



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Het grenzeloze leven: de fascinerende wereld van celwandloze bacteriën

Claessen, D.

Citation

Claessen, D. (2023). *Het grenzeloze leven: de fascinerende wereld van celwandloze bacteriën*. Leiden. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3620078>

Version: Publisher's Version

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3620078>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Prof.dr. D. Claessen

Het grenzeloze leven: de fascinerende wereld van celwandloze bacteriën



Universiteit
Leiden

Bij ons leer je de wereld kennen

Het grenzeloze leven: de fascinerende wereld van celwandloze bacteriën

Oratie uitgesproken door

Prof.dr. D. Claessen

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar
met als leeropdracht Moleculaire Microbiologie
aan de Universiteit Leiden
op vrijdag 16 juni 2023.



**Universiteit
Leiden**

Waarde rector magnificus, geacht faculteitsbestuur, waarde collega's, waarde familie, waarde studenten, geachte toehoorders!

Het is een eer om hier vandaag te staan en mijn fascinatie voor de microbiologie met jullie te delen. Micro-organismen zijn overal om ons heen, en hoewel we ze vaak niet met het blote oog kunnen zien, hebben ze een enorme impact op ons dagelijks leven en onze gezondheid. Dat hebben we allemaal ervaren in de afgelopen jaren toen we geconfronteerd werden met een virus dat de hele maatschappij ontwricht heeft. Het was ook de reden dat ik deze oratie uit heb moeten stellen na mijn benoeming tot hoogleraar in november 2020. Gelukkig kunnen we dat vandaag alsnog samen vieren.

Alvorens in te gaan op mijn huidige onderzoek, wil ik u meenemen langs de route die ik bewandeld heb en de mensen benoemen die mij hebben geïnspireerd en uitgedaagd op de weg naar dit hoogleraarschap. Mensen die mij de vrijheid hebben gegeven om dit mooie doel te bereiken. Ik zeg doel, maar het is in feite de voortzetting van een reis naar een onbekende bestemming. Want je weet nooit, waar de wetenschappelijke weg je heenbrengt.

Mijn moeder zei altijd dat ik astronaut of professor zou worden. Ik was en ben nog steeds, zeer geïnteresseerd in alles wat met ruimtevaart te maken heeft. Echter, met mijn slechte zicht – de lenzen die ik draag hebben een sterkte van meer dan -8 dioptrie – was iets vliegens besturen uitgesloten. Dus bleef professor over. Maar waarin dan? Ik was op het VWO wel geïnteresseerd in bètavakken, maar biologie, wat ik uiteindelijk ben gaan studeren, was eigenlijk het vak waarin ik het minst goed was. Wiskunde daarentegen, dat lag mij wel. Maar op dat moment had ik geen idee wat je daarmee zou kunnen worden. Nu weet ik wel beter, en blijkt wiskunde onmisbaar te zijn voor heel veel vakgebieden. Dat ik uiteindelijk koos voor biologie kwam na het bezoek aan een open dag van de Universiteit van

Amsterdam, waar een demonstratieproef getoond werd waar onderzoekers ons DNA lieten zien. DNA, het erfelijk materiaal van bijna alle organismen, kun je zichtbaar maken door het te kleuren met een molecuul dat fel oplicht als je er UV licht op schijnt. Toen ik dit voor het eerst zag wist ik dat ik hier iets mee wilde doen. Wederom zonder duidelijk beeld, maar het fascineerde mij: iets zo wezenlijk belangrijks, en ook onzichtbaars voor het eerst te zien. Ik besloot daarop biologie te gaan studeren in Groningen. In de eerste maanden van die studie lag de focus vooral op macrobiologie. Zeg maar dieren en planten en de ecologie daarvan. We moesten veel organismen ontleden – een haai, duif, krab, worm – en dan tekenen wat we zagen. Op dat moment sloeg de twijfel wel toe: is biologie wel de juiste keuze geweest? Toch blijkt dit nu één van de dingen te zijn waar ik veel aan heb gehad: juist door dit soort practica zie ik nu snel dingen die belangrijk zijn, en vooral als ik microscopische beelden bekijk. Maar het belang van zo'n tekenpracticum realiseer je je pas later.

Mijn passie voor de microbiologie werd gewekt tijdens de colleges en practica die moleculair van aard waren. En daarbij was het enthousiasme van mensen als Louis Huisman en Hans Sietsma aanstekelijk, twee docenten die veel onderwijs gaven in de moleculaire vakken. Maar één docent sprong er voor mij bovenuit, en dat zou later ook een van mijn twee promotoren worden: Han Wösten, nu een succesvol hoogleraar schimmelbiologie in Utrecht. Het was de bevoegenheid en betrokkenheid van Han die me uiteindelijk deed besluiten stage te lopen in zijn groep. Eerst dacht ik aan schimmels te gaan werken, maar ondertussen was Han Universitair Docent geworden in de vakgroep Microbiële Fysiologie, die geleid werd door Lubbert Dijkhuizen, mijn tweede promotor en ook een belangrijk persoon in mijn carrièreverloop. In deze vakgroep was Han begonnen met onderzoek aan streptomyceten. Het blijkt nu, dat die kennismaking met streptomyceten uiteindelijk mijn carrière richting zou bepalen. Ik deed niet alleen mijn stage-

onderzoek aan deze bacteriën, maar ook mijn promotieonderzoek dat ik in 2004 heb afgerond.

Streptomyceten zijn draadvormige bacteriën die erg veel op schimmels lijken. Dat blijkt ook uit de naam, die afkomstig is van de Griekse woorden στρεπτός (streptós) en μύκης (múkēs), wat zoiets betekend als gedraaide schimmel. Lange tijd werd ook gedacht dat streptomyceten schimmels waren, maar dat bleek niet zo te zijn.

Het zijn veelvoorkomende bacteriën die jullie allemaal wel kennen. Ze zijn namelijk verantwoordelijk voor de karakteristieke, aardeachtige geur die je ruikt als je in het bos loopt of als er regen valt op droge aarde. Daarnaast zijn ze bekend om de grote verscheidenheid aan belangrijke moleculen die ze produceren en die veelvuldig worden toegepast als medicijnen¹.

- 4 De meest bekende moleculen zijn antibiotica, zoals streptomycine, tetracycline, erythromycine, vancomycine en chlooramfenicol. Deze antibiotica worden gebruikt voor de behandeling van bacteriële infecties bij mens en dier. Streptomycine werd ontdekt in 1943 door de Amerikaanse microbioloog Selman Waksman en zijn student Albert Schatz aan de Rutgers University in New Jersey, Verenigde Staten². Ze ontdekten het antibioticum tijdens hun zoektocht naar nieuwe stoffen die bacteriën kunnen doden. Streptomycine was het eerste antibioticum dat effectief was tegen tuberculose, een ernstige en dodelijke infectieziekte³. De ontdekking van streptomycine werd beschouwd als een mijlpaal in de geschiedenis van de medische wetenschap en leverde Selman Waksman in 1952 de Nobelprijs voor de Geneeskunde op.

Naast antibiotica maken streptomyceten ook tal van andere belangrijke stoffen, zoals antivirale stoffen en stoffen die gebruikt kunnen worden bij de behandeling van auto-immuunziektes en orgaantransplantaties, zoals rapamycine en tacrolimus. We denken dat streptomyceten al deze stoffen

maken als afweer tegen andere organismen om daarmee hun eigen succes te vergroten.

De aanmaak van deze belangrijke stoffen hangt nauw samen met de bijzondere manier waarop deze bacteriën groeien. In tegenstelling tot veel andere bacteriën, hebben streptomyceten een fascinerende levenscyclus met verschillende ontwikkelingsstadia, die begint vanuit sporen⁴. Deze sporen zijn vergelijkbaar met kleine zaadjes. Ze kunnen overleven in extreme omstandigheden, zoals droogte en hitte. Wanneer de omstandigheden gunstig zijn, bijvoorbeeld in de aanwezigheid van voldoende voedingsstoffen, kunnen deze sporen gaan ontkiemen. Er ontstaat dan een draadachtig weefsel, een mycelium genaamd, dat zich door de grond verspreidt en eruitziet als een witte, wollige massa op het oppervlak van de grond. Zo'n mycelium kun je vergelijken met een boomwortelstelsel dat voedingsstoffen opneemt uit de omgeving. Het mycelium groeit door middel van lange, dunne draadvormige structuren die hyfen worden genoemd. De hyfen groeien verder en vormen uiteindelijk een netwerk van vertakte draden die allemaal met elkaar verbonden zijn en zo in feite één groot organisme vormen. Dat is een belangrijk verschil met ééncellige bacteriën, die als ze groeien uiteenvallen in losse cellen.

Naarmate het mycelium groeit, beginnen sommige hyfen zich te ontwikkelen tot gespecialiseerde structuren, die de lucht ingroeien als een soort bacteriële wolkenkrabbers. Deze structuren worden luchthyfen genoemd en vormen uiteindelijk lange ketens van nieuwe sporen (Fig. 1). Deze luchtstructuren zijn, in tegenstelling tot de hyfen waaruit ze ontstaan zijn, zeer waterafstotend, wat vermoedelijk bijdraagt aan een betere verspreiding hiervan⁵. Deze verspreiding van sporen wordt gedaan door de wind of insecten, of, zoals we onlangs in samenwerking met een collega hebben laten zien, door andere bacteriën die als een soort taxi fungeren in de bodem⁶. De verspreide sporen kunnen dan weer ontkiemen

en de levenscyclus opnieuw beginnen. De levenscyclus van *Streptomyces* is een prachtig voorbeeld van hoe bacteriën zich kunnen aanpassen en overleven onder de meest uitdagende omstandigheden.

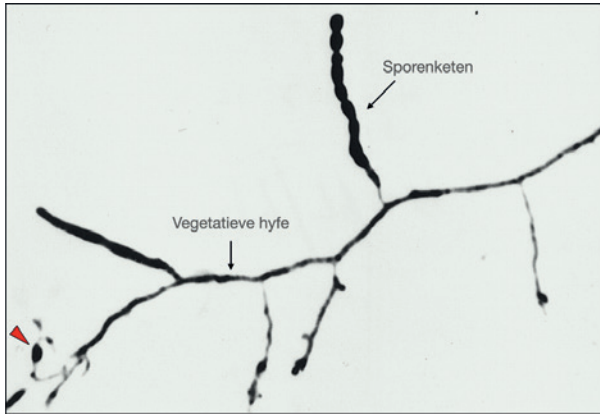


Fig. 1. Mycelium van *Streptomyces*, waarin verschillende stadia uit de levenscyclus te zien zijn: spore (rode driehoek), vegetatieve hyfen en de vorming van een nieuwe sporenketen. Originele foto afkomstig uit Hopwood (1999)⁷.

De rol van de celwand in de groei en ontwikkeling van streptomyceten

Als wetenschapper ben ik altijd geïnteresseerd geweest in de manier waarop streptomyceten groeien en zich ontwikkelen. Die fascinatie ontstond in Groningen tijdens mijn promotieonderzoek, en is verder versterkt in Leiden. De groei van bacteriën is een belangrijk aspect van microbiologie en wordt veel gebruikt in de biotechnologie, de voedingsindustrie en de geneeskunde. Door de groei van bacteriën te begrijpen, kunnen we betere methoden ontwikkelen voor het kweken en manipuleren van bacteriën, het produceren van belangrijke stoffen en het bestrijden van bacteriële infecties. Om de groei beter te begrijpen moeten we kijken naar de anatomie van een bacterie. Een bacterieel cel is relatief eenvoudig

in vergelijking met cellen van bijvoorbeeld planten en dieren. Als we van buiten naar binnen gaan is een cel opgebouwd uit een celwand, een celmembraan en het cytoplasma waarin zich het erfelijk materiaal bevindt en het merendeel van de eiwitten en complexen die nodig zijn voor de bouw van nieuwe cellen. De celwand is een belangrijk onderdeel van bacteriën en speelt een cruciale rol bij het beschermen van de bacterie tegen schadelijke invloeden vanuit de omgeving en het handhaven van de vorm van de cel^{8,9}. Het is als het ware een beschermende huls rondom de cel. Omdat de celwand zo'n belangrijke beschermende functie vervult, is de machinerie die de celwand maakt ook één van de belangrijkste aangrijpingspunten van antibiotica. Menselijke cellen hebben geen celwand. Antibiotica kunnen daarom specifiek werken op de celwand van bacteriën zonder schade toe te brengen aan de mens.

De celwand speelt een centrale rol in de groei van bacteriën. Wanneer een bacterie groeit, moet ook de celwand in omvang toenemen om de toename in cel volume te accommoderen. Bij dit proces zijn heel veel eiwitten betrokken, wat samenhangt met de complexiteit van de celwand en het feit dat deze structuur zo belangrijk is voor bacteriën: zij zijn voortdurend bezig om in vorm te blijven.

De celwand van bacteriën is opgebouwd uit een complexe structuur van verschillende componenten, waaronder peptidoglycaan, lipopolysacchariden, lipoproteïnen en structurele eiwitten¹⁰. Peptidoglycaan is het centrale bestanddeel van de celwand en vormt een laag rondom de bacteriële cel die stevigheid biedt en de vorm van de cel bepaalt.

De synthese van peptidoglycaan begint in het cytoplasma van de bacteriële cel, waar de bouwstenen worden geproduceerd. Deze bouwstenen bestaan uit twee enkelvoudige suikermoleculen, namelijk de suikers N-acetylglucosamine (NAG) en N-acetylmuraminezuur (NAM). Die worden in het cytoplasma aan elkaar gezet, en aan het NAM-suiker wordt dan nog een

korte keten van aminozuren gekoppeld. Na transport van deze bouwstenen naar de buitenkant van de cel, worden ze samengevoegd door zogenaamde glycosyltransferase eiwitten om lineaire glycanen te vormen. Deze lineaire glycanen worden vervolgens gekruist door peptidebruggen die de aminozuurketens aan de NAM-residuen verbinden met andere NAM-residuen. De structuur van peptidoglycaan lijkt daarmee een beetje op een stapel legostenen, waarbij de suikermoleculen de stenen zijn en de peptiden de verbindingen tussen de stenen vormen. Samen vormen deze stenen en verbindingen een stevige muur.

Als we teruggaan naar de groei van streptomyeten zien we dat de aanmaak van de celwand in deze bacteriën plaatsvindt op één specifieke plek in de cel, namelijk aan de uiteinden van de hyfen¹¹. En dat is bijzonder, omdat veel andere bacteriën, vooral ééncellige bacteriën, juist groeien door aanmaak van nieuw celwandmateriaal op alle plekken *behalve* de uiteinden van de bacterie¹². We weten relatief weinig van deze polaire manier van groei, hoewel die toch heel belangrijk is voor veel bacteriën. Niet alleen voor streptomyeten, maar bijvoorbeeld ook voor mycobacteriën, die nauw verwant zijn aan streptomyeten en ook een polaire groeiwijze hebben¹³. Sommige soorten mycobacteriën zijn ziekteverwekkers en kunnen ernstige ziekten veroorzaken bij mensen en dieren, zoals tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) en lepra (*Mycobacterium leprae*). Bovendien kunnen sommige soorten mycobacteriën, zoals *Mycobacterium avium*, infecties veroorzaken bij mensen met een verzwakt immuunsysteem, zoals HIV-patiënten. Een beter begrip van deze groeimethode zou kunnen resulteren in de ontwikkeling van nieuwe aangrijpingspunten voor antibiotica, die de groei van deze ziekteverwekkers kunnen afremmen. Ik ga mij daar de komende jaren verder op toeleggen om zo een bijdrage te leveren in de bestrijding van dodelijke infectieziekten zoals tuberculose.

Zoals ik aangaf, ben ik altijd geïnteresseerd geweest in de groei en ontwikkeling van streptomyeten. We hebben het net gehad over de rol van de celwand in groei, maar nog niet gesproken over de rol die de celwand speelt in de ontwikkeling van deze bacteriën en dan met name de vorming van de luchtstructuren. De interesse hiervoor komt voort uit het onderzoek wat ik heb mogen uitvoeren als promovendus in Groningen. Ik heb daar onderzoek gedaan aan structurele eiwitten die aanwezig zijn aan de buitenkant van de hyfen die de lucht ingroeien. Deze luchthyfen zijn sterk waterafstotend doordat ze een soort waterafstotende regenjas maken (Fig. 2). Wanneer met een krachtige elektronenmicroscopie het oppervlak van luchtdraden en sporen sterk uitvergroot wordt blijkt de buitenste laag te zijn opgebouwd uit staafjes met een diameter van 8-12 nanometer¹⁴. Dit kun je vergelijken met de vezels waaruit een jas is opgebouwd. Vaak liggen twee van die staafjes parallel aan elkaar. Zo'n paar wordt ook wel een rodlet genoemd. Deze rodlets blijken te zijn opgebouwd uit twee eiwitten, die we rodlines hebben genoemd. Rodlines worden gemaakt door bijna alle streptomyeten. Wanneer de genen coderend voor deze eiwitten werden uitgeschakeld, bleek de vorming van de rodletlaag verstoord te zijn. Hoewel de vorming van rodlets in rodlin mutanten verstoord is, zijn luchtdraden en sporen nog volop aanwezig. Deze zijn bovendien nog net zo waterafstotend als vóór het stukmaken van de rodlin genen. Blijkbaar zijn rodlets niet noodzakelijk voor de vorming en hydrofobiciteit van de luchtstructuren.

Pas kortgeleden is ontdekt waar rodlets belangrijk voor zijn. Mijn collega, Ariane Briegel, heeft aangetoond dat sporen zonder rodlets niet goed verspreid kunnen worden door andere bacteriën⁶. Deze verspreiding wordt gedaan door ééncellige bacteriën die flagellen, oftewel zwemstaarten, hebben en als een taxi lijken te fungeren. De flagellen wikkelen zich als het ware om de spore heen, waarbij de rodlets grip bieden. Zo kan de omwikkelde spore worden verplaatst door de zwemmende bacterie. Dit unieke systeem kan ons meer

leren over de ecologische interacties tussen micro-organismen en de rol die ze samen kunnen spelen.

We waren eerst erg verrast dat de luchthyfen zonder rodlines nog steeds waterafstotend waren. Blijkbaar maken streptomyceten nog iets anders wat ten grondslag ligt aan het waterafstotende karakter van deze draden. We zagen dat het oppervlak van sporen van mutanten die geen rodlines meer kunnen maken bedekt waren met fibrillen die veel dunner waren dan de dikkere vezels die opgebouwd zijn uit rodlines^{15,16}. Deze dunnere fibrillen bleken gemaakt te worden door een groep eiwitten die we chaplins noemen. Dit is een afkorting voor *coelicolor hydrophobic aerial proteins*, genaamd naar het organisme, *Streptomyces coelicolor*, waar we ze het eerst in ontdekt hebben. Om na te gaan wat er gebeurde als de chaplins afwezig zijn, werden stapsgewijs alle genen die coderen voor chaplins kapot gemaakt. De aldus verkregen mutant die geen enkele van de acht chaplins kon maken, bleek ernstig ziek. De karakteristieke luchtdraden en sporen die normaal al na enkele dagen groei zichtbaar zijn, bleken grotendeels afwezig in de mutant. Pas na enkele weken werden er enkele gevormd die echter niet langer waterafstotend waren. De draden werden

volledig nat als er een druppel water op werd gelegd en vielen om¹⁵. Deze resultaten laten zien dat chaplins een essentiële rol spelen in de ontwikkeling, en dan met name belangrijk zijn voor de vorming en stabiliteit van de luchthyfen.

De vorming van luchthyfen blijkt ook af te hangen van de aanmaak van een glycaan dat op cellulose lijkt en net als peptidoglycaan gemaakt wordt in de groeiende uiteinden van hyfen¹⁷. Cellulose kennen we voornamelijk als onderdeel van de celwand van planten, maar wordt ook door verschillende bacteriën gemaakt, bijvoorbeeld tijdens de vorming van biofilms¹⁸. Hoewel de syntheseroute van cellulose uitvoerig bestudeerd is in Gram-negatieve bacteriën, is er nog relatief weinig bekend hoe dit polymeer gemaakt wordt in Gram-positieve bacteriën waar ook streptomyceten toe behoren. Het cellulose polymeer wordt afgezet aan de buitenkant van de dikke peptidoglycaan laag¹⁹, en zal daar dus doorheen moeten komen om zijn functie uit te kunnen oefenen. Onlangs hebben we laten zien hoe dit bewerkstelligd wordt in streptomyceten²⁰. Met behulp van twee enzymen wordt een tunnel geboord in de peptidoglycaan laag waardoor het cellulose polymeer de buitenkant van de cel kan bereiken. Hoe het polymeer daarna

7

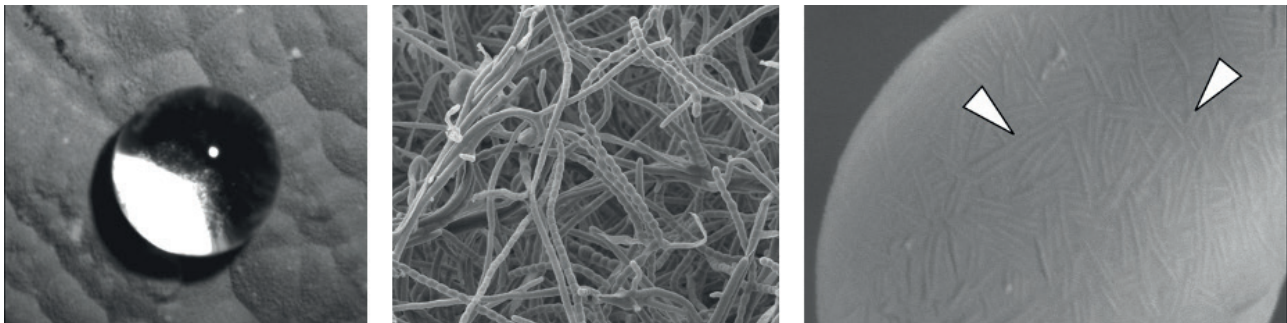


Fig. 2. Kolonies van *Streptomyces* zijn waterafstotend (links), wat komt door waterafstotende eiwitten die op de luchtdraden aanwezig zijn (midden). Een sterke vergroting van de buitenkant van luchtdraden laat een patroon van staaftjes zien, die we rodlets noemen (rechts, driehoeken).

geïntegreerd wordt in de celwand is nog onbekend, en ook hoe het polymeer samenwerkt met alle andere belangrijke celwandcomponenten. Dit is een belangrijk speerpunt waar we in de komende jaren meer onderzoek aan zullen verrichten. Uitkomsten van dit onderzoek zullen niet alleen nieuwe inzichten geven in de aanmaak van cellulose, maar kunnen ook leiden tot de ontdekking van mogelijke nieuwe targets voor antibiotica. Tot dusver zijn er nog geen goede remmers beschreven die de aanmaak van cellulose in bacteriën remmen. Terwijl de overschakeling naar groei in biofilms ten grondslag ligt aan de ontwikkeling van vele chronische infecties, omdat ingebedde of ingekapselde cellen beschermd zijn tegen immuuncellen en antibacteriële medicijnen.

Celwandloosheid in bacteriën

Ik heb u tot dusver laten vertellen wat het belang is van de celwand in groei en ontwikkeling van streptomyeten. Toch richt een groot deel van mijn huidige groep zich op bacteriën die tijdelijk of voor langere tijd zonder celwand kunnen groeien. Dit klinkt paradoxaal, omdat ik u net heb verteld hoe belangrijk de celwand is. Begin 2020 heb ik een Vici subsidie ontvangen van NWO om hier onderzoek naar te doen. Die aanvraag bouwde voort op een bijzondere ontdekking die we een aantal jaren daarvoor hadden gedaan²¹. We hadden laten zien dat sommige filamenteuze actinomyceten in staat zijn celwandloze cellen te maken die als het ware als ballonnetjes ontsnappen aan de uiteinden van hyfen. Dit gebeurt wanneer de bacteriën worden blootgesteld aan een omgeving met een hoge osmotische druk, wat betekent dat er veel opgeloste stoffen aanwezig zijn in de omgeving. Deze vorm van stress kan optreden wanneer bacteriën zich in een omgeving bevinden met bijvoorbeeld een hoog zoutgehalte, iets wat in de natuur best vaak voorkomt. Dit gebeurt bijvoorbeeld nabij de zee, waar veel zout in zit, maar ook als het sneeuwt of vriest. Ook in ons lichaam zijn er mogelijk condities die hieraan voldoen. Daar zal ik straks nog op terugkomen. Deze cellen blijven niet voor altijd celwandloos. Wanneer de osmotische

stress verdwijnt, kunnen deze cellen weer een celwand opbouwen en daarmee teruggaan naar hun oorspronkelijke morfologie (Fig. 3). Het is dus een tijdelijke aanpassing aan de stressvolle omstandigheid.

Zoals eerder gezegd is de celwand een soort bescherm laag en zijn cellen zonder celwand dus bijzonder kwetsbaar. Bij blootstelling aan water knappen ze uit elkaar. Om ze in stand te houden, moet er voldoende zout of suiker in de omgeving van de cellen aanwezig zijn. We konden laten zien dat langdurige blootstelling aan deze vorm van stress ook kan leiden tot varianten die in staat zijn zich te vermenigvuldigen in de afwezigheid van een intacte celwand. Dit soort cellen worden ook wel L-vormen genoemd. De L in L-vormen verwijst naar het Lister Instituut in London waar Emmy Klieneberger in 1935 voor het eerst zulke cellen beschreef²². Het heeft niks met de vorm van de cellen te maken, omdat ze voornamelijk rond zijn. Deze cellen hebben fascinerende eigenschappen, en we weten al heel veel van de bijzondere biologie van dit soort cellen. Dat komt met name door het werk wat is uitgevoerd in de laatste 15 jaar door het team van Jeff Errington, bij wie ik een paar jaar als postdoc in Oxford en Newcastle-upon-Tyne heb gewerkt. Daar komt ook mijn fascinatie voor dit soort cellen vandaan. Zijn groep begon in 2007 met het bestuderen van dergelijke cellen in *Bacillus subtilis*, één van de paradepaardjes van de microbiologie. Door het werk van Mark Leaver, die hiermee begon, en later onder meer Yoshi Kawai en Roman Mercier die allemaal als postdoc werkten bij Jeff, werd gevonden dat L-vorm groei *zonder* celwand gebeurt op basis van biofysische principes, waarbij belangrijke eiwitten die nodig zijn voor groei en celdeling van cellen met een celwand, overbodig blijken te zijn²³⁻²⁵. Zo ook het FtsZ eiwit, wat bijna universeel aanwezig is in bacteriën, en zorg draagt voor het rekruteren van allerlei andere celdelings-eiwitten om gezamenlijk het celdelingsproces uit te voeren. Dit was een spectaculaire ontdekking die ons nog iets bijzonders liet zien,

namelijk hoe vroege levensvormen zich mogelijk hebben gedragen²⁶.

Het lijkt waarschijnlijk dat de gemeenschappelijke voorouder van alle bacteriën vermoedelijk al een celwand had, maar dat het leven *daarvoor* niet begrensd werd door zo'n celwand. Door het onderzoek naar L-vorm bacteriën hebben we nu een fascinerend systeem in handen om te bestuderen hoe dergelijke oercellen zich mogelijk hebben kunnen voortplanten. Dat lijkt speculatief, en dat is het misschien ook wel, maar toch zijn er een aantal argumenten dat L-vormen hiervoor een goed model kunnen zijn. Het eerste belangrijke argument is dat we nu begrijpen dat een onevenwichtige groei tussen de celmembranen en het celvolume leidt tot vervormingen van die cel, wat uiteindelijk resulteert in de afsplitsing van nieuwe L-vormen. Dit proces vereist geen complexe eiwitssystemen die waarschijnlijk ook nog niet aanwezig waren in de oercellen zonder celwand. Het tweede argument is dat simpele membranen blaasjes zonder enige celinhoud zich vergelijkbaar gedragen als L-vormen en ook spontaan kunnen opsplitsen in kleinere blaasjes²⁷. Tenslotte is het mechanisme van L-vormdeling geconserveerd in alle tot dusver bestudeerde bacteriën die geen celwand meer kunnen maken²⁸, wat duidt op een oud mechanisme dat behouden is gebleven zelfs na het ontstaan van de celwand, en wat blijkbaar soms van pas kan komen als bacteriën toch hun celwand verliezen.

Gevolgen van celwandloosheid

Omdat er al veel fundamenteel inzicht is in de groei van L-vorm bacteriën, zie je dat het onderzoeksveld nu meer kijkt naar de belangrijke vraag waar dit soort cellen voorkomen in de natuur en wat ze daar dan doen. We kunnen L-vormen relatief eenvoudig kweken in het lab, maar dat zegt je nog niks over de relevantie van dit soort cellen buiten het lab. Met behulp van mijn Vici subsidie ben ik aan het kijken of we hier meer inzicht in kunnen krijgen. Daarbij kijk ik samen met mijn team naar de voordelen die cellen ondervinden als

ze hun celwand niet meer hebben, want het antwoord op die vraag kan ook weer inzicht geven in waar dergelijke cellen zouden kunnen voorkomen²⁹. Mijn groep richt zich daarbij voornamelijk op filamenteuze actinobacteriën, maar ook op mycobacteriën, die ik al eerder heb genoemd, en die ook onder invloed van een hoge osmotische druk celwandloze cellen blijken te kunnen vormen³⁰.

Naast het bieden van voordelen in omgevingen waar vrij levende actinobacteriën moeten omgaan met wisselende omstandigheden, inclusief langere periodes van droogte, is het aannemelijk dat celwandloze bacteriën aanwezig zijn in planten. Klassieke kweekmethoden gecombineerd met de meer recente cultuur-onafhankelijke methoden hebben aangetoond dat actinobacteriën niet alleen volop aanwezig zijn in de omgeving van plantenwortels, maar ook daadwerkelijk binnen in de planten in de zogenaamde endosfeer^{31,32}. Het is daarbij belangrijk om te vermelden dat plantensap, of floëem, voldoende suikers bevat om de switch van actinobacteriën naar een celwandloze toestand mogelijk te maken, terwijl daarmee ook een omgeving gecreëerd wordt om celwandloze cellen in stand te houden. Verschillende studies hebben al laten zien dat celwandloze cellen van allerlei bacteriën kunstmatig in planten kunnen worden geïntroduceerd en daar prima kunnen gedijen^{33,34}. Gezien het feit dat een groot aantal filamenteuze actinobacteriën van nature celwandloze cellen kan vormen, denk ik dat de vorming van dergelijke cellen kan verklaren hoe filamenteuze actinobacteriën zich snel kunnen verplaatsen door het plantenweefsel. Celwandloosheid maakt cellen immers ook flexibel, waardoor ze ruimtes kunnen binnendringen die ontoegankelijk zijn voor cellen met een stevige wand. Tegelijkertijd zijn celwandloze cellen ook 100x kleiner dan mycelia (dus 1 miljoen keer in 3D), zodat ze makkelijker tussen plantencellen door kunnen bewegen. Voor een mycelium van pak 'm beet 100 µm is simpelweg geen ruimte. Wellicht zouden ze na het transport naar de gewenste plek in de plant lokaal bescherming kunnen bieden tegen schadelijke

organismen die de plant bedreigen, bijvoorbeeld door de aanmaak van antibiotica.

Naast het flexibel zijn, biedt celwandloosheid nog een aantal belangrijke voordelen. Een van de grote voordelen van het celwandloos zijn is dat veel herkenningspunten die aanwezig zijn op de celwand weg zijn. Zo ook veel receptoren die gebruikt worden door virussen die bacteriën kunnen infecteren, genaamd bacteriofagen. Onlangs hebben we laten zien dat bacteriën inderdaad beschermd worden tegen infectie met bacteriofagen wanneer bacteriën tijdelijk hun celwand verliezen³⁵⁻³⁷. Ook konden we laten zien dat bacteriofagen de vorming van celwandloze cellen kan induceren. Dat is een belangrijke ontdekking, omdat het ook gevolgen kan hebben voor de behandeling van infectieziektes waar het gebruik van fagen beoogd wordt, zogenaamde faagtherapie. Steeds vaker wordt overwogen om bacteriofagen in te zetten voor de behandeling van infectieziektes waar antibiotica niet langer tegen werken. Bacteriofagen zouden dan een oplossing kunnen bieden omdat ze vaak heel effectief en specifiek zijn. Echter, als bacteriën tijdelijk hun celwand kwijtraken zouden dergelijke therapieën wellicht minder effectief kunnen zijn dan beoogd.

10

Een van de belangrijkste gevolgen, en ook voordelen voor bacteriën als ze tijdelijk celwandloos worden is het feit dat antibiotica die aangrijpen op de aanmaak van de celwand niet meer werken (Fig. 3). Sterker nog, dergelijke antibiotica zouden de vorming van celwandloze cellen juist in de hand kunnen werken. In een onlangs gepubliceerde studie is aangetoond dat de bacteriën uit de urine van patiënten die leiden aan chronische blaasontsteking gemakkelijk kunnen omschakelen van normale groei met naar groei zonder celwand³⁸. Blaasontsteking wordt vaak behandeld met het antibioticum fosfomycine, wat aangrijpt op de aanmaak van de celwand. De onderzoekers konden laten zien dat in de aanwezigheid van fosfomycine deze *E. coli*-bacteriën overschakelden naar groei zonder celwand, waardoor het antibioticum geen effect

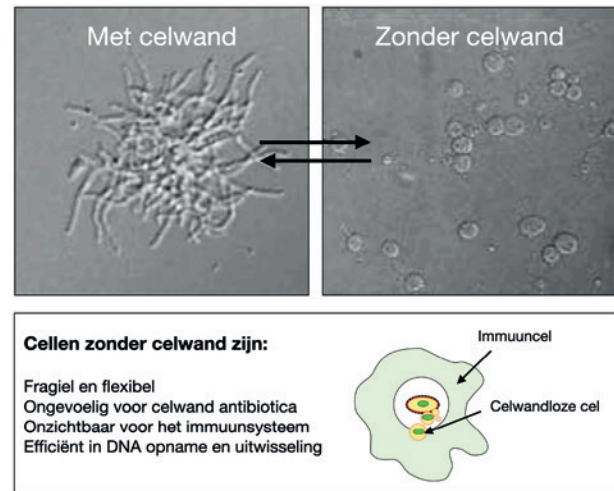


Fig. 3. Filamenteuze streptomyceten kunnen tijdelijk hun celwand verliezen, waarbij hun morfologie sterk verandert (boven). De mogelijke gevolgen van het verlies van de celwand bestuderen we momenteel in meer detail (onder).

had. Nadien konden de cellen echter weer terugkeren naar groei met celwand als het antibioticum niet langer aanwezig is. Dit zou in een klinische setting kunnen betekenen dat patiënten na afloop van hun antibioticumkuur opnieuw ziek kunnen worden als de bacteriën weer hun celwand hebben opgebouwd. Dit gedrag past bij het beeld van chronische blaasontsteking. Het is nu nog van belang aan te tonen dat deze bacteriën dit gedrag ook daadwerkelijk vertonen in deze patiënten. Daarnaast zijn er ook nog veel fundamentele vragen die beantwoord moeten worden met betrekking tot L-vormen van *E. coli*, zoals de rol van de buitenmembraan, waar we momenteel ook onderzoek naar doen in mijn groep.

Op het gebied van infecties kijken we in mijn groep met name naar de rol van celwandloze cellen van mycobacteriën.

Het helpt daarbij dat er in Leiden heel veel expertise is op het gebied van mycobacteriën met onder meer Annemarie Meijer, Herman Spaink en Tom Ottenhoff, die allen ook betrokken zijn bij dit werk. We hebben pasgeleden aangetoond dat veel verschillende soorten mycobacteriën vrij eenvoudig celwandloze cellen kunnen vormen, iets wat versterkt wordt door het gebruik van antibiotica die ook ingezet worden bij de behandeling van bijvoorbeeld tuberculose³⁰. De vorming van celwandloze cellen was al eerder gesuggereerd^{39,40}, maar nog nooit zo duidelijk aangetoond. Dit heeft te maken met het feit dat we nu veel beter begrijpen hoe we met dergelijke cellen moeten omgaan waarbij we daarnaast ook gebruik kunnen maken van meer moderne technieken voor de visualisatie van celwandloze cellen die nog niet voorhanden waren enkele tientallen jaren geleden. Eén van de belangrijke dingen die we nu bestuderen is of celwandloze cellen mogelijk verklaren waarom mycobacteriën zo makkelijk kunnen overleven in de gastheer. Bijna 2 miljard mensen wereldwijd zijn drager van de tuberculose bacterie, en zo'n 10% daarvan zijn vatbaar voor het ontwikkelen van actieve tuberculose. De grote vraag is waar en hoe deze bacteriën zich verstoppen. Een bijkomstigheid van celwandloosheid is dat cellen veel minder goed herkend kunnen worden door onze immuuncellen, omdat veel herkenningspunten op de celwand aanwezig zijn. Zonder zo'n wand zouden zulke cellen dus gemakkelijk onder de radar kunnen blijven van ons immuunsysteem. Sterker nog, het is niet ondenkbaar dat dergelijke celwandloze cellen zich zelfs *in* onze immuuncellen kunnen verstoppen, als een soort ultiem Trojaans paard (Fig. 3). Het zal een belangrijk speerpunt zijn in de komende jaren om de interacties tussen immuuncellen en celwandloze cellen in kaart te brengen. Daarbij is teamwork met alle *Mycobacterium* experts hier in Leiden onmisbaar!

Toepassingen van celwandloze bacteriën

Zoals ook bacteriën profijt kunnen hebben van hun celwandloosheid, zo biedt het ook ons nieuwe mogelijkheden om biologische processen beter te kunnen bestuderen, zoals de

aanmaak van de celwand en het proces van celdeling. Immers, het gebruik van celwandloze cellen maakt het uitschakelen van genen die betrokken zijn bij deze processen eenvoudig^{23,41}. Ook kunnen we met celwandloze cellen, die rond zijn, kijken naar de fundamentele vraag hoe cellen hun polariteit terugkrijgen als ze een tijd lang zonder celwand hebben kunnen groeien. Immers, vanuit die ronde cellen zal uiteindelijk weer een filament met een celwand gemaakt worden dat groeit vanuit de gevormde hyfetop. Hoe dat precies werkt, wil ik de komende jaren verder uitzoeken, omdat er, zoals al eerder aangegeven, nog relatief weinig bekend is over deze manier van groeien.

Ik ben door de jaren heen steeds meer geïnteresseerd geraakt in evolutionaire vragen, vooral door mijn nauwe samenwerking met Daniel Rozen, een collega die de ecologie en evolutie van micro-organismen bestudeert⁴². Zo hebben we een aantal gezamenlijke projecten op het grensvlak van onze expertises en waarbij we L-vormen inzetten als een platform. Een van de interessante eigenschappen van deze celwandloze cellen is dat ze in iedere cel meerdere chromosomen kunnen hebben⁴³. Meestal hebben bacteriën een enkel chromosoom in de cel, maar in L-vormen kan dit aantal oplopen tot meer dan 20. We kijken daarbij naar de voordelen en nadelen van het hebben van meerdere chromosomen, door cellen te maken die *verschillende* chromosomen bezitten. Op die manier kunnen we volgen wat er gebeurt als er selectie plaatsvindt op behoud van een van beide type chromosomen: leidt dit tot verlies van de andere variant, of behouden cellen die toch als een soort back-up als de condities lijken te veranderen?

Het maken van cellen met meerdere chromosomen kan ook een belangrijke tool zijn om in de toekomst nieuwe antibiotica te vinden. We weten dat L-vormen ook makkelijk spontaan met andere L-vormen kunnen fuseren, iets wat cellen met een celwand niet kunnen⁴⁴. Door L-vorm fusie tussen verschillende *Streptomyces* soorten, elk met een groot repertoire aan genclusters voor antibiotica, komt de genetische informatie

van twee verschillende bacteriën samen in één cel. Door uitwisseling van DNA tussen beide chromosomen, of het gecombineerd metabolisme van deze hybride cellen kunnen we mogelijk nieuwe antibiotica vinden⁴⁵. Aangezien L-vormen mogelijk een goed model zijn voor oercellen, geven dergelijke studies ook inzicht in de massale uitwisseling van genetische informatie die vermoedelijk plaats moet hebben gevonden tussen cellen voor het ontstaan van de celwand. In die context is het interessant te noemen dat we recentelijk hebben ontdekt dat bacteriën zonder celwand op een hele andere manier DNA uit hun omgeving kunnen opnemen, namelijk via een endocytose-achtig mechanisme⁴⁶. Hierbij stulpt de membraan naar binnen waarbij een blaasje in de cel ontstaat waarin vloeistof uit de omgeving zit. We konden laten zien dat cellen op die manier DNA kunnen opnemen uit de omgeving, maar ook veel grotere deeltjes. Dit werk is een prachtig voorbeeld hoe er nieuwe mogelijkheden ontstaan voor cellen als ze hun celwand verliezen.

Aan die massale uitwisseling van genetische informatie tussen primitieve cellen kwam een einde toen er een celwand ontstond²⁶. Immers, nu was er een fysieke barrière opgeworpen die snelle uitwisseling in de weg stond. Maar hoe is die celwand ooit ontstaan? Dat is een vraag die moeilijk te beantwoorden is, maar we kunnen wel nadenken over drijfveren die mogelijk een grote rol hebben gespeeld. Zoals ik al eerder heb benoemd zijn cellen zonder celwand erg kwetsbaar. Een belangrijke drijfveer zal dus bescherming geweest zijn. Maar dat is misschien niet de enige geweest. Als we kijken naar de celwand van bacteriën, maar ook bijvoorbeeld plantencellen, dan is de celwand een polymeer van suikermoleculen. Zoals we allemaal weten is suiker een belangrijke brandstof voor cellen. Het kan dus zo geweest zijn dat de eerste primitieve cellen een manier verzonden hebben om een overmaat aan suikers op te slaan aan de buitenkant van de cel. Dat had dan een tweeledige functie. Naast opslag als reservevoedsel, bood zo'n suikerlaagje tegelijkertijd ook enige bescherming. Het gaf daarmee cellen

de mogelijkheid om ook andere plekken te koloniseren die nog niet gekoloniseerd konden worden door bacteriën zonder zo'n primitieve celwand²⁹. We kijken nu of we deze beginstappen in de evolutie van de celwand kunnen nabootsen met behulp van L-vormen. Dat zal belangrijke nieuwe inzichten geven in de evolutie van de celwand.

Onderwijs en onderzoek

U heeft mij tot dusver veel horen vertellen over onderzoek. Een universiteit is natuurlijk primair een onderwijsinstelling en in Leiden is er een nauwe band tussen onderzoek en onderwijs. Dat is ook een van de sterke punten van deze mooie en Nederlands oudste universiteit. De integratie van onderzoek en onderwijs draagt positief bij aan de kwaliteit van het onderwijs dat wordt aangeboden. Docenten die actief betrokken zijn bij onderzoek, kunnen deze kennis gebruiken om hun lesgeven te verbeteren en om studenten te inspireren met de nieuwste ontwikkelingen in hun vakgebied. Dit kan leiden tot een meer stimulerende en uitdagende leeromgeving voor studenten. Ik zet mij dagelijks in om studenten een stimulerende leeromgeving te bieden. Dat doe ik tegenwoordig ook als opleidingsdirecteur van de masteropleiding biologie, samen met mijn collega opleidingsdirecteur Marcel Schaaf en een team van geweldige medewerkers op ons onderwijsbureau. Maar natuurlijk ook samen met alle docenten die bij onze mooie opleiding betrokken zijn, en een hele actieve studievereniging, de Leidse Biologen Club. Dit jaar bestaat deze prachtige vereniging 100 jaar en zij is ontzettend belangrijk voor de opleiding. Studenten spelen sowieso een cruciale rol in de ontwikkeling en verbetering van het onderwijs. De constructieve feedback die door studenten wordt gegeven voedt de docent en biedt richting om aanpassingen te maken in zijn of haar vak, maar kan ook gebruikt worden als inspiratie voor de ontwikkeling van een heel nieuw vak. Daar hebben die studenten die feedback geven zelf soms niks aan, maar ze doen dit voor aankomende studenten. Ze denken

dus actief mee om het onderwijsprogramma te verbeteren. Ik waardeer die inzet en betrokkenheid enorm.

Daarnaast kunnen studenten elkaar ook helpen in de onderwijs beleving. Peer-to-peer teaching is een geweldige manier voor studenten om elkaar te helpen en te motiveren in het leerproces. Wanneer studenten samenwerken en elkaar dingen uitleggen over een onderwerp dat ze net hebben geleerd, vergroten ze niet alleen hun begrip van de stof, maar versterken ze ook hun motivatie om verder te leren, wat kan leiden tot een nog groter gevoel van voldoening en succes in het leerproces.

Onderwijs geven is één van de dingen die mij veel voldoening geeft. Al tijdens mijn studie in Groningen was ik regelmatig actief als student-assistent bij practica. En ook in Leiden heb ik een groot scala aan onderwijstaken op me genomen. Eerst colleges, maar daarna ook meer coördinerende taken van cursussen, een minor, en later ook een masterprogramma. En ook als opleidingsdirecteur blijf ik het belangrijk vinden om ook colleges te kunnen blijven geven. Die zichtbaarheid voor studenten is enorm belangrijk. Een mooi voorbeeld vind ik Ben Feringa, die, zoals de meeste zullen weten, in 2016 de Nobelprijs kreeg voor scheikunde maar nog altijd enthousiast colleges geeft voor studenten, terwijl hij dat niet zou hoeven doen. Maar zijn verschijning zal een hele lichterding studenten enthousiasmeren voor zijn mooie vakgebied. Zoals aangegeven ben ikzelf hier terecht gekomen door inspirerende colleges van onder andere Han Wösten over schimmelbiologie in Groningen. Het zijn voorbeelden die voor mij leidend zijn geweest in mijn keuzes. Het enthousiasmeren van studenten vind ik een van de meest waardevolle aspecten van mijn werk. Want het kan zo maar betekenen dat iemand ontdekt waar zijn of haar kwaliteiten liggen.

Ik heb een aantal jaar geleden een inspirerende onderwijsvorm geïntroduceerd in Leiden met het opzetten van een iGEM

team. iGEM is een wereldwijde competitie waar studententeams buiten hun curriculum werken aan het oplossen van belangrijke en uitdagende problemen, zoals bijvoorbeeld de klimaatcrisis of het ontstaan van multiresistente bacteriën. Dat doen ze door het ontwerpen en bouwen van biologische systemen met behulp van synthetische biologie. Daarmee worden eigenschappen aan veelal micro-organismen toegevoegd die ze van nature niet bezitten. Het iGEM-programma is een mooi voorbeeld van integratie van onderzoek en onderwijs, omdat het de studenten de kans geeft om hun academische vaardigheden te combineren met praktische ervaring op het gebied van onderzoek, ontwerp en wetenschappelijke communicatie.

Het iGEM-programma omvat zowel onderzoek als onderwijs. Studenten moeten eerst een grondig literatuuronderzoek doen en een hypothese opstellen voordat ze hun project kunnen ontwerpen en bouwen. Hierdoor ontwikkelen ze niet alleen een goed begrip van de theoretische achtergrond van hun onderzoek, maar ook van de praktische implicaties van synthetische biologie. Vervolgens werken de studenten in teams om hun ontwerp te realiseren en hun resultaten te presenteren aan een internationale gemeenschap van wetenschappers en studenten tijdens de jaarlijkse iGEM-conferentie. Dit biedt studenten de kans om hun vaardigheden in onderzoek te ontwikkelen en tegelijkertijd te leren over het belang van wetenschappelijke communicatie. Door deel te nemen aan iGEM krijgen studenten dus niet alleen de kans om hun theoretische kennis toe te passen in de praktijk, maar ook om samen te werken met studenten van over de hele wereld en om zichzelf te ontwikkelen als wetenschappers en communicatoren. Dit maakt iGEM een mooi voorbeeld van de integratie van onderzoek en onderwijs.

In 2020 heeft het Leidse team deze wereldwijde competitie weten te winnen. Dat was een fenomenale prestatie van onze studenten waar dan ook ik erg trots op ben. En niet alleen

omdat het een lastig jaar was met de Coronapandemie, maar met name ook op het feit dat dit project de basis vormde voor het spin-off bedrijf Rapidemic, dat zich richt op de vroege detectie van infectieziektes. Dit laat heel mooi zien hoe je door het creëren van de juiste omstandigheden studenten de ruimte biedt om zichzelf te ontwikkelen en te laten ontdekken waar hun passie ligt. Dat zelf-motiverende leren is iets wat ik nog veel meer zou willen uitbreiden in ons biologie programma. Want door dit soort onderwijsvormen hebben noch studenten, noch docenten het idee dat ze dingen *moeten*. Het is de pure bevolegheid die motiveert.

Dankwoord

Wetenschap is niet iets wat je alleen doet. Ik wil dan ook de laatste minuten gebruiken om mijn dank uit te spreken richting een aantal mensen die onmisbaar zijn geweest en direct of indirect hebben bijgedragen tot deze benoeming. Ik wil het College van Bestuur en het Faculteitsbestuur hartelijk danken voor mijn benoeming en het vertrouwen dat daaruit spreekt. Met vice-decaan Bart de Smit heb ik veel en uitstekende interacties over onderwijsmanagement, en ik zie uit naar onze verdere samenwerking de komende jaren.

Ik ben in 2010 begonnen in Leiden, nadat ik had gesolliciteerd op een vacature bij Prof. Paul Hooykaas. Paul, ik wil je bedanken voor je vertrouwen in mij. Ik waardeer je enorm als persoon en vooraanstaand wetenschapper. Ik realiseer me ook dat je met mijn aanstelling een groter doel voor ogen had, namelijk om de microbiologie in Leiden te versterken en concentreren. Leiden was destijds voor mij een logische keuze. Niet alleen is het een prachtige stad, met hoogstaande wetenschap, maar het was ook aantrekkelijk omwille mijn eigen onderzoeksinteresse in morfologie van streptomyceten, waar ook in Leiden al hoogstaand onderzoek aan werd verricht door de onderzoeksgroep van Gilles van Wezel. De synergie met jou, Gilles, heeft zijn vruchten afgeworpen, en ik heb veel van je mogen leren in de loop der jaren. Niet

alleen wetenschappelijk, maar ook op persoonlijk vlak. Jouw coachende en inspirerende rol zijn op verschillende momenten doorslaggevend geweest in mijn carrière. Ik wil je daarnaast ook bedanken voor de tomeloze inzet die je doet voor het hele instituut. Jij hebt een belangrijke cultuurverandering in het instituut gebracht waardoor de biologie in allerlei opzichten enorm gegroeid is. Ik waardeer met name ook de reden waarom je dit doet: om het verschil te maken. Niet voor jezelf, maar voor iedereen.

Ik heb al een aantal mensen genoemd die een belangrijk inspiratie zijn geweest voor het verloop van mijn carrière, zoals Han Wösten, Lubbert Dijkhuizen en Jeff Errington. Ik wil jullie nogmaals danken voor alles wat jullie voor mij hebben betekend. Ik heb van ieder van jullie dingen veel mogen leren en meegenomen in mijn eigen ontwikkeling, zoals bijvoorbeeld het enthousiasmerende van Han, het verbindende van Lubbert, en het echt nadenken over wetenschappelijke problemen van Jeff. Zonder jullie vertrouwen in mij, Han en Lubbert, had ik hier nooit gestaan. Ik ben jullie ontzettend dankbaar voor alles wat jullie hebben betekend op mijn pad naar dit hoogleraarschap. Jeff, you have been a tremendous mentor during my postdoc years in the UK but have also been supportive in later stages of my career. I would like to thank you for your support and wish you all the best in Sydney, where you are currently establishing a new group.

Ik was hier ook nooit gekomen zonder de inzet van de mensen die onderdeel zijn of waren van mijn groep: Wouter de Jong, Marloes Petrus, Boris Zacchetti, Karina Ramijan, Noortje Dannenberg, Marjolein Crooijmans, Thomas van Dijk, Veronique Ongenae, Zheren Zhang, Xiaobo Zhong, Shraddha Shitut, Renée Kepteijn, Maarten Lubbers, Chennan Yang, Floor Stel en Tijn Delzenne. Ik ben zeer vereerd om met elk van jullie te hebben mogen samenwerken. Jullie enthousiasme is aanstekelijk en een hele belangrijke motivatie voor mij.

Ik ben trots om te zien hoe jullie je ontwikkelen als wetenschappers, maar vooral ook als mens.

Ik zou graag iedereen persoonlijk willen noemen, maar die tijd en ruimte is er helaas niet. Daarom beperk ik me tot een aantal directe collega's met wie ik veel samenwerk: Ariane Briegel, you are an inspiration to many, and I am fortunate to share a few PhD students with you. The meetings we have with them are always joyful and full of laughter. And chocolate, which is always plentiful present in your office, and which acts like a magnet for the entire Institute. I would also like to thank Danny Rozen, who has been an awesome colleague. Danny, you taught me some basic thinking in evolutionary and ecological questions and how to write awesome papers. Sharing some people with you has been a blast, and I hope many more will follow in the coming years. Ik wil ook Erik Vijgenboom bedanken voor zijn open en eerlijke visie op het leven, en voor zijn belangrijke rol in de supervisie van een aantal voormalige promovendi.

Ook veel dank aan alle andere onderzoekers met wie ik veel interacties heb: Nathaniel Martin, Joost Willemse, Lennart Schada von Borzyskowski, Ákos Kovács, Arthur Ram, Han de Winde, Paco Barona-Gómez en Victor Carrion. Een speciaal woord van dank ook voor Ben Lugtenberg, emeritus-hoogleraar Botanische Microbiologie. Ik ben trots dat ik jouw toga heb mogen overnemen en mag dragen. Jij bent voor mij een van de voorbeelden van een gepassioneerd microbioloog.

Aan alle mensen in het IBL-office: ik wil jullie bedanken voor de tomeloze inzet die ons instituut draaiende houdt. Zonder jullie zou het een puinhoop worden. Ik wil daarnaast Anne-Maren Kruse, Peter Inklaar, Ionica Smeets, Remko Offringa, Annemarie Meijer, Manou van der Wolf en Maribel Adame bedanken voor de fijne samenwerking in het managementteam. Ik denk dat we als team hele mooie dingen bereikt hebben en zie uit naar de toekomst van dit mooie, diverse en

veerkrachtige instituut. Maribel, jouw rol als hoofd van de grant office is van grote invloed geweest op het hele instituut door je enorme bijdragen in het faciliteren van onderzoekers met het verwerven van beurzen. Veel dank ook aan Davy de Witt en Ellen de Waal die allerlei cruciale ondersteunende rollen hebben gespeeld voor mijn groep.

Tenslotte, ik zou hier ook nooit gekomen zijn zonder steun van mijn lieve familie en vrienden. Nynke, wij hebben een lang verleden samen gehad waarvoor ik je erg dankbaar ben. Niet alleen heeft het me enorm veel steun gebracht, maar heeft het ook geleid tot 4 prachtige kinderen, waar we beide zo trots op zijn. Pa en ma, ik ben enorm dankbaar hoe jullie er altijd voor mij geweest zijn. Ik denk dat het soms wat ongrijpbaar geweest moet zijn wat ik nou allemaal deed en waarom ik me vaak zo hard inspan, maar ik hoop dat het verhaal vandaag dat ook wat meer duidelijk heeft gemaakt. Ik wil ook graag mijn zus Peggy noemen, die vaak op persoonlijk vlak een heel belangrijk klankbord is. Tenslotte, Romany, Kylian, Yanniko en Elyan. Jullie zijn mijn alles. De liefde die ik voor jullie voel is immens groot en een belangrijke motivatie om me volledig te kunnen geven. Het is een feest om samen met jullie de wereld te ontdekken en jullie te mogen volgen in je ontwikkeling.

Ik heb gezegd.

Referenties

- 1 Barka, E. A. *et al.* Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiol Mol Biol Rev* **80**, 1-43 (2016).
- 2 Schatz, A., Bugie, E. & Waksman, S. A. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Proc Soc Exptl Biol & Med* **55**, 66-69 (1944).
- 3 Schatz, A. & Waksman, S. A. Effect of streptomycin upon *Mycobacterium tuberculosis* and related organisms. *Proc Soc Exptl Biol & Med* **57**, 244-248 (1944).
- 4 Claessen, D., Rozen, D. E., Kuipers, O. P., Søgaard-Andersen, L. & van Wezel, G. P. Bacterial solutions to multicellularity: a tale of biofilms, filaments and fruiting bodies. *Nat Rev Microbiol* **12**, 115-124 (2014).
- 5 Claessen, D., de Jong, W., Dijkhuizen, L. & Wösten, H. A. B. Regulation of *Streptomyces* development: reach for the sky! *Trends Microbiol* **14**, 313-319 (2006).
- 6 Muok, A. R., Claessen, D. & Briegel, A. Microbial hitchhiking: how *Streptomyces* spores are transported by motile soil bacteria. *ISME J* **15**, 2591-2600 (2021).
- 7 Hopwood, D. A. Forty years of genetics with *Streptomyces*: from in vivo through in vitro to in silico. *Microbiology* **145**, 2183-2202 (1999).
- 8 Kysela, D. T., Randich, A. M., Caccamo, P. D. & Brun, Y. V. Diversity takes shape: understanding the mechanistic and adaptive basis of bacterial morphology. *PLoS Biol* **14**, e1002565 (2016).
- 9 Young, K. D. Bacterial shape. *Mol Microbiol* **49**, 571-580 (2003).
- 10 Petrus, M. L. C. & Claessen, D. Pivotal roles for *Streptomyces* cell surface polymers in morphological differentiation, attachment and mycelial architecture. *Antonie van Leeuwenhoek* **106**, 127-139 (2014).
- 11 Flärdh, K. Essential role of DivIVA in polar growth and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol* **49**, 1523-1536 (2003).
- 12 Daniel, R. A. & Errington, J. Control of cell morphogenesis in bacteria: two distinct ways to make a rod-shaped cell. *Cell* **113**, 767-776 (2003).
- 13 Nguyen, L. *et al.* Antigen 84, an effector of pleiomorphism in *Mycobacterium smegmatis*. *J Bacteriol* **189**, 7896-7910 (2007).
- 14 Claessen, D. *et al.* Two novel homologous proteins of *Streptomyces coelicolor* and *Streptomyces lividans* are involved in the formation of the rodlet layer and mediate attachment to a hydrophobic surface. *Mol Microbiol* **44**, 1483-1492 (2002).
- 15 Claessen, D. *et al.* A novel class of secreted hydrophobic proteins is involved in aerial hyphae formation in *Streptomyces coelicolor* by forming amyloid-like fibrils. *Genes Dev* **17**, 1714-1726 (2003).
- 16 Elliot, M. A. *et al.* The chaplins: a family of hydrophobic cell-surface proteins involved in aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor*. *Genes Dev* **17**, 1727-1740 (2003).
- 17 Xu, H., Chater, K. F., Deng, Z. & Tao, M. A cellulose synthase-like protein involved in hyphal tip growth and morphological differentiation in *Streptomyces*. *J Bacteriol* **190**, 4971-4978 (2008).
- 18 Zogaj, X., Bokranz, W., Nimtz, M. & Römling, U. Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family *Enterobacteriaceae* isolated from the human gastrointestinal tract. *Infect Immun* **71**, 4151-4158 (2003).
- 19 Ultee, E. *et al.* Teichoic acids anchor distinct cell wall lamellae in an apically growing bacterium. *Commun Biol* **3**, 314 (2020).
- 20 Zhong, X., Zhang, L., van Wezel, G. P., Vijgenboom, E. & Claessen, D. Role for a lytic polysaccharide monoxygenase in cell wall remodelling. *mBio* **13**, e00456-00422 (2022).
- 21 Ramijan, K. *et al.* Stress-induced formation of cell wall-deficient cells in filamentous actinomycetes. *Nat Commun* **9**, 5164 (2018).

- 22 Klieneberger, E. The natural occurrence of pleuropneumonia-like organisms in apparent symbiosis with *Streptococcus moniliformis* and other bacteria. *J Pathol Bacteriol* **40**, 93-105 (1935).
- 23 Leaver, M., Dominguez-Cuevas, P., Coxhead, J. M., Daniel, R. A. & Errington, J. Life without a wall or division machine in *Bacillus subtilis*. *Nature* **457**, 849-853 (2009).
- 24 Mercier, R., Kawai, Y. & Errington, J. Excess membrane synthesis drives a primitive mode of cell proliferation. *Cell* **152**, 997-1007 (2013).
- 25 Kawai, Y. *et al.* Cell growth of wall-free L-form bacteria is limited by oxidative damage. *Curr Biol* **25**, 1613-1618 (2015).
- 26 Errington, J., Mickiewicz, K., Kawai, Y. & Wu, L. J. L-form bacteria, chronic diseases and the origins of life. *Philos Trans R Soc Lond, B Biol Sci* **371**, 20150494 (2016).
- 27 Peterlin, P., Arrigler, V., Kogej, K., Svetina, S. & Walde, P. Growth and shape transformations of giant phospholipid vesicles upon interaction with an aqueous oleic acid suspension. *Chem Phys Lipids* **159**, 67-76 (2009).
- 28 Mercier, R., Kawai, Y. & Errington, J. General principles for the formation and proliferation of a wall-free (L-form) state in bacteria. *eLife* **3**, 04629 (2014).
- 29 Claessen, D. & Errington, J. Cell wall-deficiency as a coping strategy for stress. *Trends Microbiol* **27**, 1025-1033 (2019).
- 30 Dannenberg, N. *et al.* Mycobacteria form viable cell wall-deficient cells that are undetectable by conventional diagnostics. *bioRxiv*, 516772 (2022).
- 31 van der Meij, A., Worsley, S. F., Hutchings, M. I. & van Wezel, G. P. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. *FEMS Microbiol Rev* **41**, 392-416 (2017).
- 32 Seipke, R. F., Kaltenpoth, M. & Hutchings, M. I. *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme? *FEMS Microbiol Rev* **36**, 862-876 (2012).
- 33 Amijee, F., Allans, E. J., Waterhouse, R. N., Glover, L. A. & Paton, A. M. Non pathogenic association of L form bacteria (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) with bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) and its potential for biocontrol of halo blight disease. *Biocontrol Sci Technol* **2**, 203-214 (1992).
- 34 Bigot, S., Corre, J., Louarn, J. M., Cornet, F. & Barre, F. X. FtsK activities in Xer recombination, DNA mobilization and cell division involve overlapping and separate domains of the protein. *Mol Microbiol* **54**, 876-886 (2004).
- 35 Ongena, V., Briegel, A. & Claessen, D. Cell wall deficiency as an escape mechanism from phage infection. *Open Biol* **11**, 210199 (2021).
- 36 Wohlfarth, J. C. *et al.* L-form conversion in Gram-positive bacteria enables escape from phage infection. *Nat Microbiol* **8**, 387-399 (2023).
- 37 Ongena, V. *et al.* Reversible bacteriophage resistance by shedding the bacterial cell wall. *Open Biol* **12**, 210379 (2022).
- 38 Mickiewicz, K. M. *et al.* Possible role of L-form switching in recurrent urinary tract infection. *Nat Commun* **10**, 4379 (2019).
- 39 Markova, N., Slavchev, G. & Michailova, L. Unique biological properties of *Mycobacterium tuberculosis* L-form variants: impact for survival under stress. *Int Microbiol* **15**, 61-68 (2012).
- 40 Slavchev, G., Michailova, L. & Markova, N. Stress-induced L-forms of *Mycobacterium bovis*: a challenge to survivability. *New Microbiol* **36**, 157-166 (2013).
- 41 Zhang, L. *et al.* An alternative and conserved cell wall enzyme that can substitute for the lipid II synthase MurG. *mBio* **12**, 03381-03320 (2021).
- 42 Zhang, Z., Claessen, D. & Rozen, D. E. Understanding microbial divisions of labor. *Front Microbiol* **7**, 2070 (2016).
- 43 Studer, P. *et al.* Proliferation of *Listeria monocytogenes* L-form cells by formation of internal and external vesicles. *Nat Commun* **7**, 13631 (2016).

- 44 Shitut, S. S. *et al.* Generating heterokaryotic cells via bacterial cell-cell fusion. *Microbiol Spectr*, e0169322 (2022).
- 45 Shitut, S. S., Özer Bergman, G., Kros, A., Rozen, D. E. & Claessen, D. Use of permanent wall-deficient cells as a system for the discovery of new-to-nature metabolites. *Microorganisms* **8**, 1897 (2020).
- 46 Kapteijn, R. *et al.* Endocytosis-like DNA uptake by cell wall-deficient bacteria. *Nat Commun* **13** (2022).



PROF. DR. D. CLAESSEN

Prof. Claessen has a strong interest in the role of the cell wall in bacterial growth and development, and he recently expanded this research theme to the biology of cell wall-deficient cells. Most of the funding in the Claessen lab is obtained from the Netherlands Organisation for Scientific Research (NWO). Most notably, Claessen received the prestigious Vici grant for studying consequences and regulation of cell wall-deficiency. Previously, Claessen was awarded a Vidi grant and prestigious fellowships from EMBO and Marie Curie. Prof. Claessen has over 60 publications in peer-reviewed journals, including Nature Communications, Nature Reviews in Microbiology, mBio, Genes & Development, Open Biology, Trends in Microbiology and Molecular Microbiology.



Universiteit
Leiden