

ปลูกถั่วลิสงในกระถางและดูแลรักษาไว้ในตู้เพาะปลูก ที่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อม หลังจากต้นกล้างอกได้ 30 วัน แบ่งถั่วลิสงออกเป็นสองกลุ่ม ในกลุ่มแรกถั่วลิสงได้รับน้ำพอเพียง ส่วนกลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่งดให้น้ำเป็นเวลา 5 และ 6 วัน ในช่วงเก็บตัวอย่างพืชมีการบันทึกความชื้นของดิน ในกระถางปลูก บันทึกค่า relative water content (RWC) ในใบและ leaf water potential (LWP) เก็บตัวอย่างใบที่คลี่ขยายเต็มที่ใบแรกบนลำต้นหลักเพื่อสกัดและแยกโปรตีนโดยวิธี two-dimensional gel electrophoresis (2-DE) วิเคราะห์ภาพแผ่นเจลเพื่อหาโปรตีนที่ควบคุมโดยสภาวะการขาดน้ำโดยใช้โปรแกรม ImageMaster 7 เจาะโปรตีนในแผ่นเจลและนำไปวิเคราะห์หา peptide mass fingerprints และใช้ค้นหาเพื่อระบุชนิดของโปรตีนโดยใช้โปรแกรม Aldente stand-alone version ที่ติดตั้งฐานข้อมูล Swiss-Prot, NCBI nr และ TrEMBL

การงดให้น้ำแก่ถั่วลิสงเป็นเวลา 5 และ 6 วัน ทำให้ค่าความชื้นของดินในกระถางปลูก RWC และ LWP ลดลงอย่างมากชี้ให้เห็นว่าถั่วลิสงอยู่ภายใต้สภาวะความเครียดจากการขาดน้ำ การแยกโปรตีนโดย 2-DE ทำให้ได้โปรตีนจำนวนหลายร้อยจุดและแผนที่ของโปรตีนในแต่ละแผ่นเจลมีความคล้ายคลึงกันมาก การวิเคราะห์ภาพจากแผ่นเจลทำให้ได้โปรตีน 13 ชนิดที่ควบคุมโดยสภาวะการขาดน้ำจากการงดให้น้ำ 5 วัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่เพิ่มปริมาณทั้งหมด การงดให้น้ำแก่พืชเป็นเวลา 6 วัน จำนวนโปรตีนที่มีปริมาณลดลงมี 36 ชนิด และจำนวนโปรตีนที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นมี 10 ชนิด อย่างไรก็ตาม ระบุโปรตีนได้เพียง 2 ชนิดและเป็นโปรตีนที่ไม่พบในพืช โปรตีนชนิดแรกคือ transcriptional regulator, MarR family พบในแบคทีเรีย และอีกชนิดหนึ่งคือ hypothetical protein MGG_04860 พบในรา

Peanut plants were grown in pots and kept in growth chamber under controlled environments. After 30 days of seedling emergence, peanut plants were divided into 2 groups; one with adequate water supply and the other was subject to withholding water supply for 5 to 6 days. Soil moisture content and plant water status, relative water content (RWC) and leaf water potential (LWP) were determined. Proteins were extracted from fully expanded leaves and separated using two-dimensional gel electrophoresis (2-DE). Proteins were visualized using silver nitrate staining. Analysis of gels was performed using ImageMaster 7 software. Proteins displayed significant changes were excised from the gels and analyzed using MALDI TOF MS. Peptide mass fingerprints were used to search for protein identities using Aldente stand-alone version installed with Swiss-Prot, NCBI nr and TrEMBL databases.

Withholding water for 5 and 6 days resulted in a remarkable decrease in soil moisture content, RWC and LWP indicating that peanut plants were under water stress condition. 2-DE resolved hundreds of proteins and all 2-DE maps were very similar. Image analysis of the gels resulted in 13 up-regulated proteins by withholding water supply for 5 days. There were 36 down-regulated proteins and 10 up-regulated proteins when water supply was withheld for 6 days. However, there were only two proteins identified and they were non-plant proteins. The first protein was a transcriptional regulator, MarR family, found in a bacterium. The second protein was hypothetical protein MGG_04860 found in one fungus species.