

Characterization of the DUF3537 protein family in *A. thaliana*

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Réjane Audrey Carron

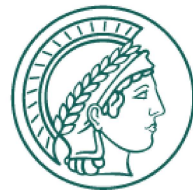
aus Lausanne, Switzerland

Köln

2023

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Pflanzenzüchtungsforschung in Köln in der Abteilung für Pflanze-Mikroben Interaktionen (Direktor: Prof. Dr. Paul Schulze-Lefert), in der Arbeitsgruppe von Dr. Tonni Grube Andersen durchgeführt.

MAX PLANCK INSTITUTE
FOR PLANT BREEDING RESEARCH



Gutachterinnen:

Prof. Dr. Jane E. Parker

Prof. Dr. Alga Zuccaro

Prüfungsvorsitzende:

Prof. Dr. Ute Höcker

Protokollführer:

Dr. Tonni Grube Andersen

Tag der Prüfung:

29.11.2023

Abstract

Conservation of protein sequence and structure can be indicative of function retention across kingdoms. An intriguing example is the superfamily of seven transmembrane ion channels (7TMIC), notably comprising the insect ligand-gated odorant receptors (ORs). Highly divergent homologs of the insect chemoreceptors have been identified in plants and are annotated as domain of unknown function (DUF) 3537. In the model plant *Arabidopsis thaliana*, six proteins containing the DUF3537 have been identified and present high modelled structural identity to the insect ORs. The present study employs a multidisciplinary approach consisting of genetic, physiological, computational and biochemical methodologies to elucidate the function of the DUF3537 proteins in *A. thaliana*.

Fascinatingly, we establish that the *A. thaliana* DUF3537 are expressed in cells directly in contact with the surrounding environment such as guard cells, root tip and anthers and their expression levels are highly responsive to (a)biotic stresses, suggestive of an involvement in sensing mechanisms. Additionally, the DUF3537 proteins are found to localize in the tonoplast and to interact mutually within the family despite specific expression patterns of the individual members. Moreover, differential gene expression analysis on stacked *duf3537* mutants provides evidence of a potential involvement in calcium homeostasis. Employment of genetically encoded calcium indicators (GECIs) on the background of the *duf3537* mutants demonstrates modulation of the calcium signatures in response to (a)biotic stimuli. Furthermore, we highlight the induction of immunity-related genes in *duf3537* mutants that might be responsible for the observed enhanced resistance to *Pseudomonas syringae* infection. Based on the results introduced in the present thesis, we hypothesize that the DUF3537 proteins represent a novel family of putative tetramers that might serve as tonoplast-localized calcium channels, thereby modulating the calcium signature in response to (a)biotic stimuli and the plant immune responses.

Zusammenfassung

Die Erhaltung der Proteinsequenz und -struktur kann ein Hinweis auf die Beibehaltung der Funktion über die verschiedenen Reiche hinweg sein. Ein interessantes Beispiel ist die Superfamilie der sieben Transmembran-Ionenkanäle (7TMIC), zu der insbesondere die ligandengesteuerten Geruchsrezeptoren (ORs) der Insekten gehören. Hochgradig divergente Homologe der Insekten Chemorezeptoren wurden in Pflanzen identifiziert und als Domäne mit unbekannter Funktion (DUF) 3537 annotiert. In der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* wurden sechs Proteine identifiziert, die die DUF3537 enthalten und eine hohe modellierte strukturelle Identität mit den ORs der Insekten aufweisen. In der vorliegenden Studie wurde ein multidisziplinärer Ansatz, der genetische, physiologische, rechnerische und biochemische Methoden verwendet, um die Funktion der DUF3537-Proteine in *A. thaliana* aufzuklären.

Faszinierenderweise stellen wir fest, dass die *DUF3537*-Mitglieder von *A. thaliana* in Zellen exprimiert werden, die in direktem Kontakt mit der Umgebung stehen, wie z. B. Stomata, Wurzelspitzen und Antheren, und dass ihre Expressionswerte stark auf (a)biotischen Stress reagieren, was auf eine Beteiligung an Sensing-Mechanismen hindeutet. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die *DUF3537*-Proteine im Tonoplasten lokalisiert sind und trotz spezifischer Expressionsmuster der einzelnen Mitglieder innerhalb der Familie miteinander interagieren. Darüber hinaus liefert eine differenzierte Genexpressionsanalyse bei gestapelten *duf3537*-Mutanten Hinweise auf eine mögliche Beteiligung an der Kalziumhomöostase. Der Einsatz von genetisch kodierten Kalziumindikatoren (GECIs) auf dem Hintergrund der *duf3537*-Mutanten zeigt eine Modulation der Kalziumsignaturen in Reaktion auf (a)biotische Stimuli. Darüber hinaus heben wir die Induktion von immunitätsbezogenen Genen in *duf3537*-Mutanten hervor, die für die beobachtete erhöhte Resistenz gegen *Pseudomonas syringae*-Infektionen verantwortlich sein könnten. Auf der Grundlage der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse stellen wir die Hypothese auf, dass die *DUF3537*-Proteine eine neuartige Familie von putativen Tetrameren darstellen, die als tonoplastenlokalisierte Kalziumkanäle dienen und dadurch die Kalzium-Signatur als Reaktion auf (a)biotische Stimuli und die pflanzlichen Immunreaktionen modulieren könnten.