

University of Groningen

Function and expression of hydrophobins in the basidiomycetes *Schizophyllum commune* and *Agaricus bisporus*

Lugones, Luis Gastón

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:

1998

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

Citation for published version (APA):

Lugones, L. G. (1998). Function and expression of hydrophobins in the basidiomycetes *Schizophyllum commune* and *Agaricus bisporus* Groningen: 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).

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.

Het in dit proefschrift beschreven werk betreft voornamelijk de expressie en functie van hydrofobine genen in de homobasidiomyceten *Schizophyllum commune* en *Agaricus bisporus* (gewone champignon).

Hoofdstuk II and **Hoofdstuk III** behandelen de isolatie en karakterisering van twee hydrofobines uit *A. bisporus* en van de voor deze eiwitten coderende genen welke tot expressie komen in verschillende levensstadia van de organisme. *ABH1* komt tot expressie in de vruchtlichamen en *ABH3* in het vegetatieve mycelium van *A. bisporus*. Beide hydrofobines bleken eigenschappen te hebben vergelijkbaar met die van de *SC3* hydrofobine van *S. commune*. *ABH1* geeft hydrofobiciteit aan de meest externe weefsels van de hoed van de vruchtlichamen maar is ook in mindere mate aanwezig in het interne weefsel van de hoed. *ABH3* wordt uitgescheiden in het cultuurmedium en bedekt luchthyfen welke hierdoor hydrofoob zijn. Mogelijkerwijs is *ABH3* ook betrokken bij het doorbreken van de oppervlakte door middel van een verlaging van de oppervlaktetension, zoals bleek uit gedeeltelijke complementatie van een *SC3* mutant van *S. commune* door *ABH3*.

In **Hoofdstuk IV** wordt de isolatie en karakterisering van het hydrofobine *SC4* van *S. commune* beschreven. Antilichamen tegen *SC4* en *ABH1* werden gebruikt om deze twee eiwitten in het plectenchym van vruchtlichamen van respectievelijk, *S. commune* en *A. bisporus* te lokaliseren. Op grond van de *in vitro* bepaalde eigenschappen van deze hydrofobines, wordt aangenomen dat hyfen in het plectenchym hydrofobine monomeren uitscheiden welke diffunderen in de extracellulaire matrix en dat, wanneer deze monomeren in contact komen met lucht, assemblage optreedt. Hierdoor worden de luchtkanalen aanwezig in deze weefsels voorzien van een hydrofobe bedekking, in overeenstemming met de gevonden lokalisatie van deze hydrofobines. Hierdoor wordt waarschijnlijk bereikt dat deze kanalen open blijven en niet gevuld worden met water onder natte omstandigheden waardoor de gas uitwisseling in deze weefsels beperkt zou worden.

Om te onderzoeken of hydrofobines met vergelijkbare fysisch-chemische eigenschappen elkaar kunnen vervangen werd er gepoogd om de fenotype van een *SC3* mutant van *S. commune* te complementeren met het *ABH1* gen van *A. bisporus* (**Hoofdstuk V**). Hoewel de expressie van *ABH1* in deze stam hoog was en leidde tot het verschijnen van rodlets op de oppervlakte van luchthyfen, werd geen herstel waargenomen van het hydrofobe karakter van deze hyfen. Waarschijnlijk komt dit door de gevoeligheid van *ABH1* voor proteolyse.

Hoofdstuk VI rapporteert de base volgorde van het *SC6* gen dat voor een vierde hydrofobine van *S. commune* bleek te coderen. Het *SC6* eiwit heeft een opvallend lang hydrofiel segment voor het eerste cysteine residu van de voorspelde "mature" eiwit, veel langer dan in andere bekende hydrofobines. Om de eigenschappen van *SC6* te bestuderen, werd geprobeerd over-expressie van *SC6* in een monokaryon te verkrijgen. Hoewel een hoge *SC6* mRNA accumulatie werd waargenomen wanneer de *SC6* coderende gebied onder controle van de regulatorische sequenties van *SC3* werd gebracht, kon geen *SC6* eiwit worden gedetecteerd.

Hoofdstuk VII beschrijft de isolatie van het *SC15* gen dat codeert voor een eiwit dat abundant wordt uitgescheiden in het cultuurmedium en dat ook aanwezig is in de polysaccharide matrix die de luchthyfen omgeeft. Evenals *SC3* schijnt *SC15* gereguleerd te worden door de *MATB* genen. De betrokkenheid van *SC15* in de vorming van luchthyfen wordt gesuggereerd door het feit dat mutaties welke de formatie van luchthyfen negatief beïnvloeden (*thn* and *matBcon*) ook de expressie van *SC15* remmen.

Hoofdstuk VIII behandelt een fenomeen waargenomen tijdens de complementatie

experimenten beschreven in Hoofdstuk V. *ABH1*, *SC3* en *SC6* bleken alleen tot expressie te komen (mRNA vorming) wanneer intronen aanwezig waren in de getranscribeerde deel van het gen. De intronen bleken nodig te zijn voor de verwerking van het primaire transcript tot mRNA. Introductie van één kunstmatige intron was genoeg om mRNA accumulatie te induceren uitgaande van een intronloos gen. Deze resultaten openen nieuwe perspectieven voor de expressie van heterologe genen in homobasidiomyceten.

Alic, M
adenine
494.

Arundh
type 1 p
conditio

Ásgeirs
Univers
Ásgeirs
chromo

Ásgeirs
control
1281-12

Ásgeirs
genes o
Biol 22

Austin,
Neurosp

Barrett
Microbi

Bell-Pec
is allelic
6, 2382-

Binning
basidion

Bowden
the cerat

Bowden
(1996).
Microbe

Buchma
Mol Cell

Callis, J
Dev 1, 1

Carle-U
splicing-

Carrez,
R. (1990)
nidulans

Casselto
Microbi

Chee, P.
in foreig

Chung, S
Mol Cell

Craig, G
stipe elon

De Groo
Agaricus
caps dur

De Vrie
complex