

VU Research Portal

Elasticity of Biomolecules

Baclayon, M.

2014

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Baclayon, M. (2014). *Elasticity of Biomolecules: probing, pushing and pulling using atomic force microscopy*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

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.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse Samenvatting

Elasticiteit van biomoleculen: voelen, duwen en trekken met de atoomkrachtmicroscop

De elasticiteit van biomoleculen zoals DNA, eiwitten, colloïdes en virussen zijn bestudeerd met een atoomkrachtmicroscop (AFM, van het engelse atomic force microscope): een combinatie van beeldvorming met krachtspectroscopie. De AFM kan worden vergeleken met een blindenstok: door met een flexibele hefboom met een hele scherpe punt het oppervlakte af te tasten kan een topografische afbeelding van het oppervlakte gemaakt worden. Met zeer nauwkeurige piëzo-electrische scanners kunnen zo biomoleculen afgebeeld worden met een resolutie van beter dan een nanometer (1/1000 000 000e van een meter). Als contactmicroscop kan de AFM ook gebruikt worden om kracht uit te oefenen door op een monster te drukken of eraan te trekken. Tegelijkertijd kan de kracht gemeten worden door de afbuiging van de hefboom te meten. Door zeer flexibele hefbomen te gebruiken, kan met de AFM een kracht van een paar piconewton (1/1 000 000 000 000e van een newton) uitgeoefend en gedetecteerd worden.

Ik heb de AFM als beeldvormingstechniek gebruikt om te bestuderen hoe DNA gecompacteerd wordt door TFAM, een eiwit dat replicatie en transcriptie in mitochondriën beïnvloedt, ik heb gekeken hoe radioactieve en fluorescente labels het formaat en de opname van nanocolloïdische albumines beïnvloeden in het detecteren van tumoren en ik heb gekeken hoe de schaal van het Norovirus spontaan uiteenvalt en weer assembleert in virusachtige deeltjes.

Uit de afbeeldingen van DNA-moleculen bij verschillende TFAM-concentraties hebben we afgeleid dat de fysiologische concentratie van TFAM binnen een smalle band valt waarbij zowel bijna naakte als gecompacteerde DNA moleculen bestaan. Dit suggereert dat TFAM zich gedraagt als een regulatiefactor door het aantal mitochondriale DNA-moleculen dat beschikbaar is voor regulatie en transcriptie te controleren. De AFM-afbeeldingen laten zien dat de labeling van nanocolloïdische albumines met

^{99m}Tc , ^{89}Zr en IRDye 800CW het formaat en de opname van de bolletjes door kankercellen niet beïnvloedt. Deze bevestiging opent de weg naar nieuwe technieken zoals PET-scan en fluorescentiemicroscopie voor beeldvorming en diagnosticering van tumoren. AFM-afbeeldingen van Norovirusachtige deeltjes laten zien dat deze deeltjes in een zuur milieu ($2 < \text{pH} < 8$) een diameter van 38 nm hebben met $T=3$ icosahidrale symmetrie, maar als ze met een base behandeld worden ($8 < \text{pH} < 10$) omkeerbaar uit elkaar vallen tot deeltjes van 24 nm in doorsnede met $T=1$ symmetrie. Deze resultaten suggereren dat het vermogen van een virus om uit elkaar te vallen en weer te assembleren in een breed bereik van pH-condities bevorderlijk is om de fluctuerende pH tijdens de infectieroute van orale opname tot fecale uitscheiding te weerstaan. Daarbij kan deze ontdekking nuttig zijn bij het ontwikkelen van vaccins tegen gastro-enteritis of buikgriep en de ontwikkeling van nieuwe manieren om medicijnen op de juiste plaats in het lichaam te krijgen.

Met de AFM als een krachtspectrocoop heb ik de elastische eigenschappen en stevigheid van het Norovirus onderzocht door op de deeltjes te duwen. Daarnaast heb ik door met de AFM-tip te trekken aan eiwitten die op het oppervlak vast zaten het door eiwitvouwing gedreven uitscheidingsmechanisme van *E. Coli* autotransporteiwit Hbp bestudeerd.

De resultaten van de nanoindentatie van Norovirusachtige deeltjes liet zien dat het uitstekende domein van de capsid een voorspanning introduceert waardoor het natuurlijke deeltje stijver en brozer is dan een mutant zonder het uitstekende domein. Dit resultaat suggereert dat het virus tijdens zijn infectiecyclus continu een voorspanning heeft zodat de stabiliteit bevorderd wordt. Deze voorspanning zou het loslaten van het genoom tijdens het binden van het virus aan het oppervlak van de gastheercel.

De experimenten waarbij Hbp ontvouwen wordt laten zien dat er specifieke delen zijn in de spiraalvormige structuur van het eiwit die bestand zijn tegen het ontvouwen. Dit zijn de spiralen dicht bij de C-terminus waar de meeste begraven aromatische residuen op elkaar gestapeld zijn. Dit suggereert dat deze spiralen een mechanisch sterke en stabiele conformatie creëren die kan dienen als ankerpunt voor het vouwen, waardoor de translocatie van het eiwit geïnitieerd wordt. Dit resultaat is in overeenstemming met het door vouwing gedreven uitscheidingsmodel van Hbp, waar de aantrekkende interactie tussen gestapelde aromatische residuen zorgt voor de achtereenvolgende en processieve vouwing van het eiwit aan het oppervlak van het buitenste membraan, waardoor het eiwit zichzelf naar buiten trekt. Dit resultaat schijnt nieuw licht op dit ATP-en protongradiëntonafhankelijke translocatieproces, wat nuttig kan zijn in het ontwikkelen van behandelingen gericht op toxinen die geproduceerd worden door Gramnegatieve bacteriën.