

De Onderzoeksgroep

Microbiologie

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

Rani Baes

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

**Regulation of heat shock response
in the thermophilic Crenarchaeon
*Sulfolobus acidocaldarius***

Promotors:

Prof. dr. ir. Eveline Peeters (VUB)

Prof. dr. Wim Vranken (VUB)

De verdediging heeft plaats op

Donderdag 9 maart 2023 om 17h

in aula D.2.01

Samenstelling van de jury:

Prof. dr. Dominique Maes (VUB, voorzitter)

Prof. dr. Charles Van Der Henst (VUB, secretaris)

Prof. dr. ir. Geert Angenon (VUB)

Prof. dr. ir. Kiavash Movahedi (VUB)

Prof. dr. Sébastien Ferreira-Cerca (University of
Regensburg)

Prof. dr. Louis Droogmans (ULB)

Curriculum vitae

Rani Baes behaalde haar diploma van Master of Science in Biology: Molecular & Cellular Life Sciences aan de Vrije Universiteit Brussel in 2018. Na het afstuderen behaalde ze een FWO aspirantmandaat voor fundamenteel onderzoek en startte ze haar doctoraat in de Onderzoeksgroep Microbiologie in oktober 2018.

Rani's werk heeft geleid tot vier publicaties in internationale tijdschriften, vier mondelinge presentaties en verscheidene posterpresentaties op (inter-) nationale conferenties. Tijdens haar doctoraat begeleidde ze vier masterthesisstudenten en gaf ze verschillende werkcolleges aan bachelor- en masterstudenten.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

Temperatuur is een cruciale omgevingsparameter voor alle levende organismen. Hoewel het al goed gekend is hoe bacteriën en eukaryoten deze temperatuursveranderingen gewaarworden en hierop reageren, is dit voor archaea nog steeds raadselachtig. De thermofiele Crenarchaeon *Sulfolobus acidocaldarius* groeit optimaal bij 75°C in vulkanische warmwaterbronnen - habitats die gekenmerkt worden door grote temperatuursgradiënten. Het is echter onbekend hoe het voelen van de temperatuursverandering en volgende hiteschok-respons gereguleerd wordt. Dit werk beoogt om deze vragen te beantwoorden door de hiteschok-respons van *S. acidocaldarius* te ontrafelen vanuit een systeem-perspectief enerzijds, en een gerichte studie van de regulatie van het belangrijkste hiteschok-proteïne (HSP) anderzijds.

Met behulp van een gevalideerde hiteschok-opstelling hebben fenotypische tests de conditie bepaald die een maximale hiteschok-respons uitlokt bij de cellen zonder hun viabiliteit aan te tasten. Bij deze conditie toonde puls-labeling van *de novo* gesynthetiseerd RNA en proteïne aan dat de transcriptionele en translationele activiteit was verlaagd. Transcriptoom- en proteoomanalyses toonden echter aan dat er een uitgebreide en snelle respons was op RNA-niveau en een langzamere respons op proteïne-niveau. Een functionele verrijkingsanalyse wees uit dat bijna alle biologische processen worden beïnvloed door hitte-schok. Onze resultaten wijzen op afwezigheid van een klassieke transcriptiefactor als het belangrijkste regulatiemechanisme van de hiteschok-respons en suggereren dat transcriptionele regulatie gebeurt door wijzigingen in DNA condensatie.

Een directe correlatie tussen transcriptionele expressie en translationele productie was voor de meeste genen niet waarneembaar. Dit wijst op het bestaan van post-transcriptionele regulatieprocessen. Eén van de mogelijkheden is dat regulatie gebeurt door structurele elementen in het mRNA (RNA-thermometers), dewelke zich meestal bevinden in het 5'-ongetransleerde gebied (5'UTR). Voor de HSPs werd de structuur van de mogelijke RNA-thermometer voorspeld *in silico* en gevalideerd *in vitro* met behulp van een geoptimaliseerde procedure.

Hiteschok-responsieve regulatie werd verder onderzocht voor het belangrijkste HSP door constructie van een 5'UTR-deletiestam. Deze 5'UTR blijkt een bepalende factor voor het bekomen van de juiste HSP-niveaus bij de optimale groeitemperatuur en bij hiteschok op basis van primerextensie, qRT-PCR en western blotting analyses. Dit is de eerste demonstratie van 5'UTR-geassocieerde, temperatuursresponsieve regulatie in archaea.

Hiermee geeft mijn onderzoek een comprehensief inzicht in de hiteschok-responsieve regulatie van een model-Crenarchaeon en een beter begrip van de fysiologie van dit organisme in de context van zijn natuurlijke habitat. Gezien de unieke fylogenetische positie van archaea draagt dit onderzoek ook bij tot inzichten in de oorsprong en vroege evolutie van temperatuursafhankelijke regulatie, relevant voor de andere domeinen van het leven.