



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The role of the Arabidopsis AHL15/REJUVENATOR gene in developmental phase transitions

Karami, O.; Karami O.

Citation

Karami, O. (2017, September 5). *The role of the Arabidopsis AHL15/REJUVENATOR gene in developmental phase transitions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/54683>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/54683>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/54683> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Karami, Omid

Title: The role of the Arabidopsis AHL15/REJUVENATOR gene in developmental phase transitions

Issue Date: 2017-09-05

Samenvatting

Net andere multi-cellulaire organismen ondergaan planten gedurende hun leven verschillende fasen in hun ontwikkeling, beginnend met embryogenese, gevolgd door de juveniel vegetatieve- en de volwassen vegetatieve fase, en eindigend met de volwassen reproductieve- en uiteindelijk de gametofytfase. Recente genetische en moleculaire biologische studies hebben aangetoond dat de correcte timing van de overgang van de ene naar de andere fase in plantontwikkeling gereguleerd wordt door veranderingen in genexpressie in reactie op diverse omgevingsfactoren, die meerdere signaaltransductieroutes aanzetten. Ondanks dat deze faseovergangen in ontwikkeling bij alle bloeiende planten te vinden zijn, kunnen plantensoorten wat levensduur betreft enorm van elkaar verschillen, variërend van een paar weken voor een aantal eenjarige soorten, tot enkele duizenden jaren voor sommige meerjarige soorten, zoals de sequoia bomen. De grote verschillen in levensduur zijn gekoppeld aan twee tegengestelde groeistrategieën in bloeiende planten. Veel soorten zijn monocarp, zij bloeien eenmalig en eindigen hun levenscyclus met de vorming van nakomeling, zelfs onder optimale groeicondities. Polycarpe planten daarentegen bloeien meerdere keren tijdens hun levensloop, en produceren daardoor meerdere keren nakomelingen. De moleculaire basis van deze twee groeistrategieën in bloeiende planten is nog grotendeels onbekend.

De faseovergangen in de ontwikkeling gaan gepaard met het grootschalig remodelleren van de chromatinestructuur. In planten zijn verschillende kandidaat chromatine-remodellerende eiwitten gevonden die een belangrijke rol spelen bij het reguleren van ontwikkelingsprocessen, waaronder de AT-HOOK MOTIF CONTAINING NUCLEAR LOCALIZED (AHL) eiwitten. Het *Arabidopsis* genoom codeert voor 29 leden van de AHL eiwitfamilie. Deze eiwitten bevatten één of twee geconserveerde AT-Hook motieven en een PPC (Plant and Prokaryote Conserved) domein. Ze zijn zeer waarschijnlijk betrokken bij het remodelleren van de chromatinestructuur. Moleculair genetische studies in *Arabidopsis* hebben aangetoond dat AHL eiwitten betrokken zijn bij meerdere aspecten van plantengroei en -ontwikkeling, waaronder bloeitijd, bloemontwikkeling, hypocotylgroei en differentiatie van vasculaire weefsels. Het hoofddoel van dit promotieonderzoek was om de biologische functie van het *AHL15* gen en zijn homologen te begrijpen, met een focus op de nog niet geïdentificeerde rol in embryogenese en veroudering bij planten.

Hoofdstuk 1 beschrijft de huidige kennis over de moleculaire mechanismen die de faseovergangen in de ontwikkeling van planten reguleren, en de onderliggende verschillen tussen de mono- en polycarpe groeistrategie, met de nadruk op de interactie tussen cellulaire en omgevingsfactoren die de overgangen in de ontwikkeling van planten en hun levensloop bepalen. In planten vindt embryogenese gewoonlijk plaats wanneer haploïde gameten versmelten om een diploïde zygote te vormen. Somatische plantencellen kunnen echter opnieuw geprogrammeerd worden tot totipotente embryonale stamcellen, die gedifferentieerde embryo's kunnen vormen via een proces dat somatische embryogenese (SE) wordt genoemd. **Hoofdstuk 1** bespreekt ook de betrokkenheid van plantenhormonen en een aantal belangrijke transcriptiefactoren bij de initiatie van SE onder *in vitro* omstandigheden.

Hoofdstuk 2 richt zich op de rol van *AHL15* en de homologen *AHL19* en *AHL20* in SE en zygotische embryogenese (ZE). In *Arabidopsis* kan SE worden geïnduceerd door het extern

toedienen van het synthetische auxine-analoog 2,4-dichloorfenoxyzijnzuur (2,4-D), of door overexpressie van bepaalde transcriptiefactorgenen, zoals *BABY BOOM* (BBM). In dit hoofdstuk laten we zien dat ook overexpressie van *AHL15* SE op *Arabidopsis* zaailingen kan induceren in afwezigheid van 2,4-D. Daarentegen vertonen *ahl15*-verlies-van-functie-mutanten verminderde SE-inductie in reactie op 2,4-D-behandeling of bij overexpressie van de SE-inducerende *BABY BOOM* (BBM) transcriptiefactor. Ook laten we zien dat het *AHL15* gen wordt gebonden door en dat de transcriptie wordt op gereguleerd door BBM tijdens SE. Tijdens ZE komt *AHL15* tot expressie in het vroeg globulaire embryo, waar het nodig is voor een goede patroonvorming en de ontwikkeling naar het hartstadium. Morfologische en cellulaire analyses tonen aan dat een significant aantal planten afkomstig van 35S :: *AHL15* SEs polyploïde zijn. Chromatinekleuring met fluorescerende reporters suggereert dat *AHL15* overexpressie chromatine-decondensatie induceert, wat vervolgens kan leiden tot chromosoommisegregatie en dus tot het ontstaan van polyploïde cellen. Centromeer-specifieke markers laten zien dat polyploïdisatie zeer waarschijnlijk veroorzaakt wordt door endomitotische gebeurtenissen die zich specifiek voordoen tijdens de initiatie van SE. Onze bevindingen wijzen erop dat *AHL15* een belangrijke regulator is van de totipotentie van plantencellen, en op basis van onze resultaten stellen we voor dat het openen van de chromatinstructuur nodig is voor het verkrijgen van embryonale competentie in somatische plantencellen.

In bloeiende planten wordt veroudering bepaald door een reeks overgangen in ontwikkelingsfasen, beginnend met vegetatieve groei, gevolgd door bloei en eindigend in zaadproductie. In monocarpe planten wordt zaadproductie gevolgd door het afsterven van weefsels, uiteindelijk leidend tot de dood van de plant. Daarentegen zijn polycarpe planten in staat hun levensduur te verlengen door een aantal vegetatieve axillaire meristemen te handhaven, die een volgende cyclus van vegetatieve- en reproductieve ontwikkeling mogelijk maken. **Hoofdstuk 3** beschrijft de rol van *AHL15* en zijn directe homologen, *AHL19* en *AHL20*, in de vegetatieve fase verandering en levensloopstrategie van planten. We laten zien dat het *AHL15* gen de overgangen van de ene naar de andere ontwikkelingsfase onderdrukt, en dat overexpressie van het gen deze overgangen zelfs kan omkeren. Op basis hiervan is het *AHL15* gen omgedoopt tot *REJUVENATOR* (*RJV*). Verlies van functie van *RJV* resulteert in *Arabidopsis* in het vroeg verschijnen van volwassen vegetatieve eigenschappen en vroege bloei, terwijl *RJV* overexpressie de juveniele fase verlengt en de bloei vertraagt in *Arabidopsis* en tabak. We tonen ook aan dat *RJV* de veroudering van axillaire meristemen onderdrukt, wat gevolgen heeft voor de architectuur en levensduur van planten. Expressie van een dominant-negatieve *RJV-GUS* genfusie zorgt voor versnelde rijping van axillaire meristemen, terwijl constitutieve overexpressie van *RJV* leidt tot het behoud van de juveniele eigenschappen van axillair meristemen tijdens bloei, en ook de monocarpe planten *Arabidopsis*- en tabak kan veranderen in polycarpe planten met verhoogde zaad- en biomassa productie. Onze resultaten laten zien dat *RJV* als een centrale moleculaire schakelaar tussen de monocarpe en polycarpe levensloopstrategie werkt, gecontroleerd door verouderings- (*miR156*, *SPL*) en bloei- (*SOC1*, *FUL*) genen.

In de **hoofdstukken 2 en 3** hebben we beschreven dat overexpressie van het *Arabidopsis* kerneiwit *AHL15* leidt tot herprogrammering van somatische cellen naar embryonale cellen, en dat het de veroudering in planten onderdrukt. In **hoofdstuk 4** laten we zien dat korte (4

uur) activatie van een tot overexpressie gebracht RJV-GR fusie-eiwit in *Arabidopsis*-zaailingen lange termijn effecten heeft op de ontwikkeling van planten. Met behulp van RNA sequencing analyse kan al 4 uur na RJV-GR activering een uitgebreide herprogrammering van het transcriptoom worden aangetoond, waarbij respectievelijk 540 en 1107 genen meer dan tweemaal verhoogd en verlaagd tot expressie komen. RJV lijkt op een transcriptieafhankelijke manier te werken, waarbij overwegend laag tot expressie komende genen geactiveerd, en hoog tot expressie komende genen onderdrukt worden. Na RJV-GR activering wordt snelle decondensatie van heterochromatine waargenomen in bladprimordia en axillaire meristemen, wat aangeeft dat de globale herprogrammering van het transcriptoom door tijdelijke activatie van dit AT-Hook eiwit ten minste gedeeltelijk wordt veroorzaakt door uitgebreide modulatie van de chromatine structuur. Genen die gezamenlijk geactiveerd of onderdrukt worden, blijken vaak fysiek gekoppeld in kleine chromosomale clusters te liggen, wat overeenkomt met de regulering op chromatineniveau. Meer gedetailleerde analyse van de onderdrukte genen toont aan dat RJV verschillende verouderingsprocessen onderdrukt, waaronder de *SQUAMOSA-PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (SPL) en gibberelline biosynthese genen, en de fotosynthese-afhankelijke productie van suikers. Onze bevindingen bieden nieuwe inzichten in het begrijpen van de regulering van veroudering in planten, maar verder onderzoek is nodig om de relevantie van deze bevinding te testen.

