

University of Groningen

## Engineering reaction and product specificity of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251

van der Veen, Bartele Andries

**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:*  
2000

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

*Citation for published version (APA):*

van der Veen, B. A. (2000). Engineering reaction and product specificity of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus circulans* strain 251 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.

Engineering reaction and product specificity  
of cyclodextrin glycosyltransferase from  
*Bacillus circulans* strain 251

Bart van der Veen

Department of Microbiology, University of Groningen  
(June 2000)

The work described here was financially supported by grants of the Netherlands Ministry of Economic Affairs, the Ministry of Education, Culture and Science, the Ministry of Agriculture, Nature Management and Fisheries, and the Netherlands Organization for Scientific Research (NWO) in the framework of the biotechnology programme of the Association of Biotechnology Research Schools in the Netherlands (ABON).

Rijksuniversiteit Groningen

Engineering reaction and product specificity  
of cyclodextrin glycosyltransferase from  
*Bacillus circulans* strain 251

Proefschrift

ter verkrijging van het doctoraat in de  
Wiskunde en Natuurwetenschappen  
aan de Rijksuniversiteit Groningen  
op gezag van de  
Rector Magnificus, dr. D.F.J. Bosscher,  
in het openbaar te verdedigen op  
vrijdag 8 september 2000  
om 16.00 uur

door

**Bartele Andries van der Veen**

geboren op 22 februari 1970  
te Surhuisterveen

Promotores:

Prof. Dr. L. Dijkhuizen  
Prof. Dr. B. W. Dijkstra

Beoordelingscommissie:

Prof. Dr. D.B. Jansen  
Prof. Dr. W.N. Konings  
Prof. Dr. B. Poolman

# Voorwoord

Het is moeilijk om na al die jaren, en vooral de laatste periode van intensief werken aan het gereedmaken van dit boekje, terug te kijken naar alles wat hieraan vooraf ging. Laat ik dus maar bij het begin beginnen; hoe ik als enthousiaste vogelaar begon met mijn studie biologie. Hier werd nog bijna een stokje voor gestoken, doordat ik naar aanleiding van de keuring voor de militaire dienst werd uitgenodigd om maar eens te proberen of ik niet piloot op een F16 zou kunnen worden. “Gelukkig” werd ik in de tweede keuringsronde te emotioneel bevonden, zodat ik naar huis kon gaan en kon beginnen aan mijn studie. “Gelukkig”, omdat ik in mijn tweede studiejaar tijdens een avondje stappen Anneke tegenkwam, wat waarschijnlijk niet gebeurd zou zijn tijdens een opleiding tot vliegenier, omdat daarbij het tweede jaar zich grotendeels in Texas afspeelt. Tevens kon ik nu op zaterdag bij heit blijven werken in “ons familiedrijfje”.

Tijdens mijn studie kwam ik er al snel achter dat vogelen een leuke hobby is, maar dat microbiologie en biochemie me als werk toch meer aantrokken. Zo kwam ik in contact met professor Dijkhuizen en Dirk Penninga, die mij de gelegenheid boden als student te werken aan het CGTase. Inmiddels waren Anna en ik gaan samenwonen in Drachten, hetgeen ons mede mogelijk werd gemaakt door de Nederlandse regering die op het lumineuze idee kwam om iedere student te voorzien van een OV-jaarkaart, daarvoor dank. Toen ik afgestudeerd was kon ik solliciteren naar een baan als AIO bij het CGTase project, wat ik ook meteen deed, omdat het werk en de mensen eromheen me prima waren bevallen. Nu was de regering echter minder behulpzaam en het ministerie van defensie vond dat ik toch eerst mijn dienstplicht moest vervullen. Gelukkig waren Anna en ik zo ver gevorderd in onze relatie, dat we wel graag wilden trouwen en dankzij heit en mem konden we dat ook nog zo doen als we graag wilden.

Zo kon ik dus als kostwinner beginnen als AIO, waarbij de bijverdienste op het tuincentrum, eerst bij heit en later bij broertje Gerard geen overbodige luxe was, zoals mede-AIOs zeker zullen beamen. Overigens was dat werk op het tuincentrum ook een welkome afwisseling, die me in contact hield met de reden waarom ik biologie was gaan studeren. De laatste jaren van mijn AIO-schap werd die afwisseling vooral verzorgd door eerst Patrick en later ook Thirsa.

Als AIO had ik het geluk dat Lubbert en Bauke me de kans gaven de dingen te doen die me zelf interessant leken, daarvoor dank. Ik hoop dat uit dit boekje blijkt dat die dingen ook inderdaad interessante resultaten opgeleverd hebben. Verder wil ik alle mensen in en rond het lab bedanken voor de samenwerking en de prettige sfeer op het werk.

Tot slot lieve Anna, bedankt voor je steun en vertrouwen. De avonden en weekends zijn nu weer voor jou en de kids.

Bart

Voor Anna, Patrick en Thirsa



# Contents

Chapter 1	Introduction to cyclodextrin glycosyltransferase	9
Chapter 2	The raw starch binding domain of cyclodextrin glycosyltransferase from <i>Bacillus circulans</i> strain 251	45
Chapter 3	The three transglycosylation reaction catalyzed by cyclodextrin glycosyltransferase from <i>Bacillus circulans</i> strain 251 proceed via different kinetic mechanisms	63
Chapter 4	Rational design of cyclodextrin glycosyltransferase from <i>Bacillus circulans</i> strain 251 to increase $\alpha$ -cyclodextrin production	77
Chapter 5	The role of arginine 47 in the cyclization and coupling reactions of cyclodextrin glycosyltransferase from <i>Bacillus circulans</i> strain 251: implications for product inhibition and product specificity	95
Chapter 6	The role of the acceptor binding site in reaction mechanism and reaction specificity of cyclodextrin glycosyltransferase from <i>Bacillus circulans</i> strain 251	111
Chapter 7	References	125
Chapter 8	Concluding remarks	137
Chapter 9	Summary	145
Chapter 10	Samenvatting	151