

University of Groningen

## Structure-function relationships in type I signal peptidases of bacilli

Roosmalen, Maarten Leonardus van

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2001

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Roosmalen, M. L. V. (2001). *Structure-function relationships in type I signal peptidases of bacilli*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# **Structure - Function Relationships in Type I Signal Peptidases of Bacilli**

**MAARTEN L. VAN ROOSMALEN**

## Cover art

### Front:

The illustration represents the signal peptidase (SPase) SipS of *Bacillus subtilis*, embedded in a lipid bilayer membrane. The SPase, which removes signal peptides from secretory pre-proteins, is depicted as a molecular surface colored for electrostatic potential. The catalytic site of the SPase contains a pentapeptide modeled into the S1 and S3 substrate binding pockets of the enzyme (atoms shown as spheres). SipS was modeled on the crystal structure of the homologous *Escherichia coli* SPase. The membrane is re-produced from a molecular dynamics simulation of a 1-palmitoyl 2-oleoyl phosphatidyl choline bilayer (H. Heller *et al.*, 1993; *J. Phys. Chem.* 97:8343-60). The image was raytraced with a version of the PovRay 3.1 program, adapted for parallel processing. The SipS model was used to visualize differences between major and minor SPases of *Bacillus* species (see Chapter 5), and to explain the properties of several SipS mutants as described in Chapter 6 of this thesis.

### Back:

A color representation of the stereographic picture in Fig. 5.5 (Chapter 5, page 68).

The studies described in this thesis were carried out in the Molecular Genetics group of the Groningen Biomolecular Sciences and Biotechnology Institute (GBB) of the University of Groningen, The Netherlands, and was financially supported by the Dutch Ministry of Economic Affairs through ABON (Associatie Biologische Onderzoeksscholen Nederland) and by Prof. Dr. Gerard Venema.

Printed by PrintPartners Ipskamp, Enschede (2001).

**RIJKSUNIVERSITEIT GRONINGEN**



# **Structure - Function Relationships in Type I Signal Peptidases of Bacilli**

Proefschrift

ter verkrijging van het doctoraat in de  
Wiskunde en Natuurwetenschappen  
aan de *Rijksuniversiteit Groningen*  
op gezag van de  
Rector Magnificus, dr. D.F.J. Bosscher,  
in het openbaar te verdedigen op  
vrijdag 21 september 2001  
om 16.00 uur

door

**Maarten Leonardus van Roosmalen**

geboren op 15 augustus 1969  
te Geldrop

Promotor: Prof. Dr. G. Venema  
Co-promotor: Dr. S. Bron  
Referent: Dr. J.M. van Dijn

Promotieadviescommissie: Prof. Dr. C.R. Harwood  
Prof. Dr. A.J.M. Driessen  
Prof. Dr. W.J. Quax

# CONTENTS

	<b>Voorwoord</b>	3
Chapter 1	<b>Introduction</b>	5
Chapter 2	<b>Detergent-Independent <i>in vitro</i> Activity of a Truncated <i>Bacillus</i> Signal Peptidase.</b>	23
Chapter 3	<b>A Truncated Soluble <i>Bacillus</i> Signal Peptidase Produced in <i>Escherichia coli</i> is Subject to Self-Cleavage at its Active Site.</b>	33
Chapter 4	<b>Functional Analysis of the Secretory Precursor Processing Machinery of <i>Bacillus subtilis</i>: Identification of a Eubacterial Homolog of Archaeal and Eukaryotic Signal Peptidases.</b>	43
Chapter 5	<b>Distinction between Major and Minor <i>Bacillus</i> Signal Peptidases Based on Phylogenetic and Structural Criteria.</b>	61
Chapter 6	<b>Inventory of Determinants for Signal Peptidase Activity Located in the Membrane Anchor Domain of SipS of <i>Bacillus subtilis</i>.</b>	71
Chapter 7	<b>Summary and General Conclusions</b>	83
	<b>Nederlandse samenvatting en algemene conclusies</b>	87
	<b>List of Publications</b>	90
	<b>References</b>	91



# Voorwoord

Klaar, af, gereed, voltooid, afgerond en voor mekaar. Voor je ligt een boekje waar ik vreselijk trots op ben. Terwijl mijn printer zoemend de laatste hoofdstukken uitspuugt, ben ik aan het nadenken wie ik hiervoor allemaal mag bedanken. Dat ik hierbij mensen ga vergeten weet ik nu al, dus bij deze: jullie worden bedankt!

Het begon allemaal tijdens mijn doctoraal onderwerp bij de vakgroep moleculaire genetica. Men zocht iemand die kon werken met enzymen en daarnaast beschikte over enige affiniteit met informatica. Zo begon ik als AIO aan de taak hét signaal peptidase van de bacterie *Bacillus subtilis* (toen was er nog maar één SPase bekend) te zuiveren en te karakteriseren. Dat deed ik gelukkig niet in mijn eentje, maar samen met de andere leden van het Secretie Dream Team (SDT): Jan Jongbloed, Harold Tjalsma en Albert Bolhuis. Heren, met jullie heb ik een fantastische tijd gehad. Ik heb genoten van jullie Noordelijke humor en ik heb mijn best gedaan daar een Brabants accentje aan te geven. Jan, mijn 'matching project', met jou heb ik het meest samengewerkt en vele hoofdstukken zijn dan ook mede dankzij jouw inspanning ontstaan. Harold, bij jou kon ik altijd terecht voor 'dat ene figuurtje', in welke jij het onderzoek altijd zo helder wist samen te vatten. Albert, bij jou heb ik leerzaam toegekeken hoe de meest rare experimenten tot een goed einde volbracht werden. Zonder jouw pakketje antibodies was hoofdstuk 6 waarschijnlijk gestrand.

Jan Maarten, ik mag wel zeggen dat jij als 'oprichter' van het SDT en bron van kennis en enthousiasme de stuwende kracht bent geweest achter het gereedkomen dit proefschrift. In donkere tijden ben jij samen met Sierd in staat geweest mij naar de eindstreep te leiden. Sierd, jij als vaderfiguur voor je AIO's, bedankt dat je deur altijd open stond. Het internationale karakter van onze secretie groep is geheel aan jou te danken. Hierbij mag ik zeker ook 'papa' Venema niet nalaten te bedanken. Gerard, jouw devotie voor de wetenschap is ontzagwekkend, maar waarschijnlijk nog groter is je compassie met de wetenschappers zelf.

Mijn studenten Marco en Paolo, mijn volontair Jaap en mijn analiste Anneke: ontzettend bedankt voor al jullie werk en geloof maar dat ik van jullie erg veel geleerd heb! Arie, ik heb wel eens gezegd dat jij voor de vakgroep je gewicht in goud waard bent. Misschien moet je dan wat afslanken, maar ik zal er niet ver naast zitten. Voor mij ben je in ieder geval een gouden vent die altijd in was voor een praatje. Dit is ook waar voor Peter en Cees, als er nog snel even iets in het isotopenlab moest gebeuren dan kon dat altijd.



Het leven op het lab zou heel anders geweest zijn zonder Elise en Caroline. Om zonder glimlach op je smoel met jullie een Nederlands gesprek met Frans accent te voeren is onmogelijk. Elise, jij bent met je ongeduldigheid, charme, sociale houding en verrassend groffe humor (als er niemand anders bij is) een gift uit het Zuiden. Caroline, jij wordt niet voor niets 'the sunshine of the lab' genoemd. Thanks for the gossip!!

Arno, jouw manier om dingen 'to the point' te zeggen, heeft mij niet alleen geholpen bij mijn onderzoek, maar heeft mij ook een betere kijk op mijzelf gegeven. Als vriend heb je mijn leven net zo kleurrijk gemaakt als je truien. Chris, bedankt voor je onvoorwaardelijke hulp bij de laatste loodjes. Samen met jullie, Flo, Marco, Ernst, Jan, Sven, Henri, Erik en Marcel heb ik vele avont(d)uren beleefd. Van de vaste spelletjesavond met Eelco, Jantien, Hendrik-Jan, Odilia en de kids werd altijd dankbaar gebruik gemaakt om de dingen op het lab nog eens te relativieren. Bedankt voor alle steun. Ook de DVD avonden met Chris 'actie', Arno 'crazy' en Leendert 'deze klassieker MOET je gezien hebben' hebben mijn relativerend vermogen op de proef gesteld. Jullie hebben me aardig geholpen de promotiestress af en toe te vergeten. Er is echter niets wat hier beter tegen helpt dan zweefvliegen. De mensen die deze teamsport voor mij mede mogelijk hebben gemaakt, dank ik uit de grond van mijn hart.

Mijn ouders wil ik ten zeerste bedanken voor de gelegenheid die zij mij hebben gegeven het traject naar een promotie te starten en te voltooien. Mijn vader is in dat opzicht erg belangrijk geweest voor de begeleiding bij het maken van de goede keuzes en voor het vertrouwen in mijn kunnen. Mijn moeder, helaas te jong gestorven, heeft haar eigen ambities veronachtzaamd om haar kinderen een goede basis voor hun leven te geven. Van haar heb ik duidelijk mijn 'wetenschappelijke genen' gekregen. Ik moest altijd spullen in het magazijn kopen voor haar onderzoek aan de Nederlandse mossenpopulatie.

Inge, jij hebt het allemaal meegemaakt vanaf onze studententijd. De liefde die ik van jou gekregen heb is onbegrensd. Jij bent voor mij het vertrouwde thuis en een motiverende factor. Altijd begripvol als ik weer eens een proefje wilde afmaken of een weekendje wilde zweefvliegen. Ik weet dat er met het gereedkomen van dit proefschrift ook een last van jouw schouders valt. Je bent de moeder van onze pas geboren dochter en ons leven gaat er nu ongetwijfeld nog kleurrijker uitzien. Samen met jou ga ik al deze veranderingen met het volste vertrouwen tegemoet!

*Iedereen bedankt!*  
*Maarten*