

University of Groningen

## AcmA of *Lactococcus lactis*, a cell-binding major autolysin

Buist, Girbe

**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:*

1997

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

*Citation for published version (APA):*

Buist, G. (1997). *AcmA of Lactococcus lactis, a cell-binding major autolysin*. 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.

Rijksuniversiteit Groningen

***AcmA of *Lactococcus lactis*,***  
**A Cell-binding Major Autolysin**

Proefschrift

ter verkrijging van het doctoraat in de  
Wiskunde en Natuurwetenschappen  
aan de Rijksuniversiteit Groningen  
op gezag van de  
Rector Magnificus Dr. F. van der Woude,  
in het openbaar te verdedigen op  
vrijdag 12 december 1997  
des namiddags te 14.45 uur

door

**Girbe Buist**

geboren op 29 november 1964  
te Zevenhuizen

Promotor: Prof. Dr. G. Venema

Referent: Dr. J. Kok

## Voorwoord

Na bijna 9 jaar binnen de onderzoeksgroep Moleculaire Genetica werkzaam te zijn geweest is het gelukt. De laatste woorden nog intoetsen en een eigen stukje onderzoek is afgerond. Veel begeleiding, ondersteuning, samenwerking, inzet, een dosis geluk en heel veel plezier zijn hierbij van belang geweest. Het begon begin 1989, toen ik met een beetje geluk een aanstelling als analist binnen de lactococce groep wist te bemachtigen. Ik ging werken met de bacterie *Lactococcus lactis* onder begeleiding van Jan Kok, met als doel de smaak van kaas te verbeteren. Een leuke baan met veel zelfstandigheid, binnen een goede en gezellige onderzoeksgroep. Na twee jaar meegedraaid te hebben wilde ik zelf de volledige verantwoordelijkheid dragen voor een stukje onderzoek; ik wilde Assistent In Opleiding worden. Aangezien ik geen universitaire studie had voltooid en dit financieel niet meer haalbaar was, ben ik op zoek gegaan naar een andere mogelijkheid. Samen met Jan Kodde, destijds ook analist binnen de lactococce groep, heb ik de stoute schoenen aangetrokken en Prof. G. Venema gevraagd om een aanstelling als AIO. Jan Kodde vond vrij snel daarna een andere baan en ik bleef geduldig wachten op antwoord. Ik moet destijds Alfred Haandrikman en Jan Kok de oren van het hoofd hebben gevraagd omtrent het antwoord van Prof. G. Venema. Tenslotte kwam hij persoonlijk, ergens op een namiddag voor de kerst van 1991, even bij mij langs om te vertellen dat ik per 16 februari zou kunnen beginnen. Ik werd AIO en mocht voor Unilever de autolyse van lactococce gaan onderzoeken.

Gerard, heel erg bedankt dat je dit experiment met mij aandurfde. Jouw vertrouwen en kritische beoordeling hebben bijgedragen tot dit geslaagde resultaat.

Jan, jou wil ik naast het vertrouwen graag bedanken voor het feit dat jij altijd tijd hebt vrijgemaakt voor overleg. Al ligt je bureau nog zo vol, de aandacht voor de medewerkers staat altijd op de eerste plaats. Altijd enthousiast reageren op nieuwe ontdekkingen en meedenken over een verdere aanpak. Tevens weet jij bij een werkbepreking, discussie, of het nabespreken van een manuscript vaak direct de kern te raken waardoor het eindresultaat zo goed mogelijk wordt. Ook wil ik jou en Gerard bedanken voor het geven van ruimte om andere gebieden, naast de autolyse van lactococce, te mogen onderzoeken.

Alfred, jouw ondersteuning gedurende de beginfase van het project is belangrijk geweest voor het slagen van dit onderzoek. Het idee van jou om mijn 'bijna' complete genoom bank van *Lactococcus* zo categorisch te bewaren heeft ervoor gezorgd dat niet alleen ik maar velen binnen de lactococce groep vrij eenvoudig genen hebben kunnen kloneren. Verder zal ik mijn eerste buitenlandse congres, de risk-avonden en de taartcompetitie nooit vergeten. Kees, jou hulp en samenwerking ervaar ik tot op de dag van vandaag als erg plezierig.

Arjen, Harma en Jan Willem onze samenwerking is gedurende de gehele onderzoeksperiode erg leuk en goed geweest. Het slagen van ons project 'het maken van verschillende induceerbare lysis-systemen' is niet alleen het resultaat van onze wetenschappelijke samenwerking. Ook de sfeer, het uitwisselen van meningen over wereldse gebeurtenissen en ondersteuning in ons leeskamertje heeft hier een belangrijke rol in gespeeld. Mede hierdoor ontstonden met elk van jullie diverse samenwerkingen in verschillende activiteiten zoals een jaartje PV, het maken van primers, het gezamenlijk doorbrengen van vakanties tot het organiseren van een geslaagd AIO/OIO-symposium. Met de overige organisatoren Jack, Rob en Sytse is hieruit een mooie traditie ontstaan van een wekelijks etentje gevolgd door een sneak-preview. Jullie bedankt voor de gezellige avonden waardoor wetenschap een breder perspectief krijgt.

Blandine, Igor, Anne, Michiel en Harma jullie hebben gezorgd voor een sociale sfeer op labzaal 42. Het gebruik maken van elkaars oplossingen, materialen, kennis en het gezamenlijk schoonmaken is zeer prettig (geweest). Anne, bedankt voor het oplossen en uitleggen van computer problemen, het aandragen van nieuwe technieken en het bijna dagelijks verzorgen van koffie met koekjes. Igor, de rust die jij altijd uitstraalt heb je op mij over weten te dragen en die hoop ik nooit meer te verliezen. Mags en Michiel, sorry dat de publieke computer op onze leeskamer zo lang mijn persoonlijke computer is geweest.

I like to thank the students Magda, Jochem, Tomasz, Hella, Ruud, and Harmen for working with me. For me it was a pleasure to work with all of you and to try to stimulate you in doing research.

I also want to thank the other (ex-) members of the lactococcal group: Jos v/d V., Maarten, Jan, Marco, Balthasar, May Bente, Soile, Jos S., Koen, Michael, Gabi, Marion, Albert, Krystyna, Jean, Bertus, Letta, Eric, Hans, Douwe, Marisa, Christian, Roelke, Patricia, Anne, Mario, and Manollo for your pleasant cooperation and help before and during my doctoral research.

Alhoewel de totale integratie tussen de lactococcen en de bacillen nog steeds niet is gelukt is elke uitwisseling van informatie, vaak tijdens sport, labuitjes en borrels, van belang geweest voor het oplossen van problemen, het aandragen van ideeën en het goed laten functioneren van het lab. Daarom wil ik ook iedereen van de andere kant van de branddeur bedanken.

Naast dit alles is de ondersteuning van Arie, Mozes en Peter vanuit de keuken essentieel geweest. Dit geldt niet alleen voor het bestellen van producten, het schone glaswerk, de media en chemicaliën maar zeker ook voor de koffie die elke morgen klaar staat. Henk bedankt voor de foto's en dia's die jij altijd toch maar weer op tijd klaar had als ik weer eens op het laatste moment aankwam zetten. Tevens wil ik Irene Diomande, Cees Vermeulen en Peter Wiersema bedanken voor hun bijdrage.

Ook de ondersteuning en begeleiding vanuit Unilever is altijd prettig geweest. Aat Ledeboer, Wouter Musters en overigen bedankt daarvoor.

Naast de mensen van mijn werk wil ik ook mijn familie en alle vrienden bedanken voor de momenten van ontspanning en afleiding waar jullie voor hebben gezorgd. Tenslotte kun je niet je levensenergie alleen maar uit je werk halen.

Pa en Ma, alhoewel ik van huis uit geen wetenschappelijke bagage meegekregen heb zijn jullie het geweest die mij geleerd hebben om geduldig te zijn, samen te werken, te delen maar bovenal niet snel op te geven (iets dat zeer belangrijk is in dit vak). Bedankt !

Lieve Zwaan, jouw hulp en aandacht zijn van het aller grootste belang geweest. Jij was het die altijd een luisterend oor had als ik weer eens vertrouwen nodig had en mij hielp op drukke momenten. Die voorlaatste avond voor het vertrek naar het mooie Nieuw-Zeeland zal ik nooit vergeten hoe jij mij hielp om tot diep in de nacht, in dat kamertje in Haren, mijn posters in elkaar te plakken. Bedankt voor de tolerantie die jij vaak toonde als ik weer tot 's avonds laat of in het weekend aan het werk was. Als ik zeg dat dit niet weer zal gebeuren weet je dat ik lieg. Een mens kan tenslotte meerdere liefdes hebben. Jij hebt ervoor gezorgd dat mijn werk mijn hobby is geworden.

**Gi rbe**

## Contents

<b>Chapter 1</b>	Introduction	1
<b>Chapter 2</b>	Molecular cloning and nucleotide sequence of the gene encoding the major peptidoglycan hydrolase of <i>Lactococcus lactis</i> , a muramidase needed for cell separation	33
<b>Chapter 3</b>	The <i>N</i> -acetylmuramidase of <i>Lactococcus lactis</i> binds to the cell wall by means of repeated motifs located in the C-terminal domain	55
<b>Chapter 4</b>	Autolysis of <i>Lactococcus lactis</i> is influenced by proteolysis	77
<b>Chapter 5</b>	Autolysis of <i>Lactococcus lactis</i> caused by induced overproduction of its major autolysin, AcmA	93
<b>Chapter 6</b>	Summary	113
	Samenvatting	117
	<b>List of publications</b>	120

- Front cover : Light microscopic view of a mixture of *acmA* mutant cells (long chain) and lactococcal wild-type cells (short chains and single cells). Bands in the right corner represent AcmA activity present in the cell (left) and supernatant (right) fractions of a culture of *Lactococcus lactis* MG1363 (Figure 2, Chapter 2).
- Back cover : Representation of colonies of cells of *Lactococcus lactis* MG1363 (bottom) and its *acmA* minus derivative (top) after overnight growth on an agar plate containing cell wall fragments.

The studies reported in this thesis were carried out at the Department of Genetics of the University of Groningen, The Netherlands.

The research was financially supported by Unilever Research Laboratorium, Vlaardingen, The Netherlands and by the Dutch ministry of economic affairs.

Printed by : PrintPartners Ipskamp, Enschede

ISBN : 90-3670805-2