



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Histone-DNA assemblies in archaea : shaping the genome on the edge of life

Henneman, B.

Citation

Henneman, B. (2019, December 4). *Histone-DNA assemblies in archaea : shaping the genome on the edge of life*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/81191>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/81191>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/81191> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Henneman, B.

Title: Histone-DNA assemblies in archaea : shaping the genome on the edge of life

Issue Date: 2019-12-05

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Alle leven op aarde bevat DNA, dat gebruikt wordt voor de opslag van biologische informatie. Organismen maken hun DNA compact zodat het in de cel(len) past. Speciale eiwitten, die worden aangeduid als nucleoïde-geassocieerde eiwitten (NAP's), helpen met het compact doch toegankelijk maken van DNA. NAP's zijn vaak eiwitten die DNA buigen, oprollen, of een brug vormen tussen twee DNA duplexen. In de meeste eukaryote en archaeale soorten worden histonen gebruikt waar DNA omheen gerold of gebogen wordt. In dit proefschrift wordt beschreven hoe archaeale histonen interacteren met DNA.

Archaea, soms het derde domein van het leven genoemd naast eukaryoten en bacteriën, zijn een groep eencellige organismen die in bijna elke habitat op aarde worden aangetroffen. Hoewel ze uiterlijk op bacteriën lijken, zijn ze genetisch meer verwant aan eukaryoten. Archaea worden pas sinds de jaren '70 van de twintigste eeuw gezien als een afzonderlijk domein. Ze spelen een grote rol in geochemische cycli, en sommige componenten van archaea worden gebruikt voor technische toepassingen. Alhoewel archaea een groot aandeel hebben als bewoners van de menselijke darm, is hun rol in gezondheid en ziekte nog niet duidelijk. In **HOOFDSTUK 1** geven wij een brede introductie van het domein archaea. Ook

geeft dit hoofdstuk een overzicht van archaeale transcriptieregulatie op moleculair niveau. Daarnaast worden de eukaryote en archaeale histonen geïntroduceerd, en gaan we in op hun belangrijkste overeenkomsten en verschillen.

Recent is ontdekt dat sommige archaeale histonen samen met DNA een aaneengesloten staafvormige structuur vormen, die wij tot hypernucleosoom hebben gedoopt. In **HOOFDSTUK 2** beschrijven we op moleculair niveau welke componenten van het histon bijdragen aan de formatie van het hypernucleosoom. Wij hebben ook de primaire structuur van alle histonen die vandaag de dag bekend zijn, bestudeerd, en we voorspellen of het mogelijk is dat deze histonen samen met DNA een hypernucleosoom vormen.

Om NAP's en hun interactie met DNA te kunnen karakteriseren, kunnen single molecule technieken uitkomst bieden. Bij het bestuderen van het effect van NAP's op de structuur van DNA, is tethered particle motion (TPM) een handige methode met een hoge verwerkingscapaciteit. Bij TPM drukt de beweging van een balletje dat via DNA aan een glasplaatje vast zit, de structuur van het DNA nauwkeurig in cijfers uit. De concentratie van de NAP en fysisch-chemische condities kunnen worden gevarieerd om het effect daarvan op complexen van NAP's en DNA te bestuderen. In **HOOFDSTUK 3** laten we zien hoe TPM gebruikt kan worden in een studie van NAP's. Ook bieden we nieuwe mogelijkheden waarop data verkregen via TPM kan worden getoond, die inzicht verschaffen in hoe individuele metingen bijdragen aan het populatiegemiddelde.

In **HOOFDSTUK 4** gebruiken we TPM om te bestuderen hoe de histonen HMfA en HMfB, afkomstig van het archaeale organisme *Methanothermus fervidus*, DNA compacter maken. Daarnaast gebruiken we magnetic tweezers om kracht te kunnen uitoefenen op eiwit-DNA-complexen, waaruit we afleiden dat het hypernucleosoom gevormd door HMfB robuuster is dan het hypernucleosoom gevormd door HMfA. Ook onderzoeken we of de onderdelen waarvan we in hoofdstuk 2 voorspelden dat ze bij zouden dragen aan de vorming van de hypernucleosoom, inderdaad die rol spelen *in vitro*. Vervolgens laten de we resultaten zien van experimenten waarbij het DNA gedraaid wordt. Die tonen aan dat hypernucleosomen opgebouwd rondom HMfB, in principe linkshandig zijn, maar onder invloed van een krachtmoment kunnen veranderen in een rechtshandige structuur.

Zoals bij *M. fervidus* bevatten de genomen van sommige archaeale soorten meerdere genen die coderen voor histonen. Een interessant voorbeeld zijn de histonen van het zoutminnende organisme *Nanosalina* sp. J07AB43, dat behoort tot de recent ontdekte stam *Candidatus Nanohaloarchaeota*. In hoofdstuk 2

voorspelden we dat sommige van deze histonen een hypernucleosoom kunnen vormen, terwijl een ander histon van *Nanosalina* dat hoogstwaarschijnlijk niet kan. In **HOOFDSTUK 5** tonen we de resultaten van microscale thermophoresis (MST) experimenten, die suggereren dat histon HA samen met DNA inderdaad hypernucleosomen vormt, terwijl HB dat niet doet. We meten ook bij zeer hoge zoutconcentraties, die beter overeenkomen met de condities waarin soorten behorende tot *Ca. Nanohaloarchaeota* gevonden zijn.

Omdat archaeale histonen delen van het genoom compact kunnen maken, zijn ze waarschijnlijk ook betrokken bij transcriptieregulatie. Er wordt vermoed dat specifieke DNA-sequenties een rol spelen in het positioneren van histonen op het genoom. In **HOOFDSTUK 6** wordt onderzocht wat het effect is van een bekende specifieke DNA-sequentie genaamd Clone20 op de histonen van *M. fervidus*. We zien dat deze histonen zorgen voor gedeeltelijke compactie van het Clone20-DNA bij concentraties beneden 22 nM, terwijl dit bij willekeurig DNA niet gebeurt. Ook stellen wij mechanismen voor waarmee sequenties zoals Clone20 mogelijk interacteren met andere elementen van het archaeale transcriptiereguleringsstelsel.

Een brede discussie van het werk dat in dit proefschrift wordt gepresenteerd, wordt gegeven in **HOOFDSTUK 7**.