



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Genetic background of *Porphyromonas gingivalis* capsule biosynthesis

Brunner, J.

Publication date
2011

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Brunner, J. (2011). *Genetic background of Porphyromonas gingivalis capsule biosynthesis*.

General rights

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), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Samenvatting

Parodontitis is een inflammatoire aandoening van het weefsel rond de tanden. Het ontstaat door een bacteriële infectie van het tandvlees waarna door de daaropvolgende ontstekingsreactie uiteindelijk het bot rond de tanden wordt aangetast. Dit kan zelfs leiden tot tanduitval. Parodontitis is een van de meest voorkomende infectieziekten met een prevalentie van meer dan 50% in de volwassen populatie in de Verenigde Staten.

Parodontitis is een multifactoriële aandoening met zowel een levensstijl component, als een genetische en een bacteriële component. Er zijn dan ook vele manieren om onderzoek te doen naar deze ziekte. In deze studie is er gekozen om te focussen op *Porphyromonas gingivalis*, een van de bacteriën die een rol spelen in het ontstaan van parodontitis. *P. gingivalis* is een van de spelers in de sub-gingivale biofilm, het complexe ecosysteem dat zich bevindt onder het tandvlees, die een sterke associatie heeft met de ziekte parodontitis. Omdat *P. gingivalis* slechts een klein deel van de totale biofilm uitmaakt, wordt aangenomen dat interacties met andere bacteriën een grote rol spelen in het ontstaan van parodontitis. In die interacties speelt het polysaccharide kapsel, een soort slijmerige suikerlaag aan de buitenkant van de *P. gingivalis* cel, een belangrijke rol. Bovendien speelt het kapsel een grote rol in de aanhechting aan humane cellen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat niet iedere *P. gingivalis* stam een kapsel heeft en dat het bezit van een kapsel de bacterie meer virulent maakt in een muis-infectie model. Het kapsel wordt dan ook gezien als een belangrijke virulentie factor en een mogelijk target voor therapie ontwikkeling. Het preciese werkingsmechanisme van het kapsel is nog niet opgehelderd en ook de chemische structuur is nog niet bepaald. Dat er minstens zes kapsel-varianten (serotypen K1-K6) zijn is wel duidelijk geworden in eerder onderzoek. De serotypen hebben verschillende chemische samenstellingen waardoor ze verschillend herkend worden door antilichamen. De genetische achtergrond van kapsel synthese is vooralsnog niet in detail bekend.

In deze studie is er dan ook voor gekozen om te achterhalen wat de genetische achtergrond van kapselsynthese is en welke rol het kapsel heeft in infectie.

In **hoofdstuk 1** wordt een aantal gereedschappen beschreven die kunnen helpen bij het verkrijgen van inzicht in de genetica van onder anderen kapsel synthese. Er worden plasmiden beschreven die een gemakkelijke integratie van te bestuderen genen in het genomische DNA

van de bacterie mogelijk maken. Dit maakt het mogelijk om genen waarvan de functie nog niet bekend is in te brengen in een *P. gingivalis* stam naar keuze om het effect op de fysiologie van de bacterie te bestuderen. Daarnaast wordt de constructie van een ongekapselde mutant waarin één gen (*epsC*) in de kapsel biosynthese is kapotgemaakt beschreven. Met deze isogene kapselmutant laten we in **hoofdstuk 4** zien dat het bestuderen van de rol van het kapsel een stuk eenvoudiger wordt gemaakt. Door zowel de moederstam met een kapsel als de dochterstam zonder kapsel in infectie experimenten mee te nemen is duidelijk geworden dat het kapsel een onderdrukker van de humane immuunrespons van gingivale fibroblasten is. Deze experimenten geven nog geen uitsluitsel hoe een stam met kapsel gevaarlijker kan worden dan een stam zonder, maar het is duidelijk dat een verandering optreedt in de herkenning door het humane immuunsysteem.

In **hoofdstuk 3** is er gekeken naar de genetische samenstelling van het kapsel polysaccharide biosynthese locus zoals dat eerder beschreven was. In deze studie, echter, is er gekeken naar een set van 10 stammen van één enkel serotype (K1). Hierbij bleek uit restrictie fragment lengte polymorfisme (RFLP) analyse en polymerase kettingreactie (PCR) analyse dat het kapsel synthese locus tussen de stammen van één type heel weinig variatie vertoonde. Op basis daarvan was het mogelijk om een snelle PCR detectie methode te ontwikkelen die specifiek het K1 serotype kan detecteren. De methode is geschikt voor zowel geïsoleerd *P. gingivalis* DNA, als voor een kort topgekookt complex patient monster. Studies die het K1 serotype classificeren als het meest virulent ondersteunen de relevantie van deze PCR methode.

In **hoofdstuk 5** is een studie beschreven waarin aan de hand van genomische DNA hybridizaties de genetische samenstelling van stammen van de verschillende *P. gingivalis* serotypen wordt bestudeerd. Door middel van een microarray techniek die vergelijkende genomische hybridizatie (CGH) wordt genoemd kan de samenstelling van het genoom op genniveau worden bepaald. Deze manier van vergelijken met de W83 stam waar de genoomsequentie van bekend is geeft een beeld van de variatie tussen *P. gingivalis* stammen. Door van ieder serotype een stam mee te nemen in de studie kunnen bij inzoomen de verschillen tussen de kapsel synthese loci van de verschillende typen beschreven worden. Een andere interessante uitkomst van deze studie is de beschrijving van het geconserveerde core genoom van *P. gingivalis*. Hierin worden alle genen beschreven die vrijwel onveranderd aanwezig zijn in ieder van de stammen die meegenomen zijn in de studie. Uit de resultaten blijkt dat ongeveer 80 % van de W83 genen

voorkomt in alle andere stammen. 20 % van de W83 genen blijkt dus meer of minder variabel in deze set.

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift heeft een aantal waardevolle dingen opgeleverd. Allereerst een aantal nieuwe gereedschappen voor verdere studies van het *P. gingivalis* polysaccharide kapsel, waaronder een PCR techniek, een ongekapselde mutant en breed-toepasbare integratie plasmiden. Verder heeft het onderzoek fundamentele kennis over het kapsel biosynthese locus en de rol van het kapsel opgeleverd. Het begin van de beschrijving van een geconserveerde core genset is zeer waarschijnlijk een belangrijke stap in *P. gingivalis* onderzoek. Genetische overeenkomsten en verschillen zoals gevonden zullen belangrijk blijken in variatie in virulentie. Bovengenoemde resultaten en bevindingen zijn dan ook een mogelijk startpunt voor interessant nieuw onderzoek.