

University of Groningen

Regulation of Rap1 signaling during Dictyostelium chemotaxis and development

Liu, Youtao

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:

2016

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

Citation for published version (APA):

Liu, Y. (2016). *Regulation of Rap1 signaling during Dictyostelium chemotaxis and development*. University of Groningen.

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).

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.

Samenvatting

Migratie van cellen in een concentratie-gradient van moleculen (chemoattractant) wordt door wetenschappers ook wel chemotaxis genoemd. Chemotaxis is een veel voorkomend fenomeen dat van groot belang is voor bijna elk organisme. Bacteriën gebruiken bijvoorbeeld chemotaxis om voedsel te vinden en er vervolgens naar toe te zwemmen. Chemotaxis is in meercellige organismen essentieel voor embryonale ontwikkeling, voor het bewegen van sperma cellen naar een eicel tijdens bevruchting en in het menselijk lichaam voor het genezen van wonden (met name door migratie van fibroblasten) en de immuunrespons (met name door fagocytose door witte bloed cellen). Als we exact begrijpen hoe chemotaxis plaatsvindt en gereguleerd wordt, dan kunnen we dus beter begrijpen hoe ons immuun systeem functioneert. Dit is extra belangrijk omdat afwijkingen of defecten in chemotaxis geassocieerd zijn met de ontwikkeling van verschillende ziekten.

Voornamelijk menselijke neutrofielen en de amoëbe *Dictyostelium discoideum* worden gebruikt om het mechanisme van chemotaxis in detail te bestuderen. In voedselrijke omstandigheden leeft *Dictyostelium* als een eencellige amoëbe van bacteriën (vegetatieve groei), maar bij voedselschaarste veranderen de cellen naar een meercellig ontwikkelingsstadium. Voedselgebrek induceert de productie en de secretie van cAMP. De naburige cellen detecteren dit cAMP en bewegen ernaar toe (chemotaxis) wat resulteert in de formatie van een meercellig organisme (aggregaat). De cellen in het aggregaat ontwikkelen zich tot ofwel ondersteunende cellen (“stalks”) die een steeltje vormen ofwel tot sporen die slechte omstandigheden kunnen overleven. *Dictyostelium* is een uitstekend modelorganisme om chemotaxis te bestuderen en daardoor inzicht te krijgen in chemotaxis van menselijke neutrofielen, niet alleen omdat de levenscyclus van *Dictyostelium* dus afhankelijk is van chemotaxis, maar vooral ook omdat het onderliggende mechanisme van chemotaxis geconserveerd is in vele eukaryoten.

Chemotaxis wordt geïnitieerd door binding van een chemoattractant aan een receptor op de celmembraan. In het geval van *Dictyostelium* betreft dit foliumzuur of cAMP dat bindt aan G-eiwit gekoppelde receptoren. De receptoren zetten het signaal door aan de binnenkant van de cel, wat leidt tot de activering van een complex netwerk van samenwerkende signaleringspaden. Voor *Dictyostelium* chemotaxis zijn minimaal drie groepen van eiwitten nodig: receptoren (“GPCRs”), grote G-eiwitten (“heterotrimeric G-proteins”) en kleine G-eiwitten van de Ras familie (“small G-proteins”). In dit promotieonderzoek heb ik me

voornamelijk geconcentreerd op het karakteriseren van Rap1, een eiwit dat behoort tot de Ras familie.

Rap1 is een zeer efficiënte moleculaire schakelaar dat een belangrijke rol speelt bij een groot aantal cellulaire processen. Rap1 heeft of een GTP- of een GDP- molecuul gebonden, wat de actieve, respectievelijk inactieve toestand weerspiegelt. Om te schakelen tussen de actieve en inactieve toestand zijn regulerende eiwitten nodig. Ondanks intensief onderzoek waren de regulerende eiwitten voor Rap1 activering tijdens chemotaxis nog onbekend. In dit proefschrift heb ik vier nieuwe eiwitten, zogenaamde GEFs (“Guanine exchange factors”), ontdekt en gekarakteriseerd die *Dictyostelium* Rap1 kunnen activeren. Deze GEFs, genaamd Gf1B, GefL, GefQ en GbpD, versnellen de uitwisseling van een GDP molecuul voor een GTP molecuul. De vier GEFs activeren Rap1 gedurende verschillende stadia in de levenscyclus van *Dictyostelium* en reguleren zo gezamenlijk alle verschillende functies van Rap1 in *Dictyostelium*. Mijn resultaten laten zien dat activatie van de chemotaxis receptor resulteert in de onmiddellijke lokalisatie van de GEFs (voornamelijk Gf1B) naar de voorkant van de cel. Dit resulteert er vervolgens in dat Rap1 specifiek geactiveerd wordt aan de voorkant van de cel. Deze verhoogde Rap1 activatie resulteert in actine pootjes (“pseudopods”) aan de voorkant en tegelijk zorgt het verdwijnen van actief Rap1 aan de zijkant en achterkant van de cel ervoor dat daar geen pootjes uitgestoken kunnen worden. Dit proces leidt gezamenlijk tot efficiënte beweging naar de chemoattractant. Tijdens chemotaxis vormt Rap1 dus een brug tussen receptor activering aan de buitenkant van de cel in veranderingen van het cytoskelet aan de binnen kant van de cel.

Mijn promotieonderzoek heeft een belangrijk nieuw puzzelstukje opgeleverd voor het begrijpen van het complexe mechanisme van chemotaxis en kan daarnaast een aanknopingspunt zijn voor nieuw en spannend onderzoek in zowel *Dictyostelium* als menselijke cellen.