

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/138643> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Zhang, Z.

Title: Group benefits from genomic instability: A tale of antibiotic warriors in *Streptomyces*

Issue date: 2020-12-14

Nederlandse samenvatting

Hoewel bacteriën niet met het blote oog waarneembaar zijn, vormen ze het grootste en meest diverse domein op aarde (1, 2). Binnen deze diversiteit nemen de streptomyceten een speciale plaats in. Door streptomyceten geproduceerde metabolieten vormen het merendeel van de antibiotica en antischimmelmiddelen die in de kliniek worden gebruikt en dit heeft er voor gezorgd dat het maatschappelijk belang van deze bacteriën niet kan worden onderschat (12, 13). Een belangrijke uitdaging voor de exploitatie van deze organismen is echter het feit dat ze een enorme genomische instabiliteit vertonen, een eigenschap die kan leiden tot de verandering van functies die relevant zijn voor hun economische waarde, met name de productie van antibiotica (17–20). Meercellige organismen kenmerken zich door hun vermogen om taken te verdelen tussen de cellen waaruit ze bestaan. Deze taakverdeling kan worden gedefinieerd als de situatie waarin individuele cellen binnen een lichaam, of subpopulaties binnen samenlevingen, complementaire taken uitvoeren om het functioneren van het organisme of de kolonie te verbeteren (49–52). Het beschrijven van dergelijke taakverdelingen bestaat idealiter uit het identificeren van de omvang en oorzaken van reeds bestaande fenotypische variatie en samenwerkingen, en het maken van kwantitatieve schattingen van de adaptieve voordelen die hieraan zijn verbonden (50). Het meten van deze eigenschappen is relatief makkelijk in microben en dit heeft in de afgelopen jaren geleid tot een significante toename van de literatuur over microbiële taakverdelingen. In **Hoofdstuk 2** bespreken we een deel van deze literatuur, ten eerste om een beter inzicht te krijgen in de oorzaken en gevolgen van microbiële taakverdelingen, en ten tweede om onze latere beschrijving van taakverdelingen binnen streptomyceten-kolonies beter in een kader te kunnen plaatsen. Eerst beschrijven we de taakverdeling tussen somatische cellen en geslachtscellen en beargumenteren we hoe een vergelijkbare taakverdeling van toepassing is bij *Myxococcus* en *Dictostylium*. We gaan hierbij ook in op de parallellen tussen de productie van sporen bij microben en de kastenverhoudingen bij sociale insecten, en hoe deze verdelingen via kinselectie bescherming bieden tegen uitbuiting en conflict. Vervolgens beschrijven we hoe cel-differentiatie in andere meercellige bacteriën soms volgens vaste patronen verloopt, zoals bij streptomyceten en cyanobacteriën. Dit wordt gevolgd door een bespreking van theoretisch mogelijke taakverdelingen bij streptomyceten en hoe dergelijke verdelingen eerder onderzocht zijn in andere bacteriesoorten.

Hyperpigmentatie wordt regelmatig waargenomen in sommige kolonies van *Streptomyces coelicolor* die worden gegenereerd als gevolg van genomische instabiliteit. Omdat de bekende antibiotica die *S. coelicolor* produceert ook gepigmenteerd zijn, onderzochten we de hypothese dat genomische instabiliteit ten grondslag ligt aan een taakverdeling met betrekking tot de productie van antibiotica. Door gebruik te maken van diverse technieken uit de microbiële evolutie en verschillende omics benaderingen, biedt **Hoofdstuk 3** een

nieuw inzicht in hoe terminale differentiatie van het genoom de productie van antibiotica beïnvloedt in *S. coelicolor*. We laten zien dat mutanten ontstaan, met een frequentie van ongeveer 1%, die zich minder goed voortplanten, maar die wel een grotere diversiteit en kwantiteit aan antibiotica produceren. Deze veranderingen zijn geassocieerd met genoomdeleties en laten daarmee een duidelijke afweging tussen antibioticaproductie en voortplanting zien. Door competitie-experimenten uit te voeren met mengsels van mutanten en wild-type cellen, laten we vervolgens zien dat deze taakverdeling leidt tot een verhoogde reproductie op het niveau van de kolonie.

Omdat de mutanten zich relatief minder succesvol voortplanten dan de wild-type cellen, worden ze snel door competitie binnen de kolonie weggeconcentreerd. In **Hoofdstuk 4** breiden we onze studie uit met een analyse van de afstammingslijnen van deze mutanten om hun genetische lot in kaart te brengen. De resultaten laten zien dat mutanten met initiële genoom-deleties in latere generaties nog meer deleties ondergaan, aan zowel de linker- als de rechterzijde van het lineaire chromosoom, en dat deze secundaire deleties gepaard gaan met een aanzienlijke verlaging van de sporenproductie. Daarnaast hebben de mutanten regelmatig een verhoogde mutatiefrequentie, wat zorgt voor een snellere accumulatie van schadelijke mutaties. Deze resultaten suggereren dat mutanten in *S. coelicolor* parallellen vertonen met de steriele kasten bij sociale insecten. Vanwege diverse en voortdurende genomische schade worden ze gemakkelijk weggeconcentreerd tijdens de groei van de kolonie en moeten ze daarom voortdurend opnieuw worden gegenereerd tijdens de kolonie-ontwikkeling. Deze gegevens voegen een nieuwe dimensie toe aan het idee van mutationale ineenstorting, omdat forse genomische deleties samen met de opkomst van verhoogde mutatiefrequenties er via een verlaagde sporen productie voor zorgen dat de mutanten doorgaans snel uitsterven.

In **Hoofdstuk 5** bestuderen we de effecten van genomische reorganisaties in *S. coelicolor*, met behulp van op massaspectrometrie gebaseerde proteomics en metabolomics. We tonen aan dat verhoogde antibacteriële activiteit in de mutanten daadwerkelijk wordt veroorzaakt door overproductie van antibiotica. We nemen een toename waar van meerdere eiwitten die deel uitmaken van biosynthetische genclusters voor antibiotica. Daarnaast worden verschillende belangrijke ontwikkelingseiwitten in mindere mate aangemaakt in de mutanten, wat mogelijk samenhangt met de verlaagde reproductie. Dit hoofdstuk geeft gedetailleerde moleculaire informatie over hoe de afweging tussen antibioticaproductie en voortplanting wordt gestuurd door genomische differentiatie, en helpt ons daarmee om de taakverdeling in *S. coelicolor* kolonies beter te begrijpen.

Tot slot biedt **Hoofdstuk 6** een bespreking van de resultaten uit de voortgaande hoofdstukken, en ook perspectieven voor het verder bestuderen van genomische instabiliteit in streptomyceten en andere meercellige bacteriën.