SCIENCES & BIOENGINEERING SCIENCES

De Onderzoeksgroup

Organische Chemie (ORGC)

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

Kevin Van holsbeeck

ter behaling van de graad van Doctor in de Wetenschappen

Gezamenlijk doctoraat met Universiteit Gent

Titel van het proefschrift:

Verkleinen van het verkleinde:
Nanobody complementariteitsbepalende regio peptidomimetica

Promotors:
Prof. Dr. Steven Ballet (VUB)
Prof. Dr. José C. Martins (UGent)

De verdediging heeft plaats op
Dinsdag 16 mei 2023 om 17u in aula D.2.01

Samenstelling van de jury

Prof. Dr. Sophie Hernot (VUB, voorzitter)
Prof. Dr. Ulrich Hennecke (VUB, secretaris)
Prof. Dr. Freija De Vleeschouwer (VUB)
Prof. Dr. Annemieke Madder (UGent)
Prof. Dr. Christian Gruber (Medical University of Vienna)
Prof. Dr. Wim De Borggraeve (KU Leuven)

Curriculum vitae

Kevin Van holsbeeck studeerde in 2018 af aan de Vrije Universiteit Brussel als Master of Science in de Chemie met grootste onderscheiding, waarbij twee prijzen behaald werden voor de masterproef. Hierna verkreeg hij een beurs voor strategisch basisonderzoek van het Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek Vlaanderen (FWO) waarmee hij doctoraatsonderzoek uitvoerde bij de Onderzoeksgroep Organische Chemie (ORGC) onder leiding van Prof. Dr. Steven Ballet aan de VUB, in samenwerking met de Onderzoeksgroep NMR en Structuuranalyse (NMRSTR) van Prof. Dr. José C. Martins aan de Universiteit Gent. Via een onderzoeksverblijf in Frankrijk, medegefinancierd door een reisbeurs van het FWO, werkte hij samen met Dr. Nicolas Floquet aan het Institut des Biomolécules Max Mousseron in Montpellier (Frankrijk). Hij publiceerde één review en was co-auteur van zes wetenschappelijke papers in peer-reviewed internationale tijdschriften, waaronder drie als (gedeelde) eerste auteur. Hij presenteerde zijn werk op meerdere (inter)nationale conferenties. Daarnaast begeleidde hij drie masterstudenten en een stagestudent. Bovendien was Kevin betrokken bij het geven van practica aan bachelor- en masterstudenten.

Samenvatting van het doctoraatsonderzoek

Antilichamen vormen een belangrijke familie van geneesmiddelen dankzij hun hoge affiniteit en specifieke bindingseigenschappen. Ze hebben echter verschillende nadelen, zoals hoge productiekosten en beperkte cellulaire toegang, vanwege hun moleculaire architectuur en hoog moleculair gewicht. Om deze redenen werden verkleinde, functionele antilichaamfragmenten ontwikkeld, waaronder de populaire enkelvoudige, variabele domeinen van de zware antilichaamsketens, genaamd nanobodies (Nbs). Ondanks de tienvoudige verkleining in vergelijking met klassieke antilichamen kunnen Nbs een vergelijkbare en dus gunstige hoge affiniteit en specificiteit voor antigenen bereiken.

Terwijl de antigeenbindende regio's van een klassiek antilichaam gecentreerd zijn rond zes verschillende complementariteitsbepalende regio's (CDRs), heeft een Nb slechts drie CDRs beschikbaar voor interactie met een antigeen, wat resulteert in een compacter interactieoppervlak in vergelijking met klassieke antilichamen. Daarom werd de mogelijkheid overwogen om deze Nbs nog verder te verkleinen door laag-moleculair gewicht peptiden te synthetiseren op basis van de CDR-sequenties. Deze peptiden kunnen (mogelijk) beschouwd worden als meer kosteneffectieve entiteiten voor gebruik als medicijnen vanwege lagere productiekosten en immunogene effecten, gecombineerd met een grotere intracellulaire toegankelijkheid.

Om de biologische uitkomsten na te bootsen door peptiden die structureel zijn afgeleid van Nb CDR-sequenties, werden negen Nbs die interageren met vijf verschillende doelwitten overwogen: een eiwit-eiwitinteractie, een G eiwit-gekoppelde receptor, een eiwitkinase, bacteriën en bètacoronavirussen. Bij alle pogingen werden peptiden die de CDR1-3 sequenties vertegenwoordigen gesynthetiseerd en geëvalueerd in biochemische en/of *in vitro* experimenten om hun potentiële interactie met de beschouwde Nb-antigenen te beoordelen. Bovendien werd aangenomen dat cyclische peptiden de flexibiliteit van lineaire peptiden beperken en (mogelijk) structureel de CDR-lussen van Nbs nabootsen. In twee gevallen werd (gedeeltelijke) functionele nabootsing waargenomen: (i) Nb14 CDR3-mimetica waren in staat om de nucleotide-uitwisselingsactiviteit van RAS-eiwitten te verbeteren door interactie met SOS1:RAS en dit met een vergelijkbare werkingswijze als het oorspronkelijk Nb, en (ii) NbD4 CDR3-bevattende peptiden waren in staat om te interageren met het membraan van levende *A. baumannii*-bacteriën, in tegenstelling tot het oorspronkelijk Nb dat fixatie van de bacteriën vereiste. De eerste casestudy profiteerde vooral van een Nb dat interageerde met een enkele dominante CDR-lus, die zich bindt in een duidelijk afgebakende bindingsholte. In conclusie werd aangetoond dat het verkleinen van een Nb naar kleinere synthetische peptiden op basis van zijn CDRs in bepaalde gevallen haalbaar is, hoewel grote afnames in bindingsaffiniteit of doeltreffendheid over het algemeen werden waargenomen in de eerste gesynthetiseerde reeksen. Toekomstige inspanningen zullen ontrafelen tot welke doeltreffendheid dergelijke mimetica kunnen worden ontwikkeld door structurele aanpassingen.