



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The dynamic organization of prokaryotic genomes: DNA bridging and wrapping proteins across the tree of life

Erkelens, A.M.

Citation

Erkelens, A. M. (2023, September 27). *The dynamic organization of prokaryotic genomes: DNA bridging and wrapping proteins across the tree of life*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3642503>

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/1887/3642503>

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



Nederlandse samenvatting

Een bol katoengaren met een afmetingen van ongeveer 10 bij 6 centimeter heeft een draadlengte van 85 meter wanneer het helemaal is afgewikkeld. Garen kan worden gesponnen in de vorm van een bal, een meer langwerpige ovaal of losjes om zichzelf gewikkeld. In iedere vorm is het essentieel dat het garen niet in de knoop raakt en makkelijk is in gebruik. Hetzelfde principe geldt voor het DNA. Het genoom van een prokaryoot is ongeveer 2 millimeter lang terwijl de afmetingen van de cel maar 1-2 bij 5-10 micrometer zijn. Er is dus nog meer vouwing en compactie nodig om dit te laten passen en tegelijkertijd moet de cel bij de informatie kunnen die in het DNA is opgeslagen. De cel heeft verschillende mogelijkheden om dit te doen: één daarvan is het maken van eiwitten die aan het DNA binden en het organiseren. De meeste bekende categorie van deze eiwitten zijn histonen van eukaryotische cellen (bijvoorbeeld menselijke cellen). In prokaryoten kun je eiwitten vinden met dezelfde functie, die noemen we nucleoid-associated proteins (NAPs). Er zijn verschillende manieren waarop deze eiwitten het DNA op kunnen vouwen. In Hoofdstuk 1 bespreken we deze mogelijkheden: het opwinden en buigen van DNA, bruggen vormen tussen twee stukken DNA en het vormen van een filament langs het DNA om het stijver te maken. In ieder domein van het leven worden (bijna) alle mogelijkheden gebruikt al gebeurt dit vaak met behulp van verschillende eiwitten. Dit is waarschijnlijk een voorbeeld van convergente evolutie: onafhankelijke evolutie van verschillende eiwitten met dezelfde functie.

Voor de modelbacterie *Escherichia coli* zijn minstens 12 NAPs bekend. Het H-NS-eiwit (histone-like nucleoid structuring protein) maakt het genoom compact en heeft een effect op het alfezen van ongeveer 5-10% of de genen van *E. coli*. H-NS kan zowel bruggen tussen DNA vormen als een filament langs het DNA vormen. Welke structuur H-NS gebonden aan het DNA vormt hangt af van verschillende factoren zoals omgevingsfactoren (temperatuur, pH en zout), andere eiwitten waarmee het een interactie aan kan gaan en posttranslationele modificaties. In Hoofdstuk 2 vatten we de functionele en structurele eigenschappen van H-NS en homologe eiwitten in andere bacteriën samen. We stellen dat de ladingsverdeling van het eiwit kan voorspellen of een H-NS-achtig eiwit kan reageren op zijn omgeving. Als de ladingsverdeling asymmetrisch is, en het eiwit genoeg flexibel is, is dat een indicatie dat de zoutconcentratie het H-NS-achtige eiwit kan laten schakelen tussen de vorming van een filament en van DNA-bruggen.

De NAP Rok in *Bacillus subtilis* wordt gezien als een mogelijk H-NS-achtig eiwit. De ladingsverdeling is echter anders dan de asymmetrische verdeling van de meeste H-NS-achtige eiwitten. De ladingen zijn bij Rok meer uitgespreid en het middelste gedeelte



van Rok is neutraal. In Hoofdstuk 3 laten we zien dat Rok alleen DNA-bruggen kan vormen en maar minimaal reageert op omgevingsfactoren. Dit suggereert dat Rok veel minder wordt gereguleerd door zijn omgeving dan andere H-NS-achtige eiwitten. De zoektocht naar andere factoren om de Rok-DNA bruggen te reguleren leidde naar een kleinere variant van Rok genaamd sRok. Deze NAP kan wel zowel DNA-bruggen als een filament op het DNA vormen. Ook reageert sRok meer dan Rok op verschillende zoutconcentraties. Wanneer Rok en sRok gemengd worden, vormen ze heterodimeren en hebben ze een invloed op elkaars gedrag. Deze resultaten laten zien dat eiwitpartners belangrijk zijn voor het reguleren van Rok en daarmee waarschijnlijk ook voor andere DNA-organiserende eiwitten.

In het andere prokaryotische domein, de archaea, zijn andere DNA-organiserende eiwitten te vinden, die soms alleen in een bepaalde tak organismen voorkomen. Archaea werden lange tijd beschouwd als het derde domein van het leven, maar nieuwe modellen laten zien dat de boom van het leven waarschijnlijk maar uit twee takken bestaat: de tak met bacteriën en de tak met archaea en eukaryoten. In dit model zijn de eukaryoten geëvolueerd vanuit de archaea. Deze relatie is zichtbaar in hun DNA-organiserende eiwitten. In eukaryoten zijn histonen de voornaamste DNA-organiserende eiwitten. De meeste archaea coderen ook voor histonen in hun genoom, maar deze histonen missen de flexibele staarten van de eukaryotische varianten die voor regulatie worden gebruikt. In eerder onderzoek is gevonden dat archaeale histonen het DNA kunnen opwinden rond een soort cilinder gevormd door histonen. Deze, in theorie eindeloze, structuur noemen we een hypernucleosoom. In de praktijk is deze structuur niet eindeloos, maar wordt gelimiteerd door verschillende factoren zoals histonvarianten, post-translationele modificaties, omgevingsfactoren en specifieke DNA-sequenties. In Hoofdstuk 4 hebben we het effect onderzocht van een artificiële DNA-sequentie met een hoge affiniteit voor histonen en wat dit betekent voor het vormen van een hypernucleosoom door de archaeale model histonen HMfA en HMfB. Deze specifieke DNA-sequentie wordt eerst gebonden door een tetrameer bij lage eiwitconcentraties, maar dit vormt geen voordeel voor het vormen van een hypernucleosoom ten opzichte van specifiek DNA. Ons voorstel is dat dit komt doordat de tetrameer op de specifieke sequentie meer gesloten is en daarom niet geschikt om een hypernucleosoom mee te starten. Als je dit combineert met varianten van histonen die minder geschikt zijn om een hypernucleosoom te vormen, maar wel deze specifieke sequentie herkennen, kan dit een manier zijn om het begin en het einde van een hypernucleosoom mee aan te geven.

Sommige varianten van histonen zijn wat groter dan de standaard histonen door staarten aan het begin of einde van het eiwit. In Hoofdstuk 5 onderzoeken we de



eigenschappen van MJ1647, een histon met een staart aan het einde van *Methanocaldococcus jannaschii*. Dit histon kan op twee manieren het DNA organiseren: het kan zowel het DNA opwinden zoals andere archaeale histonen, maar het kan ook DNA bruggen vormen. Voor allebei de toestanden is het nodig dat MJ1647 tetrameren vormt via de staart. Omdat deze staart teveel ruimte inneemt, kan MJ1647 geen hypernucleosoom vormen. Het zou echter wel een rol kunnen hebben als versperring op het DNA om verdere groei van een hypernucleosoom te stoppen.

In het model waarin de boom van het leven twee takken heeft, komen we uit bij de Asgard archaea als de archaea die het meest verwant zijn aan eukaryoten. Dit kunnen we zien aan de grote hoeveelheid 'eukaryotic signature proteins', maar ook aan de aanwezigheid van histonen die beginnen met een flexibele staart. *Heimdallarchaeota* LC_3 codeert voor 10 histonen waarvan er één zo'n staart heeft, namelijk HA. In Hoofdstuk 6 hebben we tevergeefs geprobeerd om HA en het meer archaeale histon HB te produceren in *E. coli* en de gist *Pichia pastoris*. Het was mogelijk om HB chemisch te synthetiseren en op deze manier de DNA bindende eigenschappen te onderzoeken. In tegenstelling tot de voorspellingen lijkt HB geen hypernucleosoom te kunnen vormen.

De resultaten in dit proefschrift laten zien dat er grote variatie te vinden is in DNA-organiserende eiwitten en dat DNA op verschillende manieren georganiseerd kan worden. De bredere impact van dit onderzoek wordt beschreven in Hoofdstuk 7. Prokaryoten spelen een belangrijke rol in een aantal globale uitdagingen van deze tijd, zoals de toenemende resistentie van bacteriën tegen antibiotica en het effect van methaan-producerende archaea op klimaatverandering. Het is daarom belangrijk om te bestuderen hoe prokaryoten hun genen reguleren en hoe ze op DNA-niveau reageren op een veranderende omgeving.