

De Onderzoeksgroep

Structurele en Moleculaire Microbiologie

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

Sander E. VAN DER VERREN

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

ORDER AT THE SURFACE

Electron cryo-microscopy of the curli assembly system and *Bacillus anthracis* S-layer

Promotor:

Prof. Dr. Han Remaut

De verdediging heeft plaats op

Donderdag 9 juli 2020 om 17:00
voor een beperkt publiek. Tevens zal de verdediging ook online te volgen zijn zoals beschreven hier¹.

¹ <https://forms.gle/NnunXjwZzuNPn9Ws8>

Samenstelling van de jury

Prof. Dr. Stefan Weckx (VUB, voorzitter)
Prof. Dr. Ir. Wim Versées (VUB, secretaris)
Prof. Dr. Han Remaut (VUB, promotor)
Prof. Dr. Tom Lenaerts (VUB)
Prof. Dr. Ariane Briegel IBL, ULeiden, NL)
Prof. Dr. Sheena Radford (Astbury centre, ULeeds, VK)

Curriculum vitae

Sander E. Van der Verren (1992) behaalde zijn B.Sc. en M.Sc. in de Biochemie en Biotechnologie aan de universiteit van Gent en werkte zijn thesis af aan de Uppsala universiteit te Zweden. In 2015 vervoegde hij het lab van Han Remaut met een FWO aspirantbeurs. Zijn onderzoek focust zich op het bacteriële celoppervlak, wat leidde tot 3 publicaties in vaktijdsschriften alsook 1 patent. Verder wendde hij zijn verworven competenties in cryo-EM aan in verscheidene samenwerkingen met andere Belgische onderzoeksgroepen. Tot slot begeleidde hij 1 thesis student en presenteerde zijn werk op internationale conferenties, waarmee hij 1 poster en 1 spreker prijs in de wacht sleepte.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

Het bacteriële celoppervlak is de eerste barrière tussen de bacterie en zijn omgeving en is aldus gelinkt met virulentie, adhesie en herkenning. Twee sterk verschillende bacteriële oppervlakken werden bestudeerd in deze thesis, zijnde de universele curli-producerende Gram-negatieve bacteriën en het S-layer oppervlak van de Gram-positieve miltvuur pathogeen *Bacillus anthracis*.

Curli precipiteren als functionele amyloïden op de buitenzijde van de cel. Deze plakkerige vezels worden gebruikt ter adhesie en als biofilm matrix, waardoor bacteriën diverse oppervlakken kunnen koloniseren. Curli worden gesecreteerd door een gespecialiseerde pathway, het curli assemblage systeem. In deze thesis werd de rol van de extracellulaire curli secretie factor CsgF onderzocht. Verscheidene cryo-EM structuren van het CsgG:CsgF complex toonden aan dat CsgF een hecht complex vormt met CsgG, het centrale secretiekanaal. Het N-terminale peptide (FCP) voegt een tweede constrictie toe aan de CsgG porie, hetgeen op zich bruikbaar blijkt te zijn in nanoporie sequenering. Het CsgG:FCP nanoporie prototype is zelf superieur in het uitlezen van homopolymeren in vergelijking met de CsgG apo porie. Naast het peptide bevat CsgF ook een flexibele nek en hoofd regio. We tonen we aan dat zowel het hoofdje als de nek vereist zijn voor curli assemblage. CsgF is intrinsiek flexibel en waarschijnlijk enkel stabiel is in context van de curli vezel, meer bepaald door interactie met de CsgB curli component. Tot slot bleek uit elektronen tomografie (cryo-ET) dat de curli een dense halo rond te cel vormen, echter zonder duidelijke aanhechtingspunten. Samen onderbouwen onze resultaten een model waarbij CsgB subeenheden stochastisch van het CsgG:CsgF complex vallen tijdens het CsgF-gemedieerde assemblage proces.

In een tweede deel van deze thesis werd het S-layer eiwit Sap onder de loep genomen. Sap is één der twee eiwitten die de S-layer vormen in *B. anthracis*. In deze thesis tonen we aan dat de S-layer een *bona fide* doelwit kan vormen voor geneesmiddelen, meer bepaald door het gebruik van nanobodies. Het gebruik van de ontwikkelde nanobodies resulteert in aberrante cel morfologie en groei-inhibitie van de bacillen, alsook in een beschermend effect in een muismodel. Om het mechanisme van de nanobodies beter te begrijpen, werd de S-layer structuur verder bestudeerd. De gegenereerde projectiemappen suggereren dat Sap ten opzichte van de kristalstructuur een conformationele wijziging moet ondergaan om in het *p2*-symmetrische rooster te passen. Door middel van cryo-ET en crosslinking analyse stellen we een nieuw roostermodel voor. Onze resultaten verschaffen nieuw inzicht rond de S-layer topologie in *B. anthracis*, en vormen belangrijke stap richting het ontwikkelen van geneesmiddelen ter bestrijding van miltvuur.