

Het tentamen bestaat uit **6 vragen**. Per vraag kunnen **10 punten** verdiend worden.

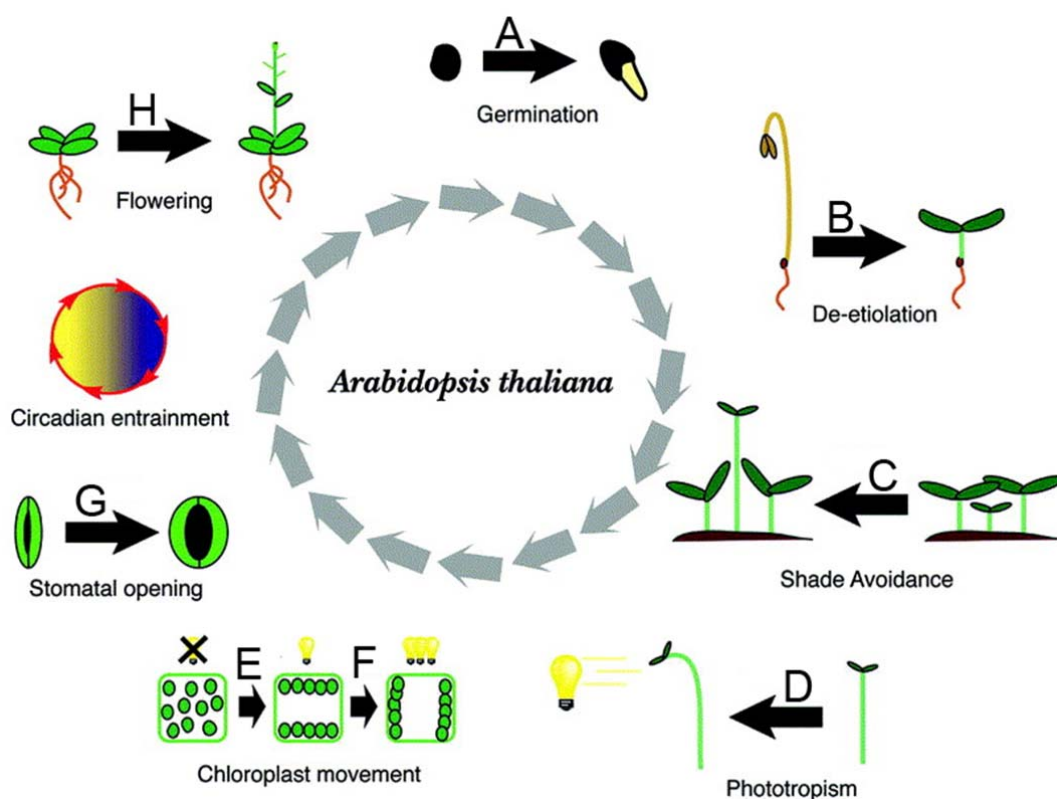
De duur van het tentamen is **2 uur**.

Probeer de antwoorden kort en bondig te houden en schrijf duidelijk!

Vergeet niet op elk antwoordformulier je naam en studentnummer te vermelden!

Veel succes!

1. Gedurende de gehele levenscyclus van een plant wordt de groei en ontwikkeling beïnvloed door licht. Hierbij spelen verschillende fotoreceptoren een belangrijke rol. In onderstaand figuur (naar Sullivan & Deng, 2003) is een aantal licht-gereguleerde ontwikkelingsprocessen bij de modelplant *Arabidopsis thaliana* weergegeven.



- a) Hoe noemen we het proces waarbij de ontwikkeling van de plant gereguleerd wordt door licht (één woord)? (1 punt)

- b) Welke van de in bovenstaande figuur weergegeven processen (A-H) zijn rood licht-specifiek? (1 punt)
- c) Geef voor elke van de in bovenstaande figuur weergegeven processen (A-H) aan welke fotoreceptor of fotoreceptoren het betrokken proces reguleren. Wees specifiek, dus noem de specifieke fotoreceptor en niet alleen maar de fotoreceptorfamilie. Bij een proces kunnen meerdere fotoreceptoren betrokken zijn. Noem ze dan allemaal! (8 punten)

2. *Planten zijn erg gevoelig voor veranderingen in hun omgevingstemperatuur. Arabidopsis zaailingen reageren op een temperatuurstijging (22°C → 27°C) door een sterk toegenomen strekking van hypocotyl en bladsteel. Deze strekkingsrespons wordt gemedieerd via een toename in auxineniveaus. De basic helix-loop-helix transcriptie factor PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 4 (PIF4) is hiervoor verantwoordelijk. Bij een verhoogde temperatuur wordt er meer PIF4 aangemaakt én onder deze condities heeft PIF4 beter toegang tot de promotors van zijn targetgenen. Eén van de PIF4 targets is het auxine-biosynthesegen TAA1.*

- a) De beschreven temperatuurrespons lijkt qua fenotype en betrokken signaaltransductie componenten erg op een andere omgevingsrespons van planten. Welke? (1 punt)
- b) Het PIF4 eiwit heeft bij hogere omgevingstemperaturen beter toegang tot de promotors van zijn targetgenen. Hoe kan dit worden bewerkstelligd? (1 punt)
- c) Een verhoogde omgevingstemperatuur resulteert ook in een toename van de gibberelline-niveaus in Arabidopsis. Dit versterkt de in de vraag beschreven temperatuurrespons. Geef hiervoor een verklaring? (3 punten)
- d) Is bij onderdeel c) sprake van primaire, secundaire of tertiaire kruisregulatie. Leg uit. (2 punten)
- e) Een verhoogde omgevingstemperatuur heeft verder nog een positief effect op de auxine-gemedieerde protonefflux door plasmamembraan-gebonden H⁺-ATPases. Draagt dit nog op enige manier bij aan de temperatuurrespons in Arabidopsis zaailingen? Leg uit. (3 punten)

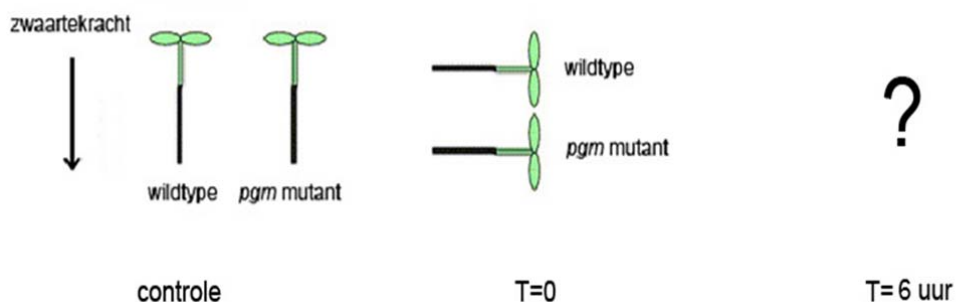
3. a) Apicale meristemen zijn enorm belangrijk zijn voor de plant, daarom is het van groot belang dat deze niet beschadigd raken. Hoe beschermt een plant zijn apicale meristemen tegen mogelijke beschadiging? Neem Arabidopsis als voorbeeld (2 punten)
- b) In 2000 verscheen in het blad Science een artikel met de titel “*Dependence of shoot stem cell fate in Arabidopsis on a feedback loop involving the transcription factor WUSCHEL*”. Welke componenten maken naast WUSCHEL (WUS) deel uit van de betreffende ‘feedback loop’ en hoe draagt deze ‘feedback loop’ bij aan het in stand houden van stamcelidentiteit in de scheutapex? (3 punten)
- c) In 1996 verscheen in het blad The Plant Journal een artikel met de titel “*The SHOOT MERISTEMLESS gene is required for maintenance of undifferentiated cells in Arabidopsis shoot and floral meristems and acts at a different regulatory level than the meristem gene WUSCHEL.*” Hoe draagt SHOOT MERISTEMLESS (STM) bij tot de aanleg en het in stand houden van het scheut apicale meristeem, en in hoeverre verschilt dat van de manier waarop WUS aan dit proces bijdraagt? (2 punten)
- d) Onderstaande foto is een foto van de *topless (tpl1)* mutant van Arabidopsis. *tpl* mutanten vormen een wortelmeristeem in plaats van een scheutmeristeem, zodat er zowel aan de apicale (a) als aan de basale (b) zijde van de zaailing een wortel groeit.



Het TOPLESS (TPL) gen is inmiddels gekloneerd en blijkt te coderen voor een transcriptioneel co-repressor eiwit dat, in afwezigheid van auxine, de expressie van auxinerespons-genen onderdrukt. Verklaar op basis van deze gegevens en je huidige kennis waarom een mutatie in het TPL gen tijdens de embryogenese resulteert in de aanleg van een wortelmeristeem in plaats van een scheutmeristeem. (3 punten)

4. Eén van de essentiële stappen in de biosynthese van zetmeel is de omzetting van glucose-6-P naar glucose-1-P in plastiden. Deze omzetting wordt gekatalyseerd door het enzym phosphoglucomutase (PGM). *Arabidopsis phosphoglucomutase (pgm)* mutanten zijn gestoord in de vorming van glucose-1-P en bevatten daardoor geen zetmeel. In de loop der jaren zijn *pgm* mutanten door verschillende onderzoeksgroepen bij uiteenlopende mutant screenings opgepikt. Geïdentificeerde, mutante fenotypes zijn ondermeer een sterk verstoorde gravitropische respons en het niet volledig openen van huidmondjes in blauw licht.

- a) Hoe noemt men de cellen die een organisme gebruikt om een verandering in de richting van de zwaartekrachtvector waar te nemen? en Waar bevinden dit type cellen zich in *Arabidopsis* planten? (2 punten)
- b) Geef met behulp van een tekening aan hoe de wildtype *Arabidopsis* zaailing en de *pgm* mutant uit onderstaand figuur er op tijdstip T=6 uur uit zullen zien nadat ze op T=0 een kwart slag gedraaid zijn ten opzichte van hun eerdere groeirichting (controle). Leg ook uit waarom je dit verwacht. (3 punten)



- c) De planten uit **b)** bevatten ook een DR5::GUS reporter. Op T=6 uur wordt een GUS-kleuring uitgevoerd op het wildtype en de *pgm* mutant. Geef in je antwoord van **a)** aan waar je GUS-kleuring verwacht en waarom? (2 punten)

Uitgebreid morfologisch onderzoek aan de bladeren van pgm mutanten laat zien dat, wat betreft structuur, grootte en dichtheid van de huidmondjes, pgm mutanten niet afwijken van wildtype controle planten. Desondanks staan de huidmondjes van pgm mutanten minder ver open dan die van wildtype planten wanneer de planten zijn

blootgesteld aan verzadigend rood licht aangevuld met blauw licht. Onder alleen verzadigend rood licht is er geen verschil tussen beide genotypes.

d) Hoe kun je het afwijkende huidmondjes-fenotype van *pgm* mutanten die zijn blootgesteld aan verzadigend rood licht aangevuld met blauw licht verklaren? (3 punten)

5. De afgelopen tien jaar hebben verschillende onderzoeksgroepen zich gericht op het ophelderen van de signaaltransductie-route(s) betrokken bij fototropisme. De meeste resultaten zijn afkomstig uit mutant screenings voor *Arabidopsis* mutanten met een verstoorde fototropische respons van de scheut. Hieronder vind je een tabel met bij zulke screenings opgepikte mutanten. Per mutant is ook de eiwitfunctie van het in die mutant verstoorde gen weergegeven.

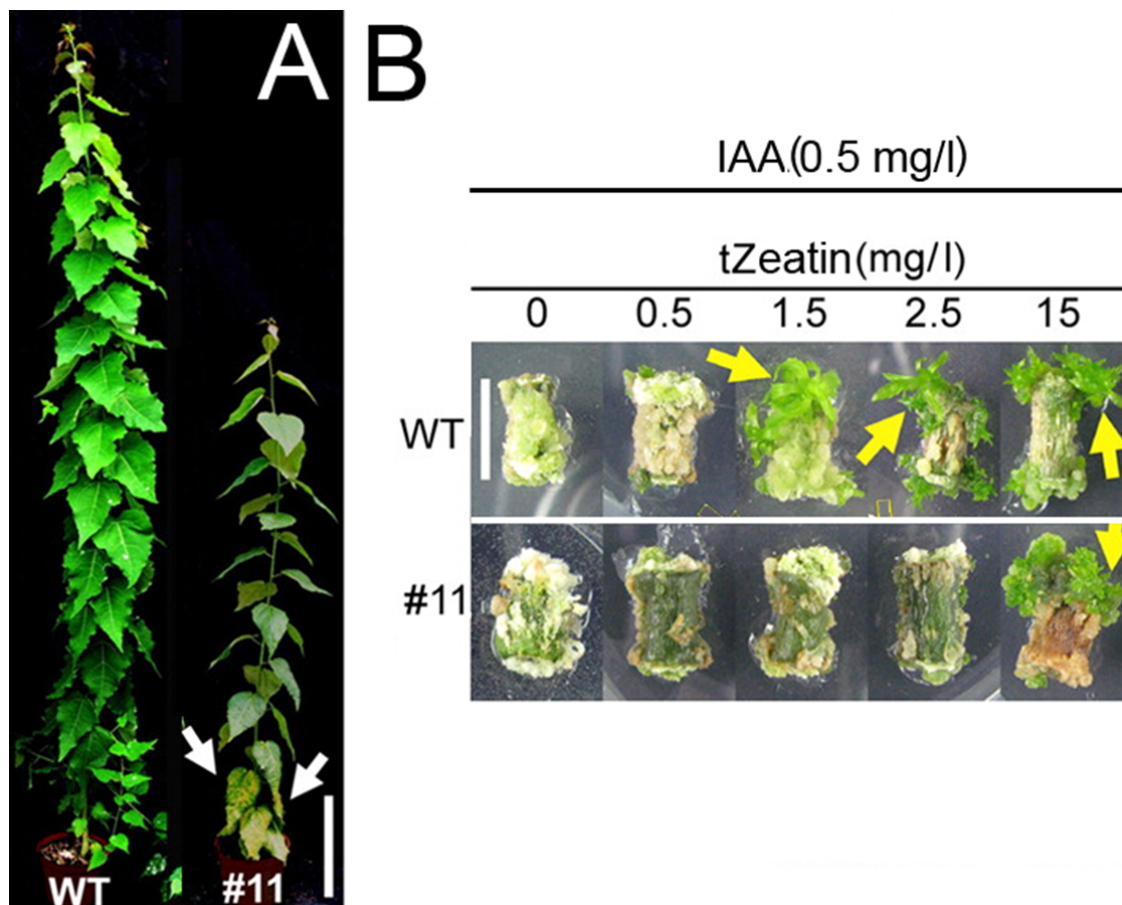
Mutant	Eiwitfunctie
<i>abcb19</i>	transporteiwit
<i>aux/iaa19</i>	transcriptieremmer
<i>map1 = aux1</i>	transporteiwit
<i>expa1 expa8</i> dubbelmutant	Expansines
<i>non-phototropic hypocotyl 1 (nph1)</i>	fotoreceptor
<i>nph2</i>	fotoreceptor
<i>nph3</i>	Regulator van endocytose (membraaninstulping)
<i>nph4 = arf7</i>	transcriptiefactor
<i>pin3</i>	transporteiwit
<i>pin7</i>	transporteiwit
<i>tir1 afb1 afb2 afb3</i> quadruple mutant	Auxine-bindende E-box eiwitten (AFB)

- Beschrijf kort een proefopzet waarmee je snel en makkelijk mutanten met een verstoorde fototropische respons van de scheut kunt identificeren. (2 punten)
- Twee van de geïdentificeerde mutanten (*nph1* en *nph2*) hebben een verstoorde fotoreceptorfunctie. Om welke twee fotoreceptoren gaat het hier? (1 punt)
- Plaats de mutanten in de juiste volgorde, dat wil zeggen de volgorde die de corresponderende eiwitten innemen in de signaaltransductie-cascade die resulteert in een fototropische respons. Beschrijf daarnaast kort per eiwit hoe deze bijdraagt aan de uiteindelijke fototropische respons. (6 punten)

- d) Bij welke van de mutanten uit de tabel zou je ook een verstoorde gravitropische respons kunnen verwachten? Leg kort uit! (1 punt)

6. In onderstaande figuur (A) zijn twee 4 maanden oude populieren afgebeeld. De rechter plant (#11) is een transgene plant waarin in alle delen van de plant de biosynthese of signaaltransductie van een plantenhormoon is verstoord. De linker plant is een wildtype (WT) controle plant. De pijlen in (A) duiden vroegtijdig verouderde bladeren aan.

In (B) zijn de resultaten weergegeven van een weefselkweekexperiment waarbij segmenten van beide planten uit (A) (WT, #11) in kweek zijn gebracht op 5 verschillende voedingsmedia die steeds dezelfde concentratie IAA bevatten, maar verschillen in de concentratie trans-Zeatin (0-15 mg/l). De pijlen in (B) duiden de groei van scheutweefsel aan. In de overige situaties heeft zich wortelweefsel op de in kweek gebrachte segmenten gevormd. (aangepast van Nieminen et al., 2008)



- a) Verklaar aan de hand van de in bovenstaand figuur (A+B) weergegeven fenotypes van welk plantenhormoon de biosynthese of signaaltransductie is verstoord in plant #11 en

of we bij deze plant te maken hebben met een verhoogde of juist verminderde biosynthese/gevoeligheid van/voor dit plantenhormoon. (5 punten)

b) In figuur (A) zijn alleen de bovengrondse delen van beide planten weergegeven. Zal plant #11 naar verwachting naast een afwijkend scheutfenotype ook een in vergelijking met de controle plant afwijkend wortelfenotype vertonen? Verklaar je antwoord. (2¹/₂ punt)

c) Kun je op basis van de gegeven informatie een uitspraak doen over of er sprake is van een verstoorde hormoonbiosynthese of juist van een verstoorde hormoonsignaaltransductie in plant #11?

Indien ja, leg dan uit welk van beide situaties hier aan de orde is en op basis waarvan je dat concludeert.

Indien nee, leg uit waarom niet en beschrijf een experiment dat wel uitsluitsel zal geven. (2¹/₂ punt)