



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Characterisation of transcriptional and chromatin events in relation to floral transition and identification of nuclear organisation determinants

del Prete, Stefania

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

del Prete, S. (2017). Characterisation of transcriptional and chromatin events in relation to floral transition and identification of nuclear organisation determinants.

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <http://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

De transitie naar een bloeiende plant is de overgang van een vegetatieve naar een reproductieve ontwikkeling. Het is één van de belangrijkste fase overgangen in de productie van nakomelingen. De aanzet tot bloei wordt bepaald door een nauwkeurige afstemming van endogene en omgevingsignalen. De ‘lichtperiode’, de lengte van het dag- en nachtritme, is één van de belangrijkste factoren in de regulatie van de aanzet tot bloei. Zonlicht wordt waargenomen door de bladeren, waarbij sleutelgenen tot expressie komen, zoals CO en FT, die betrokken zijn bij de bloei-inductie. Verschillende florigen signalen komen aldus tezamen in het apicale scheutmeristeem en initiëren de overgang naar de bloeifase. De verschillende moleculaire mechanismen, die deze transitie begeleiden vormen een complex netwerk van bloeigenen. Voorgaande studies waren hoofdzakelijk gefocust op meristemen en wortel weefsel. Informatie over de gebeurtenissen in de bladeren ontbreken echter. In deze studie stellen wij ons ten doel om de vroege morfologische, moleculaire en transcriptie processen in het blad te karakteriseren met betrekking tot de bloei transitie. Daarbij wordt gebruik gemaakt van een geïnduceerde overgang van korte (SD) naar lange (LD) dag belichting om de aanzet tot bloei te synchroniseren. Het venster, waarbinnen de bloei transitie plaatsvindt, is gedefinieerd door de expressie van drie sleutelgenen voor bloei: CO, FT en AP. CO en FT geven een expressie piek op 3 dagen na de overgang naar LD, terwijl AP wordt gedetecteerd op 5 dagen en wijst op beëindiging van de bloei transitie.

Bij het tot stand komen van dit bloei-transitie venster bleek dat hoe langer de planten in SD groeiden, des te sneller ze tot bloei kwamen in LD. Dit suggereert dat de initiatie tot bloei gerelateerd is met de leeftijd van de plant. Tijdens de switch van SD naar LD werd een hoge mate van endoreduplicatie activiteit waargenomen, zonder verandering in groei van het 3^e en 4^e rozetblad. Om die reden beschouwen we dit materiaal geschikt om de vroege transcriptie gebeurtenissen te bestuderen, die geassocieerd zijn met de bloei transitie, onafhankelijk van andere ontwikkelingsprocessen in het blad.

RNA-Seq is toegepast om de samenstelling en dynamiek van het netwerk van genen in het blad te ontrafelen en om de belangrijkste processen op te helderen. We troffen een duidelijke reprogrammering aan van genexpressie met name in

fotosynthese activiteit, eiwit metabolisme en DNA replicatie. Daarnaast vonden we deregulatie van chromatine-gerelateerde genen. Dit alles wijst op een dynamische samenstelling van chromatine, die de bloei transitie tot stand brengt. Een vergelijkende analyse met transcriptoom data van scheut en wortel tijdens de bloei transitie was uitgevoerd voor het netwerk van bloeigenen. Dit gaf beter inzicht in de algemene en de specifieke aspecten van het bloei transitie proces in de verschillende organen.

Controle van gen expressie tijdens de ontwikkeling van de plant vindt ook plaats op het niveau van chromatine organisatie. Hier zijn met name Polycomb Repressive Complexes (PRCs) bij betrokken. In deze studie focuseren we op de functie van LHP1, een onderdeel van PRC. We bestuderen het effect van LHP1 dosering op chromatine en transcriptie. Transgene lijnen zijn gemaakt waarbij LHP1 aanmaak geïnduceerd kan worden onder bepaalde condities. Een korte modulatie van LHP1 dosis verandert het LHP1 bindingspatroon op target genen. Hoge LHP1 niveaus induceren toename van H3K27me3, maar ook van H3K4me3. Dit suggereert dat LHP1 een rol speelt in de vorming van bivalente regio's. Ondanks deze chromatine modificaties zijn slechts tijdelijke veranderingen waargenomen in de transcriptie van LHP1 target genen.

Het 3D landschap van de kern heeft ook een invloed op overgangen in de ontwikkeling van de plant. Het mechanisme achter de wijzigingen van de kern architectuur is vooralsnog onduidelijk. Om meer inzicht te krijgen in deze processen hebben we met behulp van nieuwe statistische methoden voor 3D analyse de organisatie van de kern geanalyseerd in planten met defecte genen voor kernmembraan eiwitten. De kwantitatieve analyse onthulde a prominente rol voor CRWN en KAKU eiwitten in de 3-dimensionale organisatie van chromocenters en in de algemene kernmorfologie.

Samenvattend, dit proefschrift geeft ons meer inzicht in het netwerk van bloeigenen en de moleculaire gebeurtenissen in de rozet bladeren bij de overgang naar bloei. Met name het gebruik van induceerbare LHP1 constructen toont aan dat de regulatie van target genen door LHP1 complexer is dan voorheen gedacht. Op nucleair niveau hebben we de rol van genetische determinanten geïdentificeerd in de ruimtelijke organisatie van heterochromatine en de morfologie van de kern.