

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

Ramon de Koning

ter behaling van de graad van Doctor in de Bio-ingenieurswetenschappen

Titel van het proefschrift:

Unravelling the raffinose family oligosaccharides metabolic pathway in common bean: From gene discovery to gene editing for improved nutrition

Promotor:
Prof. Dr. ir. Geert Angenon (VUB)

De verdediging heeft plaats op
Donderdag 5 oktober 2023 om 17u in aula
I.2.0.1

De verdediging kan ook online gevolgd worden,
gelieve contact op te nemen met:
Ramon.de.Koning@vub.be

Samenstelling van de jury

Prof. Dr. Joske Ruytinx (VUB, voorzitter)
Prof. Dr. ir. Frédéric Leroy (VUB, secretaris)
Prof. Dr. Stefan Weckx (VUB)
Prof. Dr. Harry Olde Venterink (VUB)
Dr. Francesca Sparvoli (Institute of Agricultural
Biology and Biotechnology)
Dr. Laurens Pauwels (UGent)

Curriculum vitae

Ramon de Koning behaalde de graad van Master of Science in de Bio-ingenieurswetenschappen: Cel- en Genbiotechnologie aan de Vrije Universiteit Brussel in 2016. Na zijn afstuderen begon hij als PhD-onderzoeker en onderwijsassistent in de onderzoeksgroep Plantengenetica.

Ramon's onderzoek resulteerde in vijf peer-reviewed tijdschriftartikelen. Verder is hij actief geweest op het gebied van wetenschapscommunicatie en was hij 4 jaar bestuurslid van het GeneSprout initiative. Tijdens zijn promotietraject begeleidde hij zes masterthesistudenten en gaf hij acht verschillende practica voor bachelor- en masterstudenten.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

Zaden van *Phaseolus vulgaris* zijn van vitaal belang voor menselijke voeding wegens hun hoog gehalte aan eiwitten, koolhydraten, vitaminen, mineralen en voedingsvezels. Ze bevatten echter ook antinutritionele factoren, zoals oligosacchariden van de raffinose familie (RFO's), die onverteerbaar zijn voor mensen en éénmagige dieren, wat leidt tot winderigheid en spijsverteringsstoornissen na consumptie. De belangrijkste doelstellingen van deze studie waren het in kaart brengen van de RFO-metabole route in *P. vulgaris* en vervolgens het ontwikkelen van een strategie om het RFO-gehalte in zaden te verminderen waardoor de voedingskwaliteit kan verbeterd worden, maar zonder een negatieve invloed te hebben op het normaal functioneren van de plant.

Een uitgebreide analyse van de annotatie, genetische structuur en expressiepatronen van alle galactinol- en RFO-biosynthesegenen in *P. vulgaris* werd uitgevoerd. Door heranalyse van publiek beschikbare RNA-seq gegevens werden twee expressie-atlassen gemaakt, die weefsel-specifieke expressiepatronen van deze genen onthulden. Deze informatie maakte de identificatie mogelijk van belangrijke galactinol en RFO biosynthetische genen die betrokken zijn bij de RFO accumulatie in zaden en zorgde voor een beter begrip van de RFO metabole route. De rol van galactinol en RFO's tijdens droogte- en zoutstress werd ook onderzocht door de differentiële genexpressie te bestuderen en het galactinol- en RFO-gehalte te meten tijdens abiotische stress in *P. vulgaris*. De bevindingen wijzen erop dat zowel galactinol als raffinose bijdragen tot de bescherming van de plant tegen abiotische stress, waarbij de isovorm *galactinol synthase 3* een specifieke rol speelt in de reactie op droogtestress.

Om het RFO-gehalte in *P. vulgaris* te verlagen werd de CRISPR/Cas9-genbewerkingstechnologie gebruikt. Gezien de tijdrovende aard van stabiele transformatie van *P. vulgaris*, werd een 'hairy root' transformatiesysteem ontwikkeld om snel de efficiëntie van een aantal sgRNA's te evalueren en de invloed van verschillende promotors die Cas9 expressie aansturen te beoordelen. De studie vergeleek *in silico* voorspelde mutatie efficiënties en resulterende mutaties van sgRNA's met *in planta*-gegevens, en vond twee computationele modellen (Lindel en inDelphi) die relatief betrouwbaar zijn voor het voorspellen van sgRNA-efficiëntie en geïnduceerde mutatietypes. Na identificatie van de optimale sgRNA- en promotorcombinaties werden stabiele transformatie- en regeneratieprotocollen voor *P. vulgaris* geoptimaliseerd, waarbij de callus productie aanzienlijk werd verbeterd en een transformatie-efficiëntie van 67% werd bereikt. Deze methode kan in toekomstig onderzoek worden toegepast om *P. vulgaris* planten te genereren met een verminderde RFO hoeveelheid in het zaad.