



Identifikasie van differentieël-uitgedrukte gene in *Arabidopsis thaliana* na behandeling met Ergosterien oor 24 uur, met behulp van anneleeringsbeheer voorvoerder, differensieël oorgelegde omgekeerde transkripsie polimerase kettingreaksie (ABV-DOOT-PKR)

Authors:

John S. Sherwood¹
L.A. Piater¹

Affiliations:

¹Department of Biochemistry,
University of Johannesburg,
Auckland Park Campus,
South Africa

Correspondence to:

John Sherwood

Email:

john_sherwood@live.co.za

Postal address:

PO Box 524, Auckland Park
2006, South Africa

How to cite this abstract:

Sherwood, J.S & Piater, L.A.,
2012, 'Identifikasie van
differentieël-uitgedrukte
gene in *Arabidopsis
thaliana* na behandeling
met Ergosterien oor 24
uur, met behulp van
anneleeringsbeheer
voorvoerder, differensieël
oorgelegde omgekeerde
transkripsie polimerase
kettingreaksie (ABV-DOOT-
PKR)', *Suid-Afrikaanse
Tydskrif vir Natuurwetenskap
en Tegnologie* 31(1), Art.
#326, 2 pages. <http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v31i1.326>

Note:

This abstract was initially
presented at the annual
Biological Sciences
Symposium, presented
under the protection of the
*Suid-Afrikaanse Akademie
vir Wetenskap en Kuns*. The
symposium was held at the
University of Johannesburg
on 01 October 2011.

© 2012. The Authors.
Licensee: AOSIS
OpenJournals. This work
is licensed under the
Creative Commons
Attribution License.

Transcriptional profiling of differentially expressed genes (DEGs) in *Arabidopsis thaliana* following ergosterol elicitation, using ACP-DDRT-PCR. Transcriptional profiling is performed using a highly specialised and accurate PCR technique known as ACP-DDRT-PCR in order to assess and possibly identify signalling cascades and signal transduction pathways employed by plants in fungal pathogen recognition.

Agtergrond

Plante word voortdurend blootgestel aan menigte fitopatogeniese mikro-organismes wat in hul onmiddellike omgewing voorkom en het dus met die verloop van tyd 'n komplekse ingebore immuniteitstelsel ontwikkel om hierdie patogene te herken en te bestry. Een metode wat 'n plant gebruik om patogene te bespeur is deur die interaksie van gespesialiseerde transmembraan reseptors bekend as patroonbespeuringsreseptors (PBRs), met algemene patogeniese oppervlakmolekules bekend as mikrobies-geassosieerde molekulêre patrone (MGMPs). Hierdie interaksie wy 'n magdom sein kaskades en verskeie seintransduksie prosesse in wat uiteindelik lei tot gelokaliseerde geprogrammeerde seldood, wat die verspreiding van die patoogeen regdeur die plant effektief afweer. In hierdie studie is Ergosterien, 'n wel-gevestigde swam MGMP wat spesifiek in swam selwande voorkom, gebruik om *Arabidopsis thaliana* plante op verskillende tye van tot en met 24 uur te behandel, saam met geskikte kontroles.

Doel

Die doel is om 'n transkripsionele profiel van die plante op elke tydperk te verkry en enige gene wat differentieële uitdrukking vertoon te identifiseer, om moontlik 'n reseptor of 'n sein kaskade te identifiseer wat deur die plant gebruik word om enige swam patogene te herken, deurdat daar nog niks bekend is omtrent swam erkenning of interaksie in plante nie.

Materiaal en Metodes

Gedurende die bestudering van die gene wat differentieël uitgedruk is, kan daar dikwels baie tegnieke gebruik word. In hierdie studie sal 'n gespesialiseerde tegniek, bekend as anneleeringsbeheer voorvoerder, differensieël oorgelegde omgekeerde transkripsie polimerase kettingreaksie (ABV-DOOT-PKR) uitgevoer word om enige differensieël-uitgedrukte gene te ontdek. Die effektiwiteit van die tegniek behels die struktuur van die gespesialiseerde voorvoeders wat bind by hoër temperature, in vergelyking met voorvoeders wat gewoonlik benut word vir konvensionele differensieël oorgelegde PKR tegnieke. Dus kan dié tegniek differensieël-uitgedrukte gene makliker optel. Verder is daar ook feitlik geen fals-positiewe resultate nie, 'n probleem wat steeds konvensionele differensieël oorgelegde PKR tegnieke plaag. Die transkriptoom van hierdie plante sal geprofileer word om enige gene wat wisselende uitdrukking toon te bepaal as gevolg van Ergosterien behandeling. Die plante is behandel met wisselende konsentrasies van Ergosterien van tot en met 1 µM op verskeie tydperke. Ribonukleïnsuur (RNS) is onttrek en semikwantiteits-omgekeerde transkripsie PKR (SKOT-PKR) is uitgevoer op 'n aantal gene wat volgens gepubliseerde literatuur opgereguleer sal word. 'n Evans Blue™ sel lewensvatbaarheid toets is ook gedoen om die hoogste konsentrasie van Ergosterien wat tydens plant behandeling gebruik kan word sonder om die sel lewensvatbaarheid aansienlik te affekteer, te identifiseer.



Resultate

Die resultate toon dat 250 nM Ergosterien behandeling optimaal is vir die bewerking van differensiële uitdrukking van gene. ABV-DOOT-PKR is uitgevoer op beide 1 uur en 4 uur monsters met behulp van 20 arbitrêre ABVs, en 15 en 18 differensieël-uitgedrukte gene is tydens die 1 uur en 4 uur

tydperke onderskeidelik, geïdentifiseer. Hierdie gene is dan uit die jel gesny en gevries. Daarna sal die basisvolgorde van differensieël-uitgedrukte gene bepaal word deur pyrovolgordebepaling. Die identiteit van die gene kan dan bepaal word met behulp van Bioinformatika databasisse. Die geen uitdruksvlakke en patrone sal uiteindelik bevestig word deur kwantitatiewe PCR en SKOT-PCR.