

De Onderzoeksgroep

Plantengenetica

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

**Raphaël Kiekens**

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

Titel van het proefschrift:

**Molecular analysis of the dihydrodipicolinate synthase gene family of leguminous plants**

Promotor:

**Prof. dr. ir. Geert Angenon**

De verdediging heeft plaats op

**Donderdag 15 juni 2023 om 17u in D2.01**

**Samenstelling van de jury**

Prof. dr. Wim Vranken (VUB, voorzitter)

Prof. dr. ir. Eveline Peeters (VUB, secretaris)

Prof. dr. Joske Ruytinx (VUB)

Prof. dr. Jean-Pierre Hernalsteens (VUB)

Prof. dr. Sofie Goormachtig (UGent)

Prof. dr. Elizabeth Kairuz Hernández-Díaz

(Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas, Cuba)

### Curriculum vitae

Raphaël behaalde het masterdiploma scheikundig ingenieur (HOGENT, 2002) en moleculaire biotechnologie (UGent, 2003). Daarna was hij tussen 2004 en 2009 onderzoeker bij de vakgroep Plantenbiotechnologie en Bio-informatica aan het VIB (UGent). Vervolgens was hij tussen 2009 en 2014 docent bio-informatica en statistiek aan Howest. In 2015 startte hij zijn doctoraat als assistent voor prof. Dr. ir. Geert Angenon in het Laboratorium Plantengenetica van de VUB. Zijn belangrijkste resultaten zijn gepubliceerd in één onderzoeksartikel en heeft daarnaast een belangrijke bijdrage geleverd aan drie andere gepubliceerde onderzoeksartikelen voor het Laboratorium Plantengenetica. Tussen 2019 en 2021 was hij ook lid van de Academische Raad en Onderzoeksraad van de VUB. Momenteel is hij informatiemanager bij het CaLi Business center (BUCE) van de VUB.

### Abstract van het doctoraatsonderzoek

DHDPS is een sleutelenzyme in de van aspartaat-afgeleide lysinebiosyntheseroute in planten en wordt negatief gereguleerd door lysine zelf. In recent onderzoek aan het Laboratorium Plantengenetica van de VUB werden DHDPS-isovormen met nieuwe regulatorische eigenschappen aangetoond in de modelpeulvrucht *Medicago truncatula* en er zijn aanwijzingen dat ze betrokken zijn bij abiotische en biotische stressreacties. Op basis van de bevindingen in *M. truncatula* was het hoofddoel van dit werk om verder te onderzoeken in welke mate de DHDPS-isozyemen met potentieel nieuwe moleculaire eigenschappen aanwezig zijn in peulvruchten en hoe we deze kennis kunnen benutten, inclusief voor nieuwe biofortificatiestrategieën. Om dit te bereiken werd het onderzoek in drie fasen onderverdeeld. De eerste was een uitgebreide *in silico* analyse met een fylogenetische - en promotoranalyse in respectievelijk landplanten en peulvruchten (Fabaceae), voorafgaand aan een uitgebreide RNA-seq expressie analyse in *Lotus japonicus*, *M. truncatula* en *Glycine max*. Ten tweede onderzochten we de natuurlijk voorkomende genetische variatie van de DHDPS-genen in de modelpeulvrucht *M. truncatula*, naast een DHDPS-kandidaatgen-associatieanalyse met wortelgroei onder normale - of zoutstress omstandigheden en de DHDPS activiteit of gevoeligheid voor Lys-feedbackinhibitie als onze fenotypes van interesse. Het derde deel van het onderzoek betrof een mutatieanalyse van specifieke DHDPS-isozyemen, waarbij het effect van de verandering van één enkel aminozuur op de activiteit en gevoeligheid voor Lys-feedbackinhibitie van de gezuiverde eiwitten *in vitro* wordt gemeten. De *in silico*-analyse stelde het bestaan vast van een peulvrucht specifieke klasse van DHDPS, hierbij aangeduid als het DHDPS B-type, te onderscheiden van het DHDPS A-type dat algemeen aanwezig is in alle landplanten. Bovendien leveren we sterk bewijs dat de *DHDPS* genfamilie gekoppeld is aan specifieke abiotische - en biotische stressreacties in de plant. Een interessante bevinding is de opwaartse regulatie in genexpressie van een subgroep van DHDPS –B-type genen die specifiek zijn voor interactie van de wortel met *Glomus intraradices*, een symbiotische arbusculaire mycorrhiza-schimmel. De mutatie-analyse finaal toonde aan dat een mutatie van het sterk geconserveerde His naar een Lys op positie 80 van het DHDPS eiwit (*Nicotiana sylvestris*-nummering) het gevoelige A-type DHDPS ongevoelig maakt voor inhibitie door Lys, maar vermindert hierdoor de totale activiteit van het eiwit. Deze mutatie heeft een groot potentieel voor gebruik bij het creëren van gewassen met een hoger gehalte aan vrije lysine. Samen dragen de resultaten zoals beschreven in deze thesis aanzienlijk bij tot de kennis van de genetica en moleculaire eigenschappen van de *DHDPS* genfamilie in peulvruchten en planten algemeen.