

بیوتکنولوژی ویروس ریزی گیلاس: از تعیین ساختار مولکولی ژنوم تا ایجاد کیت تشخیص

جواد مظفری و دکتر یاسفیک

کرج - مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر - بخش تحقیقات ژنتیک و ذخایر توارثی گیاهی

ویروس ریزی گیلاس یا little cherry virus (LCV) با ذرات بزرگ رشته‌ای شکل، شباهت زیادی به ویروس‌های خانواده *Closteroviridae* دارد که بزرگ‌ترین ویروس‌های گیاهی بشمار می‌روند. LCV عامل یک بیماری مهم گیلاس در نقاط مختلف دنیا از جمله در ایالت بریتیش کلمبیای کانادا است که باعث ریز شدن میوه‌های گیلاس، کم‌رنگی، بی‌مزه‌گی و عدم رسیدن آنها می‌شود. تشخیص این بیماری پرورش معمول اندکس کردن (woody indexing) بیش از دو سال طول می‌کشد. بمنظور ایجاد یک سیستم تشخیص سریع ابتدا ژنوم این ویروس (به اندازه 12.6 kb ~) از روی فرم دو رشته‌ای RNA آن کلون گردیده و توالی ژن‌های آن مشخص شد. تجزیهٔ سکانس‌های ژنوم این ویروس با استفاده از نرم افزارهای ویژه کامپیوتری نشان داد که پروتئین‌های کد شده توسط این ویروس شباهت‌های زیادی به پروتئین‌های ویروس‌های خانواده *Closteroviridae* دارد در حالیکه سازمان ژنومی آن با ویروس‌های این خانواده متفاوت است. ژنوم LCV نیز همانند ویروس‌های خانواده *Closteroviridae* پروتئین‌های helicase و RNA-dependent RNA Polymrase (RdRp) توسط سکانس‌هایی از ORF1 کد می‌شود. داشتن پروتئین شوک حرارتی یا heat shock protein با وزن مولکولی ۷۰ KD (HSP70) مهمترین مشخصهٔ ویروس‌های خانواده *Closteroviridae* می‌باشد که در این ویروس نیز توسط ORF5 کد می‌شود. یکی از شگفتی‌های LCV اینست که سه تا از ORFهای شناسایی شدهٔ ژنوم این ویروس پروتئین پوششی (CP) تولید می‌کنند. یکی از آنها در بالادست و دوتای دیگر در مجاورت همدیگر در فرودست ژن HSP70 قرار دارند. ناحیه غیر کد کننده مابین ORF2 و ORF3 در LCV بزرگتر از همان ناحیه در ویروس‌های دیگر این خانواده است. بر خلاف ویروس‌های خانواده *Closteroviridae* تجلی ژن RdRp در LCV از طریق پدیدهٔ ribosomal frame-shifting صورت نمی‌گیرد. همین‌طور محل قرار گرفتن پروتئین کوچک و هایدروفوبیک transmembrane در این ویروس متفاوت از ویروس‌های مشابه است. بطور کلی باید گفت با وجود شباهت‌های پروتئینی موجود بین LCV و اعضای شناخته شدهٔ خانواده *Closteroviridae* تفاوت‌های فاحش ساختاری و سازمانی بین آنها وجود دارد. بنابراین

بنظر می‌رسد ویروس LCV بایستی بعنوان یک جنس جدید در داخل Closteroviridae در کنار دو جنس دیگر این خانواده closterovirus و crinivirus طبقه‌بندی شود. بعلت بیماریزا بودن LCV روی گیلاس (*Prunus avium*) نام 'aviumovirus' برای این ویروس جدید پیشنهاد می‌گردد. اطلاعات ژنتیکی بدست آمده از این مطالعات پایه‌ای، مستقماً برای ایجاد سیستم تشخیص مولکولی (ELISA kit) مورد استفاده قرار گرفت. هر سه ژن کدکننده پوشش پروتئینی LCV جداسازی و کلون گردید. پروتئین‌های مربوط به این ژنها در سویه‌های DHa-5 باکتری *E. Coli* در شرایط *in vitro* تولید شد. پلی‌کلونال آنتی‌بادی مربوط به هریک از این پروتئین‌های خالص شده در خرگوش تولید گردیده و ارزش diagnostic آنها با ELISA و Western Blot مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس این آزمایشها آنتی‌بادیهای تولید شده می‌توانند پروتئینهای مربوطه و ویروس LCV را در غلظت‌های بسیار پائین نیز تشخیص دهند. آزمایشهای مزرعه‌ای آنها هم‌اکنون در حال انجام است.