

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

Amber Bernauw

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

Titel van het proefschrift:

High-throughput screening and detailed characterization of Lrp-type transcription factors for the development of beta-alanine responsive biosensors

Promotoren:

Prof. dr. ir. Eveline Peeters (VUB)

Dr. ir. Indra Bervoets (VUB)

Prof. dr. Sophie de Buyl (VUB)

De verdediging heeft plaats op

Donderdag 28 september 2023 om 17u in
aula D.2.01

Samenstelling van de jury

Prof. dr. ir. Wim De Malsche (VUB, voorzitter)

Prof. dr. Wim Vranken (VUB, secretaris)

Dr. Daria Ezerina (VUB)

Prof. dr. Kim Roelants (VUB)

Prof. dr. ir. Marjan De Mey (Universiteit Gent)

Prof. dr. Julia Frunzke (Forschungszentrum Jülich)

Curriculum vitae

Amber Bernauw behaalde een diploma van Master of Science in Bioengineering Sciences: Cell and Gene Biotechnology aan de VUB in 2018. Na afstuderen behaalde ze een FWO mandaat voor strategisch basisonderzoek en in januari 2019 startte ze haar doctoraat in de onderzoeksgroep Microbiologie. Amber's onderzoek heeft geleid tot twee tijdschriftpublicaties en één boekhoofdstuk. Ze gaf verscheidene presentaties op (inter-)nationale conferenties en symposia. Tijdens haar doctoraatstraject begeleidde ze tevens vier masterthesisstudenten, één bachelorthesisstudent en leidde ze verschillende werkcolleges aan bachelor- en masterstudenten.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

De mogelijkheid om genexpressie aan te passen is essentieel voor micro-organismen om fitheid te behouden en om te overleven in een veranderende omgeving. Er bestaan verschillende regulatiemechanismen voor het controleren van genexpressie. Op transcriptioneel niveau zijn het transcriptiefactoren die deze regulatie uitvoeren. Een interessante transcriptiefactorfamilie in prokaryoten is de Leucine-responsieve Regulatory Protein (Lrp) familie. Deze eiwitten reguleren in het algemeen genen die betrokken zijn bij aminozuurmetabolisme, -transport en virulentie, en ze kunnen interageren met aminozuurliganden in respons op de nutritionele toestand van de cel. Tot op heden is de meerderheid van de Lrp-type regulatoren nog niet gekarakteriseerd, wat een fundamenteel inzicht in Lrp-gemedieerde regulatieprocessen belemmert, evenals de ontwikkeling van transcriptiefactor-gebaseerde toepassingen zoals biosensormodules. Opmerkelijk is dat er een Lrp regulator is gevonden met specificiteit voor β -alanine. β -alanine is een belangrijk tussenproduct in de heterologe productie van het platformmolecule 3-hydroxypropionzuur. Deze relatie tussen een Lrp regulator en een belangrijk microbiel productieproces toont aan dat de Lrp familie een interessante bron kan zijn voor het vinden van β -alanine responsieve regulatoren in de context van biosensorontwikkeling en het verbeteren van productiepathways.

In dit doctoraatsonderzoek werd een methode ontwikkeld voor de screening en initiële karakterisering van Lrp-type regulatoren uit niet-conventionele micro-organismen met als bedoeling om nieuwe β -alanine-responsieve transcriptiefactoren te ontdekken. Een set van 26 transcriptiefactoren en hun voorspelde doelpromotors werden geselecteerd voor *in vivo* analyse in *Escherichia coli*. Een goed doordacht reportersysteem, bestaande uit twee plasmiden, werd ontworpen en gevalideerd voor het klonen en uitdrukken van zowel de transcriptiefactoren als promotors. Door een geautomatiseerd platform te gebruiken werden fluorescentiemetingen uitgevoerd op stammen die elk een transcriptiefactor-promotorpaar bevatten. De expressie van elke transcriptiefactor werd op verschillende niveaus geïnduceerd, om zo de functionaliteit van de heterologe promotors te bepalen, evenals het regulerende effect van de transcriptiefactor. Verder werden reportertesten uitgevoerd in de aanwezigheid van aminozuren, om meer te weten te komen over ligandspecificiteit en -gevoeligheid. Voor één van de β -alanine-responsieve transcriptiefactoren die ontdekt werd in de screening, Ah-BarR van *Acidianus hospitalis*, werd het regulatiemechanisme verder ontrafeld met behulp van *in vitro* experimenten. Verder werd het *in vivo* gedrag van Ah-BarR vergeleken met dat van andere β -alanine-responsieve transcriptiefactoren, al dan niet behorend tot de Lrp-familie, om meer inzicht te krijgen in de β -alanine-interactie.

In conclusie, dit werk leidt niet alleen tot de initiële karakterisering van talrijke Lrp-type regulatoren, maar draagt het ook bij tot de algemene kennis die momenteel beschikbaar is over de Lrp-familie en tot de ontwikkeling van β -alanine-responsieve biosensoren.