

RIJKSUNIVERSITEIT GRONINGEN

**STUDIES ON THE BACTERIAL PROTEIN
CONDUCTING PORE**

THE SecYEG COMPLEX

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 19 mei 2000
om 14.15 uur**

door

Christiaan van der Does

**geboren op 18 september 1967
te Den Haag**

Promotor : Prof. dr. A.J.M. Driessen

Leescommissie : Prof. dr. W.N. Konings

Prof. dr. B. Dijkstra

Prof. dr. B. Poolman

ISBN : 90-367-1228-9

Voorwoord

Zoals altijd wordt het voorwoord als laatste geschreven. Heel toepasselijk, 's avonds laat op het lab. Het heeft een tijd geduurd, maar het zit er bijna op. Het is een stuk werk geworden waar ik heel trots op ben. Ik heb het zeker niet alleen gedaan, en ik wil proberen de mensen die de laatste jaren een bijdrage aan het proefschrift geleverd hebben hier te bedanken.

Ten eerste mijn promotor, Arnold. Een betere begeleider had ik me niet kunnen wensen. Je had altijd tijd als er weer eens iets besproken moest worden. Je hebt me kunnen motiveren toen het onderzoek de eerste jaren niet liep, en je was er ook altijd als ik weer eens veel te vroeg enthousiast je kamer binnen kwam rennen met een nieuw resultaat. Je hebt me altijd vrij gelaten als ik weer eens wat nieuwe ideeën had, en je wist tevens de goede richting aan het onderzoek te geven als ik weer eens veel te veel projecten had opgestart. Daarnaast stond je altijd klaar om even een figuur af te maken of te verbeteren als ik weer eens te druk op het lab bezig was.

Daarnaast Wil Konings. Ik ben blij dat ik de laatste jaren onderzoek heb kunnen doen bij een van de beste groepen van Nederland. Dat we een van de betere groepen zijn, is zeker te danken aan de mensen zoals Arnold, Bert en Juke die je binnen de groep hebt weten te houden, en de 'We beginnen hier om negen uur' mentaliteit binnen de groep. Ook Bert Poolman en Juke Lolkema dank ik voor hun bijdragen.

De leden van de leescommissie bedank ik voor het snelle goedkeuren van het proefschrift.

Naast de begeleiding is het meeste werk natuurlijk verricht aan de labtafel. Hiervoor moet vooral mijn paranimfen Andreas en Erik bedanken. We waren drie verschillende persoonlijkheden, maar een erg goed team. Andreas, ik zal je ongelovelijke klonerschema's en het 'French Pressen' met een motorhelm op nooit vergeten. Erik, vaak kwam je met de experimenten die de resultaten weer net iets mooier maakten, en samen hebben de proeven toch nog af gekregen. Next to Erik and Andreas, I should also thank Andreas Engel and the people working in his group in the Biozentrum in Basel. Herve Remigy is thanked for the enormous effort he put in the electron microscopy and single particle alignment described in chapter 6.

Lange dagen zijn ook gemaakt door de studenten die bij mij een onderwerp deden, Nancy, Marco, John en Andreas. Ik heb jullie met plezier begeleid, en jullie hebben belangrijke bijdragen aan dit proefschrift geleverd. Daarnaast wil ik de mensen waarmee ik het meeste contact gehad heb bedanken : Andreas, Dirk-Jan (Nederlandse samenvatting) , Gert, Jack (de tips voor de layout), Janny (zonder wie alles vast zou lopen), Jeanine, Jelto (mijn kamergenoot), Karel, Marieke, Nico en Martin (bedankt voor het nakijken van het proefschrift), Paolo, Sonja K., Titia, Tanneke (dank je voor de steun in de eerste jaren) en Wim (bedankt voor je bijdrage aan hoofdstuk 4). Ik besef dat ik met het noemen van bovenstaande namen vele mensen, zeker uit de eerste jaren op het lab vergeten ben. Het is haast onmogelijk om alle mensen waar ik een leuke tijd mee gehad te noemen. Daarom wil ik hierbij in één zin alle mensen die in de groep Moleculaire Microbiologie hebben rondgelopen, de mensen van het secretariaat, de keuken en het isotopenlab bedanken !!

Niet alleen de mensen van het lab zijn de laatste jaren erg belangrijk geweest. Medebewoners van Chopinlaan '3 Noord' zijn bijna allemaal goede vrienden geworden. Ze begrepen dat 'witte' bacterieën een goeie dag op het lab betekende, en dat ik van blauwe bacterieën niet erg vrolijk werd. Nadat iedereen van de flat verhuisd was, hebben we toch nog goed contact gehouden, en is de groep van mensen waarmee we nog regelmatig 'wandelen en spelletjes' week-einden/avonden houden, of gewoon een avondje bij elkaar komen om bij te praten, steeds groter geworden. Ik hoop dat ik de komende tijd minder vaak af zal moeten zeggen omdat het weer eens te druk is.

Hetzelfde geldt voor Frank, Michiel en Rogier in Delft. Hele goede vrienden die ik de laatste jaren eigenlijk te weinig heb gezien. Misschien de komende tijd weer.

Iedereen die mij kent weet hoe belangrijk basketbal voor mij is geweest. Alweer mijn 6e jaar by Groene Uilen, in drie heel verschillende teams. Veel lol gemaakt, veel mooie, veel goede en ook slechte wedstrijden gespeeld. Veel geleerd van trainers en medespelers. Ik had het niet kunnen en willen missen.

Natuurlijk moet ik hier ook Margit noemen. Een groot deel van deze promotie zijn we 'bij elkaar' geweest, en als iemand heeft moeten leiden onder het labwerk dan ben jij het wel geweest. Het is een fijne tijd geweest, maar het is helaas toch fout gegaan. Gelukkig zijn we als vrienden uit elkaar gegaan.

Lieve paps en mams, de belangrijkste rol is voor jullie geweest. Jullie hebben me altijd gestimuleerd om zo ver mogelijk door te gaan. Door jullie heb ik altijd zorgeloos door kunnen studeren. Ik wilde altijd graag promoveren, en dat is nu (bijna) gelukt. Helaas dat mams het allemaal niet mee heeft mogen maken. Dit boekje draag ik daarom aan jullie op.

Tenslotte Sonja, het is nog niet zo lang, maar ik hoop dat je weet wat ik voor je voel. Bedankt voor je hulp bij de laatste loodjes. Ik zie de toekomst met vertrouwen tegemoed !

Tenslotte wilde ik alleen nog zeggen,

Bedankt allemaal,
Chris



Dit proefschrift draag ik op
aan mijn vader en mijn moeder

Contents

Chapter 1		9
	Introduction	
Chapter 2		43
	SecA is an intrinsic subunit of the <i>Escherichia coli</i> preprotein translocase and exposes its carboxyl-terminus to the periplasm	
Chapter 3		57
	Interaction between SecA and SecYEG in micellar solution and formation of the membrane-inserted state	
Chapter 4		73
	Non-bilayer lipids stimulate the activity of the reconstituted bacterial protein translocase	
Chapter 5		85
	Cysteine-directed crosslinking demonstrates that helix 3 of SecE is close to helix 2 of SecY and helix 3 of a neighboring SecE	
Chapter 6		101
	SecYEG assembles into a tetramer to form the active protein translocation channel	
Chapter 7		117
	Summary and concluding remarks	
Chapter 8		123
	Nederlandse samenvatting	
Chapter 9		128
	References	
Chapter 10		142
	List of publications	

