

AT5G45470 & AT5G45480

Czyli meandry niekodującego RNA

Konstancja Gałat

BtMol II rok

5 września 2023

Plan prezentacji

① Wstęp

Genom *Arabidopsis thaliana*

Sporobolomyces ruberrimus

AT5G45472

AT5G45470 & AT5G45480

② Białka

Proponowane struktury

Porównanie struktur

③ Badania

Plan badań

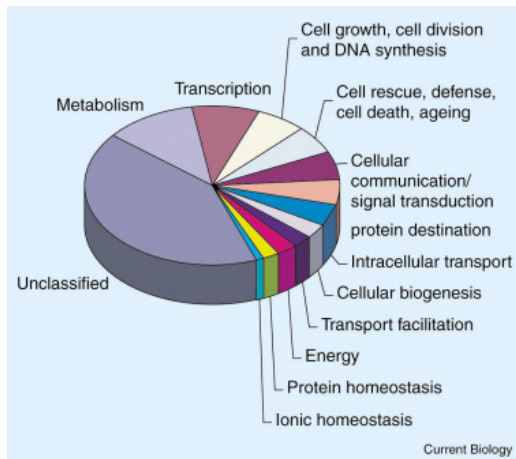
Gateway

Identyfikacja grzyba

qPCR

Hodowla wazonowa

Genom Arabidopsis



10.1186/1741-7007-3-7

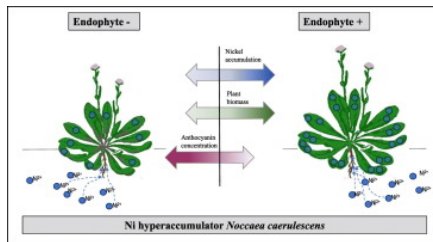
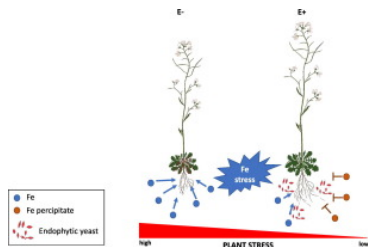
Sporobolomyces ruberrimus



Sporobolomyces ruberrimus

Yamasaki & H. Fujii ex Fell, Pinel, Scorzetti, Statzell & Yarrow 2002

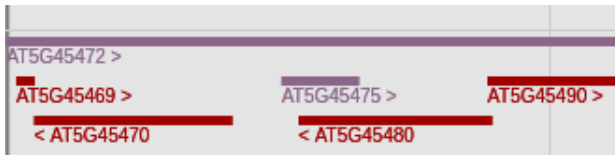
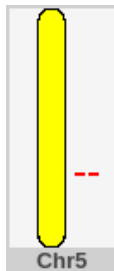
Sporobolomyces ruberrimus



10.1016/j.scitotenv.2023.161887

10.1016/j.scitotenv.2020.144666

AT5G45472

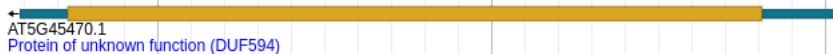


<https://rnacentral.org/rna/URS0000A77357/3702>

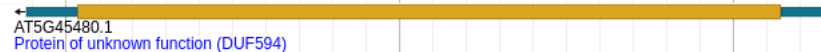
<https://gbrowse.arabidopsis.org/cgi-bin/gb2/gbrowse/arabidopsis/?name=AT5G45472.1>

AT5G45470 & AT5G45480

AT5G45470

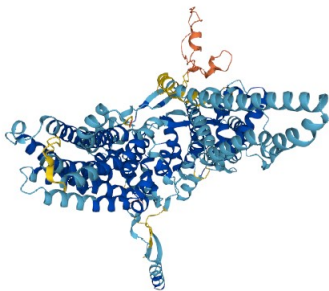


AT5G45480

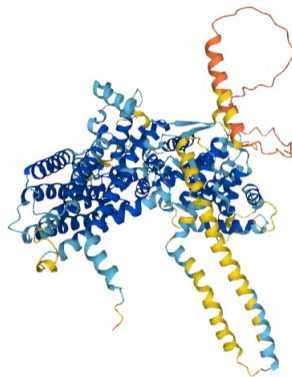


<https://jbrowse.arabidopsis.org/>

Proponowane struktury

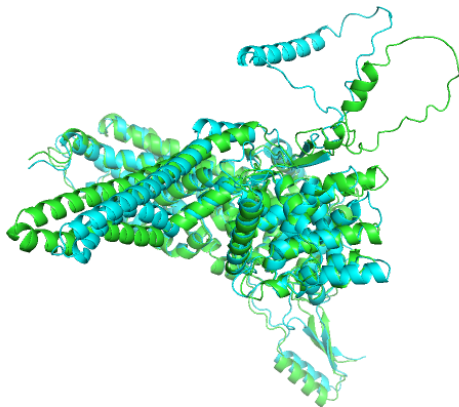


(a) Q9FHI9

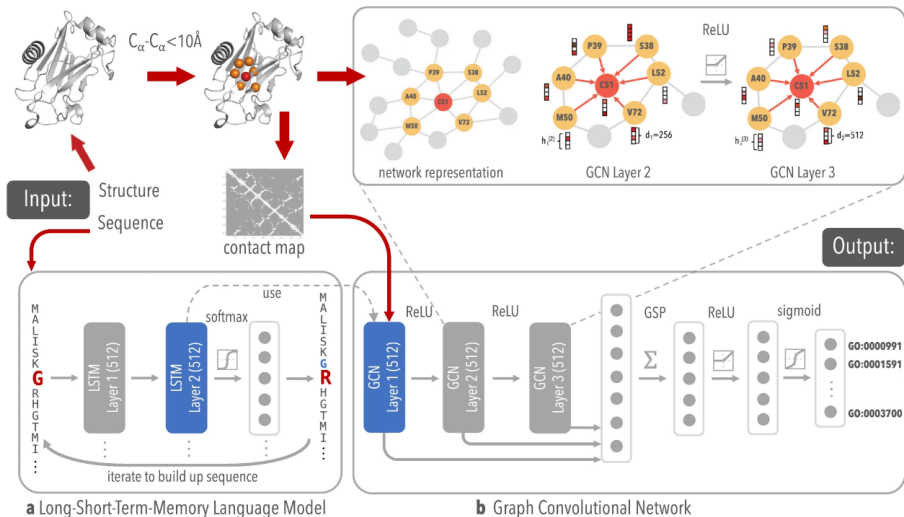


(b) Q9FHI8

Porównanie struktury białek



96.6%!



<https://doi.org/10.5281/zenodo.4650027>

#from PDB

Q9FHI9

Protein GO-term/EC-number Score GO-term/EC-number name

query_prot GO:0022857 0.54749 transmembrane transporter activity

query_prot GO:0005215 0.51023 transporter activity

query_prot GO:0015267 0.39137 channel activity

query_prot GO:0022803 0.39113 passive transmembrane transporter activity

query_prot GO:0015318 0.32388 inorganic molecular entity transmembrane transporter activity

Q9FHI8

Protein GO-term/EC-number Score GO-term/EC-number name

query_prot GO:0005215 0.55880 transporter activity

query_prot GO:0022857 0.53133 transmembrane transporter activity

query_prot GO:0015075 0.20847 ion transmembrane transporter activity

query_prot GO:0015267 0.20256 channel activity

query_prot GO:0022803 0.19918 passive transmembrane transporter activity

#from sequence

Q9FHI9

Protein GO-term/EC-number Score GO-term/EC-number name

tr|Q9FHI9|Q9FHI9_ARATH GO:0032555 0.11981 purine ribonucleotide binding

tr|Q9FHI9|Q9FHI9_ARATH GO:0097367 0.11927 carbohydrate derivative binding

tr|Q9FHI9|Q9FHI9_ARATH GO:0032553 0.11623 ribonucleotide binding

tr|Q9FHI9|Q9FHI9_ARATH GO:0032559 0.11592 adenylyl ribonucleotide binding

tr|Q9FHI9|Q9FHI9_ARATH GO:0035639 0.11340 purine ribonucleoside triphosphate binding

Q9FHI8

Protein GO-term/EC-number Score GO-term/EC-number name

tr|Q9FHI8|Q9FHI8_ARATH GO:0017076 0.21796 purine nucleotide binding

tr|Q9FHI8|Q9FHI8_ARATH GO:0032555 0.21609 purine ribonucleotide binding

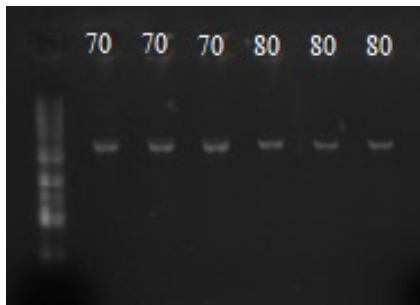
tr|Q9FHI8|Q9FHI8_ARATH GO:0032553 0.20761 ribonucleotide binding

tr|Q9FHI8|Q9FHI8_ARATH GO:0035639 0.20463 purine ribonucleoside triphosphate binding

tr|Q9FHI8|Q9FHI8_ARATH GO:0097367 0.19850 carbohydrate derivative binding

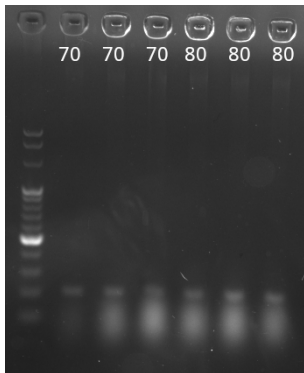
- 1 Transformacja *A.thaliana*
- 2 Analiza ekspresji AT5G45470 oraz AT5G45480
- 3 Identyfikacja *Sporobolomyces ruberrimus*
- 4 Określenie lokalizacji komórkowej i tkankowej
- 5 Analiza mutantów

- 1 Klonowanie metodą Gateway
- 2 Hodowla *A.thaliana* Col-0, w celu izolacji RNA (z oraz bez *Sporobolomyces ruberrimus*)



Produkty reakcji PCR ze starterami specyficznymi do sekwencji AT5G45470 oraz AT5G45480 – powielone geny z dołączonymi sekwencjami attb

Gateway – BP



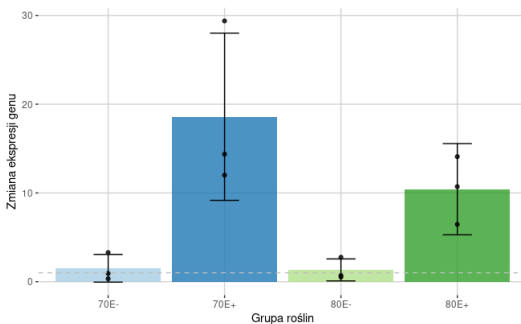
(a)



(b)

a) Produkty kolonijnego PCR po reakcji BP b) PCR potwierdzający obecność wstawki w plazmidzie po reakcji BP

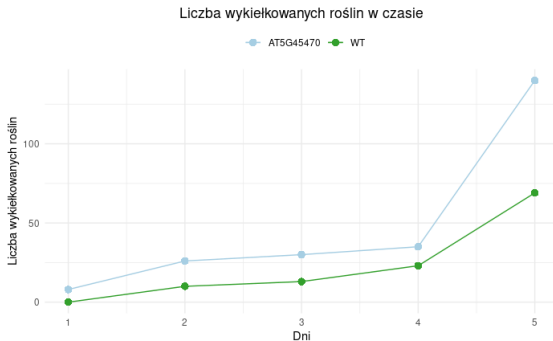
Analiza z wykorzystaniem BLAST wykazała, że sekwencją najbardziej komplementarną do sekwencjonowanej był fragment pochodzący z organizmu *Sporobolomyces ruberrimus*. Podobieństwo to wynosiło 99.9%, Spośród ok. 1300 nukleotydów tylko 1 został nierozpoznany. To pozwala sądzić, że rośliny inokulowano grzybem *Sporobolomyces ruberrimus*.



Kiełkowanie roślin w czasie

Wykazano różnice istotnie statystyczne dla obydwu genów.

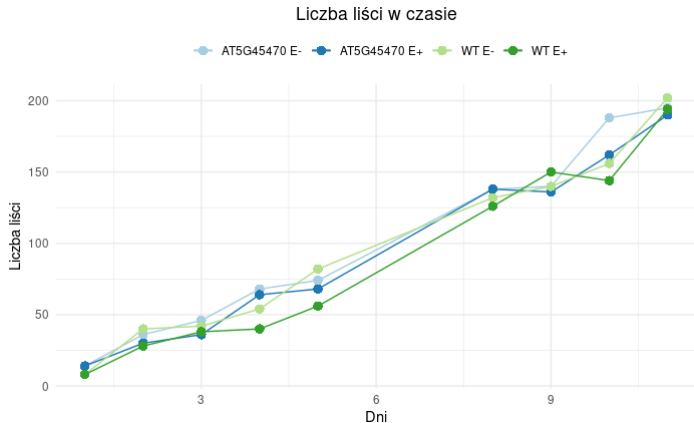
Hodowla wazonowa – AT5G45470



Kiełkowanie roślin w czasie

Wykazano brak różnic istotnych statystycznie, ale eksperyment zostanie powtórzony.

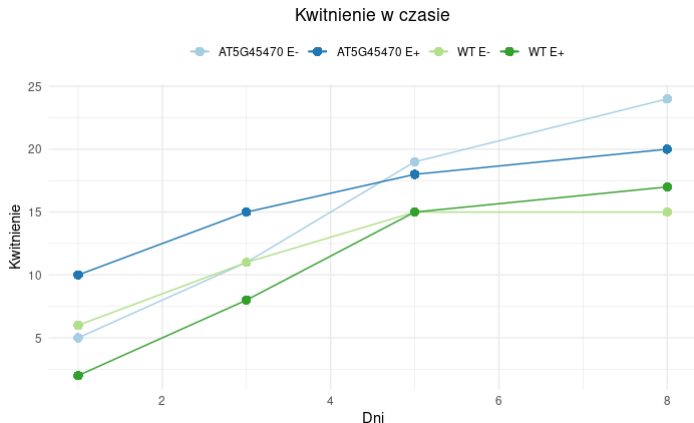
Hodowla wazonowa – AT5G45470



Ilość liści roślin w czasie

Wykazano brak różnic istotnych statystycznie (ANOVA).

Hodowla wazonowa – AT5G45470



Kwitnienie roślin w czasie

Wykazano różnicę istotną statystycznie między WT E+ i AT5G45470 E+ (ANOVA).

Dziękuję za uwagę!