassica pekinensis L*. Res. Virol., 143, 285–295.
- GOLDBERG K. B., KIERNAN J., SHEPHERD R. J., 1991. *A disease syndrome associated with expression of gene VI of caulimoviruses may be a nonhost reaction*. Mol. Plant Microbe Interact. 4, 182–189.
- GOWDA S., WU F. C., SCHOLTHOF H. B., SHEPHERD R. J., 1989. *Gene VI of figwort mosaic virus (caulimovirus group) function in posttranscriptional expression of genes on the full-length RNA transcript*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86, 9203–9207.
- GRACIA O., SHEPHERD R. J. *Cauliflower mosaic virus in the nucleus of Nicotiana*. Virology 146, 141–146.
- HIRT H., KOGL M., MURBACHER T., HEBERLE-BORS E., 1990. *Evolutionary conservation of transcriptional machinery between yeasts and plants as shown by the efficient expression from the CaMV 35S promoter and 35S terminator*. Curr. Genet., 17, 473–479.
- HOHN T., BONNEVILLE J. -M., FUTTERER J. I. *współautorzy*, 1990. *The use of 35S RNA as either messenger or replicative intermediate might control the cauliflower mosaic virus replication cycle*. [W:] *Viral genes and plant pathogenesis*. PIRONE T. P., SHAW J. G. (red.) Springer-Verlag, New York, 67–78.
- HOWARTH A. J., GARDNER R. C., SHEPHERD R. J., 1981. *Nucleotide sequence of naturally occurring deletion mutants of cauliflower mosaic virus*. Virology 112, 678–685.
- HULL R., 1991. *Plant viral pathogenesis*. Sem. in Virology. vol. 2, 79–80.
- LINSTEAD P. J., HILLS G. J., PLASKITT K. A., WILSON I. G., HARKER C. L., MAULE A. J., 1988. *The subcellular location of the gene I Product of cauliflower mosaic virus is consistent with a function associated with virus spread*. J. Gen. Virol. 69, 1809–1818.
- MAZZOLINI L., DABOS P., CONSTANTIN S., YOT P., 1989. *Further evidence that viroplasm are the site of cauliflower mosaic virus genome replication by reverse transcription during viral infection*. J. Gen. Virol. 70, 3439–3449.
- MESNARD J. M., KIRCHHERR D., WURCH T., LEBEURIER G., 1990. *The cauliflower mosaic virus gene III product is a non-sequence specific DNA binding protein*. Virology 174, 622–624.
- NELSON R. S., POWELL P. A., BEACHY R. N., 1990. *Coat protein — mediated protection against virus infection*. [W:] *Recognition and response in plant virus interactions*. Springer — Verlag, 427–442.
- ODELL J. T., HOWELL S. H., 1980. *The identification, mapping, and characterization of mRNA for P66, a cauliflower mosaic virus coded protein*. Virology 102, 349–359.

- OLSZEWSKI N., HAGEN G., GUILFOYLE T. J., 1982. A transcriptionally active covalently closed minichromosome of cauliflower mosaic virus DNA isolated from infected turnip leaves. *Cell* 29, 395–402.
- PFEIFFER P., HOHN T., 1983. Involvement of reverse transcription in the replication of cauliflower mosaic virus, a detailed model and test of some aspects. *Cell* 33, 781–789.
- PFEIFFER P., HOHN T., 1987. The life cycle of Cauliflower Mosaic Virus. *Plant Molec. Biol.*, 140, 443–453.
- PFEIFFER P., MESNARD J. M., 1995. The interplay of host and virus genes in the specificity and pathogenicity of cauliflower mosaic virus. [W:] *Pathogenesis and host specificity in plants diseases*. vol. 3, 269–285 Pergamon.
- PIRONE T. P., 1991. Viral genes and gene products that determine insect transmissibility. Sem. in *Virology* vol. 2, 81–87.
- QIU S. G., SCHOELZ J., 1992. Three regions of cauliflower mosaic virus strain W260 are involved in systemic infection of solanaceous host. *Virology* 190, 773–782.
- SANFACON H., 1991. Regulation of mRNA formation in plants, lessons from the cauliflower mosaic virus transcription signals. *Can. J. Bot.* 70, 885–899.
- SANFACON H., BRODMANN P., HOHN T., 1991. A dissection of the cauliflower mosaic virus polyadenylation signal. *Genes Dev.* 5, 141–149.
- SANFACON H., WIECZOREK A., 1992. Analysis of cauliflower mosaic virus RNAs in Brassica species showing a range of susceptibility to infection. *Virology* 189, 1–10.
- SANDERS P. R., WINTER J. A., BARNASON A. R., 1987. Comparison of cauliflower mosaic virus 35S and nopaline synthase promoters in transgenic plants. *Nucleic Acids Res.* 15, 1543–1559.
- SAUNDERS K., LUCY A. P., COVEY S. N., 1990. Susceptibility Brassica species to cauliflower mosaic virus infection is related a specific stage in the virus multiplication cycle. *J. Gen. Virol.* 7, 1641–1647.
- SCHOELZ J. M., SHEPARD R. J., DAUBERT S., 1986. Region VI of cauliflower mosaic virus encodes a host range determinant. *Mol. Cell. Biol.* 6, 2632–2637.
- SCHOELZ J. M., SHEPARD R. J., 1988. Host range control of cauliflower mosaic virus. *Virology* 162, 30–37.
- SCHOELZ J. M., GOLDBERG K. B., KIERNAN J., 1991. Expression of cauliflower mosaic virus (CaMV) gene VI in transgenic *Nicotiana bigelovii* complements a strain of CaMV defective in long-distance movement in nontransformed *N. bigelovii*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 4, 350–355.
- SCHOLTHOF H. B., WU F. C., GOWDA S., SHEPHERD R. J., 1992. Regulation of caulimovirus gene expression and the involvement of cis-acting elements on both viral transcripts. *Virology* 190, 403–412.
- STRATFORD R., COVEY S. N., 1989. Segregation of cauliflower mosaic virus symptom genetic determinants. *Virology* 172, 451–459.
- TAKAHASHI H., SHIMAMOTO K., EHARA Y., 1989. Cauliflower mosaic virus gene VI causes growth suppression, development of necrotic spots and expression of defence-related genes in transgenic tobacco plants. *Mol. Gen. Genet.* 216, 188–194.
- TOH H., HAYASHIDA H., MIYATA T., 1983. Sequence homology between retroviral reverse transcriptase and putative polymerases of hepatitis B virus cauliflower mosaic virus. *Nature* 305, 827–829.
- TOMENIUS K., CLAPHAM D., MESHI T., 1987. Localization by immunogold cytochemistry of the virus-coded 30K protein in plasmodesmata of leaves infected with tobacco mosaic virus. *Virology* 160, 363–371.
- TORRUELLA M., GORDON K., HOHN T., 1989. Cauliflower mosaic virus produces an aspartic proteinase to cleave its polypeptides. *EMBO J.* 8, 2819–2825.
- WOOLSTON C. J., COVEY S. N., PENSWICK J. R., DAVIES J. W., 1983. Aphid transmission and a polypeptide are specified by a defined region of the cauliflower mosaic virus genome. *Gene* 23, 15–23.
- ZIJLSTRA C., HOHN T., 1992. Cauliflower mosaic virus gene VI controls translation from dicistronic units in transgenic arabidopsis plants. *Plant Cell.* 4, 1471–1484.