

Winnaar van de Chemici Leuven/PDL Prijs voor de Beste Masterstudent Biochemie en Biotechnologie academiejaar 2021-2022

DOOR ALANNAH HOLDERBUSCH

Veel micro-organismen, zoals bacteriën en schimmels (fungi), spelen een belangrijke rol in een gezond menselijk lichaam, maar sommige zijn in meer of mindere mate ziekteverwekkend. Bepaalde pathogene fungale soorten kunnen ernstige ziektes veroorzaken bij de mens, voornamelijk bij patiënten met een verzwakt immuunsysteem.

In vergelijking tot het beschikbare arsenaal aan middelen om bacteriële infecties te lijf te gaan, zijn er beduidend minder klassen van antischimmel-middelen beschikbaar om infecties te bestrijden. Dat komt door de grote gelijkenis tussen menselijke en fungale cellen, waardoor vaak toxiciteit optreedt. Daarnaast wordt resistentie tegen bestaande geneesmiddelen een steeds groter probleem. Het laboratorium Moleculaire Celbiologie, onder leiding van Professor Van Dijck, is om die redenen op zoek naar nieuwe antifungale middelen. Aan dat project mocht ik een jaar meewerken.

Veel hedendaagse antimicrobiële drugs zijn afkomstig van stoffen die aangemaakt worden door microben als deel van hun natuurlijk afweersysteem. Het screenen van grote collecties microben voor hun vermogen om microbiële groei tegen te gaan, heeft in het verleden veel succes opgeleverd. Herontdekkingen van dezelfde medicijnen zorgde echter voor een verminderde ontwikkeling van nieuwe drugs. Het laboratorium van Professor Van Dijck heeft een collectie gekweekt van microben die normaal moeilijk te cultiveren zijn in een laboratoriumsetting. De verwachting is dat, als we die nieuwe collectie van microben gaan screenen, er ook nieuwe antifungale middelen uit zullen komen in plaats van stoffen die al bekend zijn voor hun antifungale werking.

De microbiële collectie werd eerder opgegroeid en onderzocht voor activiteit tegen *Candida albicans*, een veelvoorkomende en in sommige omstandigheden pathogene gist. *C. albicans* komt van nature voor in de mens, maar als de omstandigheden tegenzitten, zal het infecties veroorzaken met hoge dodentallen tot gevolg. Het screenen van de nieuwe collectie heeft verschillende hits opgeleverd. De volgende stap, en dat is die waaraan ik heb meegewerkt, was om de antifungale stoffen die geproduceerd werden door de grootste hits te zuiveren en te karakteriseren.

De microbiële stammen werden eerst geïdentificeerd via DNA sequencing en vervolgens werd de respectievelijke literatuur uitgekamd voor meldingen van eerder bekende antifungale activiteit. Zo verfijnen we de zoektocht naar een nieuw antifungaal middel, door stammen met bekende activiteit vroegtijdig uit te sluiten.

Ik heb voornamelijk meegewerkt aan het onderzoek naar twee specifieke bacteriën en een schimmel die de groei van *C. albicans* kunnen onderdrukken. De antifungale stoffen die gesecreteerd worden door deze drie stammen werden opgezuiverd via verschillende technieken, waaronder HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Een volledige opzuivering was echter nog niet mogelijk, dat is nog steeds lopend. Wel hebben we een initiële karakterisatie uitgevoerd op de deels opgezuiverde componenten. Als resultaat hebben we onder andere aangetoond dat de componenten voorlopig niet toxisch blijken tegen menselijke cellen. Overige testresultaten zijn ook hoopgevend voor verdere ontwikkeling tot een nieuw medicijn. Vervolgonderzoek zal de uiteindelijke structuur van die componenten achterhalen en aantonen of de middelen uiteindelijk voor medisch gebruik kunnen dienen. Ik kijk er naar uit om te zien wat er in de toekomst verder uit dit onderzoek naar voor komt, hopelijk is de goedkeuring van een nieuw antischimmelmedicijn nabij.

Alannah Holderbusch schreef een masterproef met de titel 'Purification and identification of unknown antifungal secondary metabolites from soil microbes' (promotor Patrick Van Dijck, co-promotor Joleen Masschelein).



KU LEUVEN FACULTY OF SCIENCE

Purification and identification of unknown antifungal secondary metabolites from soil microbes

Alannah HOLDERBUSCH

Supervisor: Prof. P. Van Dijk
KU Leuven | Department of Biology

Co-supervisor: Prof. J. Maschelein
KU Leuven | Department of Biology
VIB | Center for Microbiology

Mentor: G. Vanreppelen
KU Leuven | Department of Biology

This thesis is presented in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biochemistry and Biotechnology

Academic year 2021-2022

Winner of the PDL prize for Best Master Student in Biology of 2021-2022

BY MAJDULIN NABIL ISTIBAN

For the first time since it was established, the “PDL-prijz voor de beste masterthesis biologie” was awarded to a foreign student. Congratulations, Majdulin Istiban!

KU Leuven and its Faculty of Science provided a challenging and enriching environment for my graduate studies, despite the extenuating circumstances involving remote work and safely limited social interactions due to COVID. I particularly enjoyed the course “Critical discussions in molecular biology and physiology” led by Prof. Eve Seuntjens, which involved the active dissemination and analysis of journal articles with their authors and other subject matter experts.

As part of my thesis project, I joined the labs of Prof. William Schafer (Genetic and Neurochemical Basis of Behavior) and Prof. Isabel Beets (Neural Signaling and Circuit Plasticity).

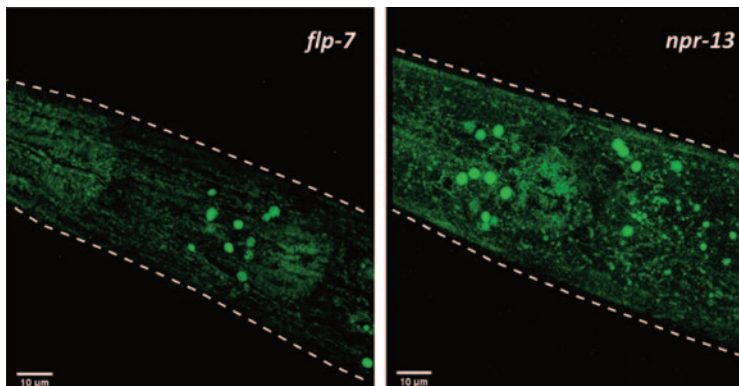
Using the small 1-mm *Caenorhabditis elegans* worm as a model organism, both labs investigate the regulation of arousal by the nervous system. This is a behavioral state that allows organisms to escape threatening situations by becoming faster and more alert. The increase in sensory alertness is referred to as sensitization.

Despite their small size and compact nervous system, *C. elegans* can perceive and respond to a variety of stimuli, including touch, chemicals, humidity, vibrations, different gases, and more. If exposed to a noxious cue (tapping their container), *C. elegans* exhibit increased speed for around two minutes and are primed to a specific chemical called glycerol.

This behavioral state was previously explored in Prof. Schafer’s lab with an emphasis on the regulatory role of neuropeptides. These neuropeptides act as chemical signals by binding to receptor proteins on the surface of target cells. This includes the neuropeptide *flp-7* and the receptor *npr-13*, which appear to be involved in glycerol response sensitization after taps.

The important distinction is that these neuropeptide candidates *do not* appear to affect acceleration, and only influence sensitization to glycerol. Testing this theory involved stimulating worms where *flp-7* or *npr-13* were mutated and not functional. If these candidates were actually required for arousal, their absence would impair *C. elegans*’ response. My project involved verifying that acceleration is not regulated by these candidates; preliminary data corroborates that neither candidate is required for increased speed after plate taps.

Another noxious stimulus for *C. elegans* is the atmospheric oxygen level. This serves as an indicator for surface exposure, implying a higher chance of predation. To escape this unfavorable environment, worms speed up until they find more suitable conditions. We tested whether our gene candidates may also be involved in acceleration relative to ambient oxygen levels. Our data suggest a potential role for *flp-7* in this escape response but not *npr-13*. More detailed experiments will seek to further define the roles of *flp-7* and *npr-13* in arousal and oxygen-induced escape responses. Better understanding the cellular, molecular, and regulatory basis of arousal through smaller discoveries like these could unlock new tools for manipulating the level of alertness of organisms.



Head neurons in *C. elegans* expressing *flp-7* (left) and *npr-13* (right), labeled with a green fluorescent protein, GFP. (Image credit to Keertana Venkatesh. Beets lab, KU Leuven)

The title of Majdulin Istiban’s thesis is “Neuropeptidergic circuitry governing arousal in *C. elegans*” – promoter William Schafer; co-promoter Isabel Beets