

Abstract PhD Thesis Amelia Vassart

Microorganisms need to adapt rapidly to environmental and nutritional changes in order to maintain their fitness. These adaptations are mainly driven by regulation of gene expression. The family of the Lrp-like (Leucine-responsive Regulatory Protein) transcriptional regulators is one of the most abundant families of transcriptional regulators in archaea and bacteria. These regulators are either specific or global and may have different effects, depending on the targets and/or the presence of a suitable cofactor. Bacterial Lrp-like proteins are generally involved in the regulation of the amino acid metabolism, but the archaeal regulators are also involved in central metabolic processes. Furthermore, some Lrp proteins have been shown to have a supplementary function in the cell as a nucleoid associated protein, by compacting and organizing the chromosomal structure.

In this work, we study the transcriptional regulator Sa-Lrp from *Sulfolobus acidocaldarius*. This hyperthermoacidophile is a model organism of the aerobic crenarchaeota, one of the largest archaeal phyla, because of its known genome sequence, genetic stability and recently developed genetic and molecular biology tools, such as gene knock-out techniques and shuttle vectors.

We demonstrate that glutamine is the cofactor of Sa-Lrp; glutamine induces the formation of Sa-Lrp octamers and increases the DNA-binding affinity and sequence specificity of the regulator. *In vitro* protein-DNA interaction assays indicate that Sa-Lrp binds to promoter regions of genes with a variety of functions including ammonia assimilation, transcriptional control and UV-induced pili synthesis. DNA binding occurs with a specific affinity for AT-rich binding sites and the protein induces DNA-bending and wrapping upon binding, indicating an architectural role of the regulator. Furthermore, by analyzing an *Sa-lrp* deletion mutant, we demonstrate that the protein affects transcription of some of the genes of which the promoter region is targeted and that it is an important determinant of the cellular aggregation phenotype. Sa-Lrp appears to be an abundant protein in the cell. Taking all these results into account, we conclude that Sa-Lrp is a glutamine-responsive global transcriptional regulator with an additional architectural role as a nucleoid associated protein.

Abstract doctoraatsthesis Amelia Vassart

Micro-organismen moeten zich snel kunnen aanpassen aan de nutritionele veranderingen en omgevingsfactoren waarin zij zich bevinden. Deze aanpassingen zijn grotendeels aangedreven door regulatie van genexpressie. De Lrp-familie (Leucine-responsive Regulatory Protein) van transcriptieregulatoren is één van de grootste regulatorfamilies in archaea en bacteriën. Deze regulatoren werken specifiek of globaal en kunnen verschillende effecten in genexpressie veroorzaken, afhankelijk van de doeltwitgenen en/of de aanwezigheid van een cofactor. Bacteriële Lrp proteïnen zijn vaak betrokken in de regulatie van aminozuurmetabolisme, maar archaeële Lrp-achtigen reguleren ook processen in het centraal metabolisme. Bovendien hebben sommige Lrp proteïnen een additionele functie in de cel als NAP (nucleoid associated protein) die bijdraagt tot de compactering van het genoom.

In dit werk bestuderen we de transcriptionele regulator Sa-Lrp van *Sulfolobus acidocaldarius*. Deze hyperthermoacidofiel is een modelorganisme van de aerobe crenarchaeota, omwille van zijn gekende genoomsequentie, genetische stabiliteit en recent ontwikkelde genetische en moleculair biologische technieken, zoals gendisruptietechnieken en shuttle vectoren.

We tonen aan dat glutamine de cofactor is van Sa-Lrp. Glutamine bevordert de vorming van Sa-Lrp octameren, stimuleert de DNA bindingsaffiniteit en verhoogt de sequentie specificiteit van Sa-Lrp. Door middel van *in vitro* proteïne-DNA interactie technieken tonen we aan dat Sa-Lrp bindt op de promoterregio's van verschillende genen betrokken in het stikstofmetabolisme, transcriptieregulatie en UV geïnduceerde pili synthese. De DNA binding gebeurt met een specifieke affiniteit voor AT-rijke bindingsplaatsen en Sa-Lrp binding induceert DNA vervormingen. Dit wijst op een mogelijke architecturale rol van de regulator. Bovendien werd de *Sa-lrp* deletiemutant gebouwd en geanalyseerd. Sommige genen hebben een differentiële expressie na tussenkomst van Sa-Lrp. Tenslotte wordt er ook aangetoond dat Sa-Lrp een abundante proteïne is en één van de determinanten is in de cellulaire aggregatie. Uit deze resultaten kunnen we besluiten dat Sa-Lrp een glutamine afhankelijke globale transcriptionele regulator is met een additionele architecturale rol.