MAPK is een afkorting voor Mitogen-activated protein kinases. MAPKs fosforyleren eiwitten die betrokken zijn bij cellulaire signalerings processen in eukaryoten. MPK3 en MPK6 zijn door stress geactiveerde MAPKs. Het aantal geïdentificeerde MAPK substraten die de defense response van planten reguleren zijn beperkt. De signalen die de plant-pathogeen interaction pathway activeren zijn vaak, maar niet noodzakelijk, extern: temperatuur, zuurgehalte, vochtgehalte, ioniserende straling, aminozuur deprivatie, etc. (UniProtKB - Q39023 (MPK3\_ARATH)). MPK3 en MPK6 zijn de receptoren die deze stress signalen signaleren en daarmee de defense response van de plant reguleren, ze worden door middel van threonine en tyrosine gefosforyleerd. Na pathogene infectie van een plantencel zal MAPKKK de infectie ‘registreren’. Hierna volgt een fosforylering van MAPKK en daarna van MAPK. MAPK fosforyleert op zijn beurt weer VIP1 en WRKY22 om de stress-gerelateerde pathway voort te zetten (Laboratories, 2017). VIP1 is een transcriptiefactor die de productie van het eiwit PR1 op gang brengt en daarmee de late defence response voor pathogene infecties activeert. WRKY22 is een transcriptiefactor die het eiwit FRK1 produceert en daarmee de vroege defence response voor pathogene infecties activeert (MAPK signaling pathway - plant - Arabidopsis thaliana (thale cress) ) .

Door Lassowskat (Lassowskat Ines, 2014) is een MS proteomics experiment uitgevoerd om gefosforyleerde eiwitten die zich mogelijkerwijs downstream in de signaleringsroute van MPK3 en MPK6 bevinden te identificeren. Hiervoor zijn de MPK3 en MPK6 mutant planten getransformeerd met de constitutief actieve variant van MKK5 (MKK5DD). Om de activatie van MPK3 en MPK6 te simuleren heeft Lassowskat in vivo transgene planten gemaakt van de soort Arabidopsis thaliana, met een induceerbaar systeem. Een constitutief actieve variant van MKK5 (MKK5DD) uit Petroselinum crispum is gebruikt om het wild-type Colombia (Col-0) te transformeren onder controle van een dexamethason(DEX)-induceerbare promotor. Als controle groep is het Col-0 genotype met een kinase-inactieve MKK5 mutant(MKK5KR) getransformeerd. Deze artificiële MPK3 en MPK6 activatie, zonder enige stress-signalen of andere pathogenen, is volgens metaboloom analyse genoeg om de productie van belangrijke defense gerelateerde metabolieten te activeren. Aan de hand van deze controle groep is de 6e dataset en daarmee ook het 6e Excel file gegenereerd.

De relatieve concentratie van de in elk genotype aanwezige eiwitten zijn met behulp van proteomics (MS-MS) geïdentificeerd. De concentratie van de eiwitten is steeds vergelijken met de concentratie van eiwitten voor DEX stimulatie om te bepalen welke eiwitten up-gereguleerd zijn en welke down-gereguleerd zijn als gevolg van MKK5 activatie. De MAPK-target fosforylering site is typerend voor MAPK substraten. Om te bepalen of de gevonden eiwitten een MAPK substraat kunnen zijn wordt er met een voorspelling tool bekeken of ze deze typerende fosforylering site bevatten. Met MS-MS (ScienceDirect, 2018)wordt vervolgens voorspelt of de peptides gefosforyleerd worden. Een aantal van de gevonden mogelijk MAPK gefosforyleerde eiwitten blijken geassocieerd te zijn met de biosynthese van antimicrobiële defense metabolieten. Bijvoorbeeld WRKY transcriptie factoren en eiwitten gecodeerd door de genen van de ‘PEN pathway’ nodig voor ‘penetration resistance to filamentous fungi’.

Dit onderzoek breidt verder op de resultaten van een eerder gedaan onderzoek van Ines lassowskat (Lassowskat Ines, 2014). De resultaten bevatten onder andere 6 Excel files met in elk file de resultaten van een andere opzet van het onderzoek. Dit onderzoek maakt gebruik van de laatste 4 files. Waarbij file 3 de eiwitten bevat die tot expressie komen wanneer MPK3 aanstaat en MPK6 uit; file 4 bevat de resultaten wanneer MPK3 uit staat en MPK6 aan; file 5 geeft de eiwitten weer die tot expressie komen wanneer MPK3 én MPK6 aan staan. File 6 is de negatieve controle, hier staan de eiwitten in die tot expressie komen ook al staan MPK3 én MPK6 allebei uit. De bio-informatica vraag van dit onderzoek is of de eiwitten die zich mogelijkerwijs downstream in de signaleringsroute van MPK3 en MPK6 bevinden geïdentificeerd kunnen worden.

# Verwijzingen

Laboratories, K. (2017, 8 28). *MAPK SIGNALING PATHWAY - PLANT.* Opgehaald van KEGG: https://www.genome.jp/kegg-bin/show\_pathway?map04016

Lassowskat Ines, B. C.-L. (2014). *Sustained mitogen-activated protein kinase activation reprograms defense metabolism and phosphoprotein profile in Arabidopsis thaliana* . Opgehaald van Frontiers: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00554

*MAPK signaling pathway - plant - Arabidopsis thaliana (thale cress) .* (sd). Opgehaald van KEGG: https://www.genome.jp/kegg-bin/show\_pathway?ath04016+AT3G45640

ScienceDirect. (2018). *Tandem Mass Spectrometry.* Opgehaald van ScienceDirect: https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/tandem-mass-spectrometry

*UniProtKB - Q39023 (MPK3\_ARATH).* (sd). Opgehaald van Uniprot: https://www.uniprot.org/uniprot/Q39023