



ABV-DOOT-PKR-gebaseerde transkripsionele profilering van differensieel-uitgedrukte gene in *Arabidopsis thaliana* na ergosterien-behandeling

Authors:

J.S. Sherwood¹
I.A. Dubery¹
L.A. Piater¹

Affiliations:

¹Department of Biochemistry,
University of Johannesburg,
South Africa

Correspondence to:

J. Herwood

Email:

sherwoodjohn1@gmail.com

Postal address:

Private Bag X11, Arcadia
0007, South Africa

How to cite this article:

Sherwood, J.S., Dubery, I.A. & Piater, L.A., 2014, 'ABV-DOOT-PKR-gebaseerde transkripsionele profilering van differensieel-uitgedrukte gene in *Arabidopsis thaliana* na ergosterien-behandeling', *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* 33(1), Art. #1225, 2 pages. <http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v33i1.1225>

Note:

This paper was initially delivered at the School of Environmental Sciences and Development of the North-West University, Potchefstroom Campus, South Africa on 05 October 2012.

Copyright:

© 2014. The Authors.
Licensee: AOSIS
OpenJournals. This work is licensed under the Creative Commons Attribution License.

Read online:



Scan this QR code with your smart phone or mobile device to read online.

ACP-DDRT-PCR-based transcriptional profiling of differentially-expressed genes (DEGs) in *Arabidopsis thaliana* following ergosterol elicitation. Detailed assessment of the general plant transcriptome status following specialised ACP-DDRT-PCR-based screening post-elicitation will enable identification of numerous potential defence-related genes, signal transduction pathways and cascades employed by the plant in fungal phytopathogen perception, recognition and defence.

Die afwesigheid van verworwe immuniteit in plante het mettertyd na die ontwikkeling van 'n komplekse ingebore plant-immuniteitsstelsel gelei, en plante maak uitsluitlik hierop staat om menigte fitopatogeniese mikro-organismes doeltreffend te bestry. Immuunstrategieë in plante behels voorafvervaardigde asook induseerbare verdedigingsreaksies, met die laasgenoemde meer spesifiek en word slegs na patoog-herkenning geaktiveer. 'n Belangrike vroeë induseerbare verdedigingsreaksie, PVMP-geaktiveerde immuniteit (PGI), behels die spesifieke wisselwerking tussen algemene patogeniese oppervlaksmolukules bekend as patoog of mikrobies-verwante molekulêre patrone (P/MVMPe), met gasheerplant-transmembraanreseptore genoemde patroonherkenningsreseptore (PHRe). PGI is die eerste beduidende induseerbare immuunreaksie in die gasheersel wat lei na spesifieke transkripsionele herprogrammering en aktivering van toepaslike verdedigingsverwante gene en sein-transduksiekaskades in die gasheersel. Dit veroorsaak uiteindelik geprogrammeerde gasheerseldood in die infeksiegebied en sodoende bekamp dit doeltreffend patoogverspreiding in die plant. Ergosterien, 'n welbekende MVMP wat slegs in swam-selmembrane aangetref word, is in hierdie studie gebruik om spesifieke verdedigingsreaksies en transkripsionele veranderinge wat plaasvind in die gasheersel na swam-MVMP persepsie te bepaal. Anneleringsbeheer-voorvoerder, differensieël-oorgelegde omgekeerde-transkripsie polimerasekettingreaksie (ABV-DOOT-PKR) is uitgevoer om geen-uitdrukingsvlakke na ergosterien behandeling te bepaal, weens dié tegniek se gespesialiseerde voorvoerderstruktuur hul toelaat om meer spesifiek aan die teiken geen te kan aanleer by hoër temperature. Hierom kan hulle meer potensieël uitgedrukte gene identifiseer sonder om vals-positiewe resultate te verkry, 'n probleem wat steeds konvensionele differensieël-oorgelegde PKR tegnieke teister.

ABV-DOOT-PKR kan doelmatig aangewend word om verskeie differensieël-uitgedrukte gene in 'n model plantstelsel te identifiseer na ergosterien-behandeling, en hierdie gene kan benut word om potensieël seinkaskades toe te lig wat deur die plant in diens gestel word om die herkenning en bekamping van swampatogene teweeg te bring.

Evans BlueTM sel-lewensvatbaarheidstoetse en kwantitatiewe omgekeerde-transkripsie (KOT)-PKR studies is uitgevoer op beide blare en saailinge van *Arabidopsis thaliana* (Ergosterien konsentrasies tot-en-met 1 μM is gebruik om die effek op geen-uitdrukingsvlakke en sel lewensvatbaarheid te bepaal) om optimale ergosterien konsentrasie om te gebruik vir ABV-DOOT-PKR te bepaal. ABV-DOOT-PKR is dan uitgevoer op beide weefseltipes deur gebruik te maak van 60 arbitrêre ABVs by induksietydperke van tot-en-met 12 h. PKR-produkte is op agarosegelle gehardloop en gene wat differensieël uitdrukking vertoon is uitgesny, versterk met SKOT-PKR en gestuur vir volgordebepaling. Bioinformatiese ontledings sal verrig word om geen-identiteite vas te stel, en dié sal uiteindelik bevestig word deur KOT-PKR.

Sel lewensvatbaarheidstoetse wat uitgerig is op beide blare en 10-dag-oue hidroponiese saailinge van *Arabidopsis thaliana* het getoon dat 'n ergosterien konsentrasie van 250 nM bes geskik is om latere ontleding te verrig, deurdat hierdie konsentrasie 'n betekenisvolle effek op die lewensvatbaarheid van beide weefseltipes het, met maksimum lewensvatbaarheidsdalings van slegs 9.53% en 11.21% in sade en blare, onderskeidelik. Tye tot-en-met 12 h is aangewend deurdat



sel lewensvatbaarheid in beide weefseltipes aansienlik gedaal het by 24 h. Dit stem ooreen met menige vorige studies wat 200 nM – 300 nM ergosterien as optimaal verklaar. KOT-PKR het ook getoon dat sekere verdedigingsverwante-gene wat in vorige studies ontdek is toenemende uitdrukkingsvlakke getoon het. Een geen in besonder, 'n LOP (Lipiedeoordragsproteïen), het 'n 32-voudige toename aangedui na 4 h behandeling. 'n OSVP (Oksiesterien-verbindingsproteïen), veronderstel om spesifiek met molekules soos ergosterien te verbind, het ook toegeneemde uitdrukking getoon,

hoewel veel minder as die LOP. ABV-DOOT-PKR het ook spesifiek 10 en 53 gene geïdentifiseer wat onderskeidelik verlaagde en verhoogde uitdrukking in blaarweefsel getoon het met ergosterien-konsentrasies van 250 nM by tot-en-met 12 h. Op 'n soortgelyke wyse is daar ook agt en 43 gene geïdentifiseer in saailing weefsel wat verlaagde- en verhoogde uitdrukking getoon het by hierdie ergosterien konsentrasie en tydperke. Hierdie gene is gestuur vir volgorde-bepaling en bioïnfomatika en KOT-PKR-bevestiging sal verrig word sodra volgordes verkry is.