

Funksionele karakterisering van 'n tentatief geannoteerde stachyose sintase van *Medicago truncatula*

Authors:

Melt Hugo¹, B Loedolff¹,
HC Janse van Rensburg²,
DT Guzha¹ en S Pieters¹

Affiliations:

¹ Instituut vir Plantbio-
tegnologie, Universiteit
Stellenbosch
² KU Leuven, België

Corresponding author:

Melt Hugo
melthugo@sun.ac.za
Instituut vir Plantbio-
tegnologie, Universiteit
Stellenbosch, Privaatsak X1,
Matieland 7602

How to cite this article:

Melt Hugo, B Loedolff,
HC Janse van Rensburg,
DT Guzha en S Pieters,
Funksionele karakteri-
sering van 'n tentatief
geannoteerde stachyose
sintase van *Medicago
truncatula*, *Suid-
Afrikaanse Tydskrif vir
Natuurwetenskap en
Tegnologie* 37(1) (2018)

Copyright:

© 2018. Authors.
Licensee: Die Suid-
Afrikaanse Akademie vir
Wetenskap en Kuns. This
work is licensed under
the Creative Commons
Attribution License.

Functional identification of a putative stachyose synthase from *Medicago truncatula*: This study lead to the over-expression and functional characterization of a putatively annotated stachyose synthase (StaS) from *M. truncatula* in the *Arabidopsis atrs4* mutant (stachyose synthase deficient). The use of this mutant served as a heterologous expression platform to demonstrate the function of *MtSS*.

Raffinose Familie Oligosakkariede (RFO's; Suc-Galn, $13 < n \leq 1$) is α -1,6-galaktosielverlengings van sukrose wat slegs in die plantkoninkryk en in 'n seleksie van foto-outotrofiese bakterieë voorkom. Hierdie unieke suikers vervul kritiese rolle in plante en dien as storingsmolekule in die sinkweefsel, floëem translokasiemolekules, en as teikenmolekule om abiotiese en biotiese spanning teen te veg. Die RFO-biosintetiese roete is goed gekarakteriseer en RFO's word geproduseer vanaf sukrose deur die opeenvolgende byvoeging van galaktosielmolekules deur α -1,6-galaktosieltransferases naamlik galaktinol sintase (GolS, EC 2.4.1.123), raffinose sintase (RafS, EC 2.4.1.82) en stachyose sintase (StaS, EC 2.4.1.67). Vergelykings tussen die aminosuurvolgordes van funksionele RafS- en StaS-proteïene toon ooreenstemming behalwe vir 'n bewaarde gebied tussen posisie 330 en 410 wat afwesig is van RafS-proteïene. Die gebied is teenwoordig in die vermeende proteïenvolgorde van die StaS van *Medicago truncatula*, Medtr7g106910.1 (aangewese MtStaS). Stachyose sintase (StaS) word vermoed om tetrasakariëde stachyose (Sta) te produseer deur die oordrag van 'n galaktosielmolekule vanaf galaktinol na raffinose (Raf) te kataliseer. Om die funksionele rol van die suikers in peulplante verder te ondersoek was stachyose sintase (StaS) vanaf die kDNS van *M. truncatula* geïdentifiseer en gekloneer. Om *MtStaS* ten volle funksioneel te karakteriseer was die volgende eksperimente uitgevoer. Ons het (i) die kandidaat *MtStaS*-geen deur rudimentêre bio-informatiese analise geïdentifiseer. Die hoeveelheid *MtStaS*-geenuitdrukking in verskeie *M. truncatula* organe is ook bepaal, wat aangedui het dat *MtStaS*-geenuitdrukking weefsel spesifiek is. Daarna is (ii) *MtStaS* gekloneer in *pMDC32* (dubbele CaMV35s-promotor) en die konstruk getransformeer in *Arabidopsis thaliana atrs4* (geen waarneembare Sta) en *atrs4.atrs5* (geen waarneembare Raf en Sta) om sodoende te bepaal of RFO-metabolisme herstel kon word. Ons het bevestig dat *atrs4*-mutante wat deur *MtStaS* gekomplimenteer is wel Sta in sade kan produseer. Laastens is (iii) *MtStaS* ook uitgedruk en gekarakteriseer in *Yarrowia lipolytica*. Ons het bevestig dat *MtStaS* 'n *bona fide* StaS is wat slegs Sta produseer en nie bifunksionaliteit toon soos die StaS van *Arabidopsis thaliana* (*AtStaS*) nie.

Nota: 'n Seleksie van referaatopsommings: Studentesimposium in die Natuurwetenskappe, 2–3 November 2017, Universiteit van Pretoria, Suid-Afrika. Reëlingskomitee: Prof Rudi Pretorius (Departement Geografie, Universiteit van Suid-Afrika); Dr Hertzog Bisset (Suid-Afrikaanse Kernenergie-korporasie – Necsa); Prof Marilé Landman (Departement Chemie, Universiteit van Pretoria).