

Prof.dr. Bert van Duijn

Spanning in de Plant



Universiteit Leiden

Spanning in de Plant

Oratie uitgesproken door

Prof.dr. Bert van Duijn

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de

Plantenelektrofysiologie

aan de Universiteit Leiden

op maandag 16 februari 2009



Universiteit Leiden

Meneer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,

Als wij op een maandag in het jaar 1900, meer dan 100 jaar geleden, op het hiernaast gelegen Rapenburg hadden gelopen was er een goede kans om een met pijl en boog gewapende keurig geklede heer tegen het lijf te lopen. Een merkwaardig en onverwacht tafereel in het vredige straatbeeld. De man is toch wel degelijk van plan om de pijlen af te schieten om daarmee een doorbraak te bewerkstelligen. Niet een doorbraak in een gewapende strijd, maar een doorbraak in de elektrofysiologie. Zijn schietbaan is het laboratorium voor Fysiologie aan de nabijgelegen Zonneveldstraat, waar hij zijn pijlen meer en minder gericht afschiet.

De levenswetenschappen ondervinden de laatste jaren een oplevende en nog steeds toenemende belangstelling van publiek en overheid. Toename en verflauwing van publieke en bestuurlijke aandacht, en bemoeienis, met de wetenschap en zeker ook de levenswetenschappen over de eeuwen heen vinden veelvuldig plaats. De huidige opleving vertoont echter een paar opmerkelijke trekken. Wetenschappelijke doorbraken en op basis daarvan gehoopte of gevreesde spectaculaire veranderingen voor de mens en de natuur liggen meestal ten grondslag aan sterke toename in belangstelling. Ook in de huidige tijd ondergaan de levenswetenschappen, waaronder de geneeskunde en biologie, een revolutionaire ontwikkeling. Deze revolutie vindt haar basis in de grote technische en wetenschappelijke doorbraken in de moleculaire biologie en de genetica. De toegenomen maatschappelijke belangstelling en discussie, de hoop op en vrees voor verschillende toepassingen van onze explosief groeiende kennis in dit gebied zijn met name gericht op de medische aspecten en genetische modificatie. Opmerkelijk is dat naast deze belangstelling door de wetenschappelijke doorbraken in de moleculaire biologie, de plantenbiologie sinds kort steeds sterker in de belangstelling komt onafhankelijk van wetenschappelijke doorbraken. Het is de wereldomvattende problematiek rond de energie- en voedselvoorziening die het plantenonderzoek steeds verder in een

centrale positie manoeuvreert en belangrijk maakt. Het is immers de plant die in de energie- en voedselvoorziening altijd de sleutelpositie heeft gehad en deze ook in de toekomst zal behouden. Voor het genereren van alternatieven voor de fossiele, zeg maar oude planten, energiebronnen wordt nadrukkelijk naar de plantenonderzoeker gekeken. Ook voor het realiseren van voldoende voedselproductie bij een wereldwijd afnemend landbouwareaal veroorzaakt door een sterke bevolkingstoename en verstedelijking, woestijnvorming, verzilting door irrigatie en gebrek aan zoet water is voor de plant en het plantenonderzoek, waaronder de plantenelektrofysiologie een centrale rol weggelegd.

Ten eerste zal ik vandaag ingaan op de historie van de elektrofysiologie en de rol die Leiden hierin heeft gespeeld, het onderzoek dat we meer recent hebben uitgevoerd in Leiden en de onderzoeksstrategie voor de komende jaren.

Daar waar de moleculaire biologie en de biochemie zich richten op levensprocessen waaraan chemische reacties ten grondslag liggen, richt de fysiologie zich op de processen waarbij de fysica, of wel de natuurkunde, een hoofdrol speelt. Het organisme kenmerkt zich door een groot aantal evenwichtstoestanden, die in stand worden gehouden door één of meer regelmechanismen. De fysiologie tracht deze mechanismen te ontrafelen. Binnen het kader van de fysiologie wordt onderzoek verricht op het niveau van hele organismen, het niveau van orgaansystemen en van organen, het niveau van de cel en zelfs op het niveau van celonderdelen en individuele moleculen. De elektrofysiologie, als bijzondere discipline binnen de fysiologie, speelt zich ook af op de verschillende organisatieniveaus van compleet organisme tot aan individuele eiwitten. Wat kenmerkt nu de elektrofysiologie? De elektrofysiologie houdt zich bezig met de processen en regelsystemen in organismen waarbij elektriciteit een belangrijke rol speelt. Termen zoals elektrische spanning, Volt, stroom, Ampère, elektrische geleiding, wet van Ohm, batterij, en elektrische capaciteit behoren dan ook tot het vocabulaire van de elektrofysioloog.

Daarnaast is het in de elektrofysiologie gebruikelijk om ook via het opstellen van wiskundige en fysische modellen tot verklaringen en dieper inzicht te komen van de gemeten verschijnselen. De interactie tussen experimenteren en modeleren is sterk.

De associatie tussen elektriciteit en hersenen en zenuwen en spieren bestaat bij een breed publiek. Veel minder bekend is dat alle cellen, van bacterie tot levercel, zonder elektriciteit en elektrische signalen niet kunnen bestaan, en dat dus ook planten afhankelijk zijn van elektrische spanning en elektrische stroom, en gebruik maken van elektrische signalen. Minder bekend is ook dat onderzoekers van de Universiteit Leiden aan de basis stonden van doorbraken in de elektrofysiologie. In het vervolg van mijn betoog zal ik aard, achtergrond en belang van de elektrische eigenschappen van cellen schetsen aan de hand van de historische ontwikkelingen binnen dit vakgebied. Hierbij zal ook de rol van de Leidse onderzoekers naar voren komen.

De ontdekkingen van effecten van elektriciteit op dieren, mensen en planten en de aanwezigheid van elektriciteit in levende organismen in de 18^{de} en 19^{de} eeuw gaan hand in hand met de ontdekkingen in de natuurkunde over de aard van elektriciteit en technische ontwikkeling die het opwekken en meten van elektrische spanning en stroom mogelijk maakten. Met behulp van de door Pieter van Musschenbroek in 1745 ontwikkelde ‘Leidsche Fles’, waarin elektrische lading kan worden opgeslagen, kwam de Amerikaan Edward Bancroft in 1769 tot de conclusie dat de schok van de Torpedo vis niet mechanisch maar elektrisch van aard is. Een revolutionaire gedachte, aangezien de algemene gedachte was dat elektriciteit en water niet samen konden gaan, en het idee van een elektrische vis als absurd werd bestempeld. Vier jaar later echter liet John Walsh in zijn huis in Londen aan vrienden en collega’s zien dat een sidderaal buiten het water vonken kon doen overslaan naar dunne stripjes tin. Hierdoor werd duidelijk dat dierlijke elektriciteit werkelijk bestaat. Ondertussen werd er druk geëxperimenteerd

met het toedienen van elektrische schokken om doden of schijnbaar doden tot leven te wekken. Zowel proefdieren, ter dood gebrachte misdadigers als slachtoffers van ongevallen werden met zeer wisselend succes met elektriciteit behandeld. Elektrotherapie ter bestrijding van de meest uiteenlopende kwalen kwam in zwang.

De eerste die echt een relatie vaststelde tussen elektriciteit, zenuwcellen en spiercontractie was de Italiaan Luigi Galvani.¹ Tussen 1786 en 1791 voerde hij series experimenten uit met kikkers waarbij duidelijk werd dat elektrische stimulatie, al dan niet via zenuwvezels, leidt tot contractie van skeletspieren en hartspieren. Voor het vast stellen dat dieren zelf ook elektriciteit gebruiken voor het regelen van spiercontractie was echter een gevoelige elektriciteitsmeter nodig. Met de uitvinding van de galvanometer in 1820 kwam een dergelijk instrument beschikbaar. Hoewel al zeven jaar later werd aangetoond, door Leopold Nobili, dat er inderdaad elektrische stroom loopt van de spieren naar het ruggenmerg in het lichaam van de kikker, duurde het tot 1843 voordat het eerste actiepotentiaal tijdens een spiercontractie werd gemeten en vastgelegd. De Duitse fysioloog Emil Du Bois Reymond ontwikkelde een zeer gevoelige galvanometer waarmee hij in de rustende spier een klein elektrisch potentiaal verschil kon meten.² Tijdens de spiercontractie nam hij waar dat dit potentiaalverschil kleiner werd.

Bij het toepassen van elektriciteit werden de planten niet vergeten. De plant *Mimosa* sprak al eeuwen tot de verbeelding doordat deze plant bij de lichtste aanraking en luchttrillingen de bladen zeer snel samenvouwt. In 1811 lukt het de Duitser Ritter om *Mimosa* elektrisch te stimuleren. Het zou echter nog tot 1873 duren voordat ook bij planten actiepotentialen werden gemeten.³ In dit Darwinjaar is het aardig te melden dat Charles Darwin hierbij een rol speelde. Darwin was gefascineerd door bewegingen bij planten. Zijn onderzoeken aan wortelgroei bij erwtenplanten leidden in 1865 tot de ontdekking dat door aanraking de richting van de groei verandert. Hierdoor kunnen plantenwortels in de grond om steentjes

heen groeien. Ook de vleesetende plant *Venus vliegenvall* interesseerde hem sterk. Hoe kan deze plant bewegen en de insecten gevangen nemen? Doodt de plant insecten om er zichzelf mee te voeden? Vragen waarop in die tijd geen antwoorden waren. Darwin voerde experimenten uit waarbij hij de planten voerde met vlees, kaas, vele andere voedingsmiddelen en zelfs zijn eigen teennagels, en ontdekte dat de plant zich niet alleen voedt met de insecten, maar ook tastzin en smaak bezit. De reactie op aanraking is zeer snel. Binnen drie tiende van een seconde kan de plant reageren. Het was Charles Darwin die zich plotseling de grote overeenkomst met de dierlijke zenuwreflexen realiseerde, en dat elektrische signalen de beweging van de val zouden kunnen reguleren. Bij gebrek aan de benodigde apparatuur stuurde hij op 9 september 1873 vijf *Venus vliegenvall* planten naar de medisch fysioloog Sir John Burdon-Sanderson aan het University College te Londen. In zijn aankondiging van de verzending merkte hij nog op dat de bladen van de plant goedaardig zijn, wat suggereert dat ook in die tijd fantasieën over mensverslindende vleesetende planten niet onbekend waren. Al drie dagen na aankomst van de planten kon aan Darwin worden gemeld dat er inderdaad elektrische signalen kunnen worden gemeten tijdens de bewegingen van de val, die grote overeenkomst vertonen met de actiepotentialen die werden gemeten in zenuw- en spiercellen. Dit was de eerste keer dat dergelijke 'dierlijke' elektrische eigenschappen aan planten werden gemeten.

Ondanks dat duidelijke elektrische signalen konden worden gemeten aan alle soorten planten, en dat planten ook reageren op elektrische stimulatie werden deze resultaten in het algemeen afgedaan als artefacten of niet-relevant. De achtergrond hiervan moet worden gezocht in de idee dat de elektrische signalen sterk verbonden waren met dierlijke eigenschappen zoals zenuwvezels, het hart en zelfs de ziel. Zaken die men in planten niet kon terugvinden.

Ondertussen werd in het medisch georiënteerde onderzoek hard gewerkt om betere metingen te kunnen doen aan de elek-

trische eigenschappen van het hart, en verbanden te leggen met het functioneren van de hartspier. We zijn hier aangekomen bij een periode waarin Leiden het elektrofysiologiecentrum van de wereld was. De in 1885 in Leiden benoemde hoogleraar Willem Einthoven realiseerde zich dat voor werkelijk goede metingen aan de elektrische signalen van het hart meer gevoelige en vooral veel sneller reagerende apparatuur noodzakelijk was. Het was ook de tijd waarin de eerste trans-Atlantische kabels voor communicatie tussen Europa en Amerika werden gelegd. Ook hier was het nodig om zeer gevoelig en snel elektrische signalen te kunnen meten. Uit de voor deze toepassingen eerder ontwikkelde snaargalvanometer putte Einthoven inspiratie om een zeer gevoelig en snel instrument te ontwikkelen voor het meten van elektrische signalen uit het hart. Hij liet een speciale aanbouw bij het laboratorium bouwen, met een elektriciteitsnet en telefoonaansluiting, om ruimte te creëren voor het onderzoek en meetinstrument. Het cruciale onderdeel van de zeer gevoelige snaargalvanometer van Einthoven is een extreem dunne en lichte snaar van kwartsglas die is bedekt met een zilverlaagje. Opgehangen in een magnetisch veld zal de snaar afbuigen afhankelijk van elektrische stroom die door de snaar loopt. Omdat de snaar zo dun en licht is kunnen kleine en snelle stroomveranderingen worden waargenomen in de beweging van de snaar. Een probleem was: hoe kunnen extreem dunne, in de orde van micrometers, kwartsdraden worden gemaakt. Er werd een prachtige oplossing voor gevonden; de pijl en boog. Een vloeibare kwartsdruppel werd vastgemaakt aan een pijl en de boog en vervolgens weggeschoten in het laboratorium. Hierbij werd de druppel uitgetrokken tot een zeer dunne snaar, die met veel moeite kon worden terug gevonden. De metingen met de snaargalvanometer van Einthoven in 1902 bleken zeer succesvol en er konden zeer nauwkeurige electrocardiogrammen worden gemeten.⁴⁵ Omdat de patiënten niet uit het ziekenhuis naar het laboratorium mochten worden vervoerd en de snaargalvanometer opstelling moeilijk verplaatsbaar was, bedacht Einthoven dat het signaal van de hartpatiënten via de telefoonlijn van het ziekenhuis naar het anderhalf kilometer ver-

der gelegen laboratorium kon worden getransporteerd. Op 22 maart 1905 is het zover, en wordt het eerste telecardiogram opgenomen in Leiden aan een gezonde en sterke man (de grote zogenaamde R golven in het signaal worden toegeschreven aan het feit dat de proefpersoon hard had moeten fietsen om op tijd van het laboratorium in het ziekenhuis te zijn voor de test).⁶ Einthovens apparatuur en metingen betekenen een doorbraak in de elektrofysiologie, en in 1924 ontvangt hij de Nobelprijs voor de Fysiologie voor zijn werk. De pijl en boog, een essentieel instrument in de ontwikkeling van de elektrofysiologie, is naast de snaargalvanometer vandaag te bewonderen in Museum Boerhaave. Wat mij betreft een van de hoogtepunten uit het museum omdat het, naast dat het een elegante en doeltreffende oplossing gaf voor een praktisch probleem, ook symboliseert dat een wetenschapper die zowel letterlijk als figuurlijk de ruimte heeft om z'n pijlen gericht maar vaak ook ongericht af te schieten tot grootse ontdekkingen en ontwikkelingen kan komen.

Wat is nu eigenlijk de fysisch-chemische achtergrond van de elektrofysiologische verschijnselen? Naast de eencelligen, organismen die maar uit een enkele cel bestaan, zijn alle dieren en planten opgebouwd uit een verzameling van identieke en verschillende cellen. Het feit dat we te maken hebben met cellen impliceert dat we ook kunnen spreken van binnen en buiten de cel. Er is een afscheiding die de grens van de cel met de buitenwereld bepaalt. Dit is de celmembraan. Ernest Overton voorspelde rond 1890 dat de celmembraan voornamelijk uit vetten bestaat en daardoor semipermeabel is. Vijfendertig jaar later werd door de Leidse kinderarts Gorter en de Haagse apotheker Grendel in de Leidse Universiteit een serie zeer elegante experimenten uitgevoerd waarbij werd aangetoond dat de celmembraan bestaat uit een lipide dubbellaag, een prachtige zichzelf vormende structuur waarbij de waterafstotende vetzuurstaarten van de moleculen in de laag naar elkaar toewijzen en de waterminnende fosfaatkoppen naar de waterkant steken.⁷ Hierdoor ontstaat een stabiele en flexibele structuur. Water en gassen kunnen door deze lipide dubbellaag heen dif-

funderen, maar geladen deeltjes zoals ionen niet. Als we nu twee gelijke met water gevulde compartimenten hebben die zijn verbonden door een lipide dubbellaag membraan, dan zal er door de membraan evenveel water vanuit het ene compartiment naar de andere kant diffunderen als andersom. Echter, als we in een compartiment natriumchloride, keukenzout, moleculen oplossen, dan zal er meer water diffunderen naar de keukenzoutkant dan andersom. Immers, de zoutionen kunnen niet door de membraan, en het systeem neigt naar een situatie waarbij de samenstelling van de vloeistof aan beide zijden van de membraan gelijk is. Er zal dus netto watertransport plaatsvinden naar de zoutkant, waardoor de zoutoplossing verdunt en de hoeveelheid water in het zoute compartiment toeneemt. Dit proces heet osmose. Als we dus een cel, waarin veel verschillende moleculen zijn opgelost, in een bakje met zuiver water leggen, dan zal, net als bij de twee compartimenten, er water stromen vanuit het bakje naar de cel. De hoeveelheid water in cel zal toenemen, waardoor de osmotische druk in de cel toeneemt, en de cel uiteindelijk zal ontploffen.

Bij het oplossen van keukenzout in water splitst dit in de positief geladen natriumionen en de negatief geladen chlorideïonen. Als we nu in ons experiment met de twee compartimenten de lipide dubbellaag voorzien van poriën waardoor alleen de positieve natriumionen kunnen passeren dan treedt er een andere situatie op. De positief geladen natriumionen diffunderen via de poriën naar het zoutloze compartiment, maar de negatieve chlorideïonen kunnen niet volgen. De poriën zijn immers alleen doorlaatbaar voor de natriumionen. Het gevolg is dat we een ladingscheiding over de membraan krijgen. Er komt een overschot aan positieve deeltjes aan de waterkant van de membraan. Dit overschot kan natuurlijk niet al te hoog op lopen. Er wordt een evenwicht bereikt als de drijvende kracht veroorzaakt door het concentratieverschil van natriumionen gelijk maar tegengesteld is aan de elektrische kracht die de ladingscheiding ongedaan wil maken. Het eindresultaat in de evenwichtssituatie is dat er een elektrisch potentiaal ver-

schil is ontstaan over de membraan: de membraan potentiaal. Dit is de basis van de elektrische verschijnselen bij alle cellen: verschillen in ionensamenstelling van de vloeistoffen binnen en buiten de cel en een selectieve doorlaatbaarheid van de cel-membraan leidt tot een elektrisch potentiaal verschil. De stromen van de positief en negatief geladen ionen door de poriën zijn stromen van geladen deeltjes en dus ook elektrische stromen. Door veranderingen in de ionconcentraties, maar ook door plotselinge veranderingen in de selectiviteit voor verschillende ionen kunnen de membraanpotentiaal en de elektrische stromen door de membraan plotseling veranderen, zoals bij een actiepotentiaal in zenuw- of spiercellen. Deze elektrische spanningen en stromen, en plotselinge veranderingen daarin, vinden we bij alle levende cellen, van de eencellige bacteriën, de algen, cellen in het blad van een boom, tot aan levercellen en de neuronen in de hersenen.

Ondertussen was het niet duidelijk hoe de selectiviteit en de selectiviteitsveranderingen van de membraan tot stand komen. Voor een beter begrip hiervan waren nog drie ontwikkelingen nodig; het gebruik van de reuze zenuwcellen van de pijlinktvis als model systeem dat in 1937 werd gestart, de uitvinding van de voltage-clamp techniek in de jaren 40 door Kenneth Cole en de uitvinding van de glazen intracellulaire micro-elektrode in 1949. Vooral de introductie van de voltage-clamp techniek, waarbij de spanning over de membraan kunstmatig constant wordt gehouden en uit de stroom die daarvoor nodig is direct de stroom die door de membraan gaat kan worden bepaald, heeft de elektrofysiologie in een stroomversnelling gebracht. Het waren Hodgkin, Huxley en Katz die in een serie, nu klassieke, experimenten aan de reuze zenuwen van de pijlinktvis aantoonde dat de membraanpotentiaal en de actiepotentiaal kunnen worden toegeschreven aan de bewegingen van natrium-, kalium- en chlorideïonen door specifieke poriën in de membraan.⁸ Bovendien waren Hodgkin en Huxley in staat om een nauwkeurig mathematisch model op te stellen dat de elektrische membraaneigenschappen beschrijft op basis van de hypothese van spanningsafhankelijkheid van specifieke ionendoorlatende

kanalen die zich in de membraan bevinden.⁹ Voor hun werk ontvingen zij de Nobelprijs voor de fysiologie in 1963.

Hodgkin en Huxley beschreven de stromen door de zenuw-membraan op een grote schaal; macroscopische stromen. Het was wel bekend dat deze stromen zouden moeten bestaan uit een som van kleinere stromen, maar de aard van deze kleine stromen was onbekend. Het was mogelijk dat de ionen één voor één door de membraan getransporteerd werden, of in continue graduele stroom, of dat kanalen of poriën in de membraan korte tijd openden en duizenden ionen tegelijk doorlieten. Dit is weer een moment dat onderzoek aan de Universiteit van Leiden in het brandpunt komt te staan. In de jaren 60 werken Verveen en Derksen in het Laboratorium voor Fysiologie aan membraanpotentiaalfluctuaties in de knoop van Ranvier bij kikkerzenuwen. In de knoop van Ranvier vinden we grote membraanstromen en een grote membraanweerstand waardoor relatief grote potentiaalveranderingen kunnen optreden. Voor het meten van de fluctuaties waren versterkers nodig met een zeer laag ruis niveau. Verveen en Derksen analyseerden de ruis van de signalen. In de ruis van een ideale weerstand komen alle frequenties met evenveel energie voor, dit is de zogenaamde 'witte ruis'. Verveen en Derksen vonden echter een heel ander type ruis in de knoop van Ranvier, de zogenaamde $1/f$ (een over f) ruis, ook wel flikker ruis genoemd, die ook in half-geleiders voorkomt.¹⁰ Bovendien toonden zij aan dat deze ruis verdwijnt als de kaliumconcentratie buiten de knoop gelijk is aan die in de knoop, of de membraan potentiaal op de waarde van de kaliumevenwichtspotentiaal wordt gebracht.¹¹ Later bleek ook dat bij toepassing van kaliumstroomblokkerende stoffen de $1/f$ ruis verdwijnt. De conclusie was dat deze ruis wordt veroorzaakt door het openen en sluiten van de poriën waardoor de kaliumionen tijdens een actiepotentiaal worden getransporteerd. Een grote stap voorwaarts in het begrijpen van de fundamentele basis van de elektrofysiologie. Hoe deze poriën of kanalen openen en sluiten; continu of discreet, op welke tijdschaal en met welke amplitude was echter nog steeds niet duidelijk.

De grote doorbraak in de elektrofysiologie, die heeft gewerkt als de wind die de mist uit het landschap wegblaast voor het oog van de schilder, is de uitvinding en ontwikkeling van de patch-clamp techniek door Erwin Neher en Bert Sakmann rond 1976.¹² Bij de patch-clamp techniek wordt de glazen microelektrode niet door de membraan gestoken om een meting van membraanpotentiaal of membraanstroom te doen, maar wordt een glazen meetpipette met een iets grotere diameter, in de orde van 1 micrometer, op het oppervlak van de cel geplaatst. Het idee van Neher en Sakmann was dat als de elektrode stevig tegen de membraan werd gedrukt er wellicht genoeg stroom, die door de kanalen in de membraan onder de elektrode stroomde, door de meetapparatuur kon worden opgepikt. Dit lukte niet goed, de elektrische weerstand tussen het glas van de elektrode en de membraan was te klein, alle stroom liep weg naar de omgeving en niet naar de stroommeter. Toen werd bedacht om zachtjes te zuigen aan de meetpipette, waardoor de membraan wellicht beter tegen het glas zou worden gedrukt. Tot hun grote verbazing ontstaat hierbij een zeer sterke interactie tussen het glas van de meetpipetten en de lipiden in membraan, zo sterk dat de weerstand tussen glas en membraan kan oplopen tot tientallen gigaohms. Nu kon wel alle stroom door de kanalen in het stukje membraan onder de meetpipette worden gemeten. En sterker nog, zelfs stroom door individuele ionenkanalen, in de orde van pico-Ampères = 1 miljoenste van 1 miljoenste Ampère, kon worden gemeten. Voor het eerst werd direct bewijs geleverd voor het bestaan van ionenkanalen. Het bleek nu al snel dat in de membraan van alle cellen ionenkanalen aanwezig zijn die specifiek bepaalde ionen kunnen doorlaten, die kleine stromen doorlaten en die abrupt kunnen openen en sluiten, en die door membraanpotentiaalveranderingen of chemische stimulatie hun gedrag veranderen. Neher en Sakmann hadden een technologie ontwikkeld met een ongelooflijke kracht en ongekende resolutie, waarmee direct de actie van één individueel eiwit kon worden gevolgd.¹³ In 1991 ontvingen Neher en Sakmann de Nobel prijs voor Fysiologie voor hun ontdekking.

Rond 1983 introduceerde mijn leermeester Dick Ypey de patch-clamp techniek in Nederland met het bouwen van een meetopstelling in het Laboratorium voor Fysiologie in Leiden. Als stage student in de subgroep Elektrofysiologie in datzelfde jaar kon ik de opbouw, de technische en praktische moeilijkheden en de eerste metingen in Leiden van dichtbij meemaken. Vooral de zeer nauwe samenwerking die noodzakelijk was tussen de onderzoekers, de fijnmechanica werkplaats en de elektronici om een werkende meetopstelling te realiseren was heel duidelijk; immers de versterkers, elektrodehouders, meetbakjes etc. etc. waren voor deze nieuwe technologie niet te koop, maar moesten zelf worden gemaakt. Na de introductie van de patch-clamp techniek is het snel gegaan met de kennis over ionenkanalen. Combinaties van patch-clamp metingen met de moleculaire biologie en de analyse van kristalstructuren van de kanaaleiwitten hebben ons een zeer goed beeld gegeven van de werking van ionenkanalen, de structuur van de kanalen, de mechanismen die het openen en sluiten van de kanalen veroorzaken en reguleren, de werking van de ionen selectiviteit, de aangrijpingspunten van allerhande chemische verbindingen op de kanalen en de evolutie van de ionenkanalen. We weten nu dat het vervangen van slechts één aminozuur in een natriumselectief kanaaleiwit dit kanaal verandert in een calciumselectief kanaal. We weten welke delen van het eiwit de sensor vormen voor de elektrische spanning. We weten nu dat niet alleen in de plasmamembraan, de membraan die de cel omhult, maar ook in de membranen die intracellulaire organellen omgeven veel verschillende ionenkanalen aanwezig zijn. Daarnaast weten we dat er heel veel verschillende genfamilies voor ionenkanalen bestaan, en heel veel genfamilies voor verschillende andere soorten ionen transporterende eiwitten zoals bijvoorbeeld de ionenpompen. Al deze kanalen en pompen zijn onderdeel van regelsystemen in de cellen die betrokken zijn bij de energievoorziening, bij het doorgeven van signalen vanuit de omgeving naar de cel, bij de intracellulaire signalen en de intercellulaire communicatie, bij de opname van allerhande stoffen, zoals zouten, suikers, aminozuren, door cellen, bij de secretie van zuren, eiwitten en hormonen, het transport

van hormonen, de bevruchting van de eicel, beweging van cellen etc. etc. De ionenkanalen en ionenpompen vormen essentiële onderdelen in het functioneren van de cel. Zonder deze transporteiwitten kan er geen verschil bestaan tussen de extracellulaire en de intracellulaire wereld. Er is veel energie nodig om de noodzakelijke ionen gradiënten en elektrische potentiaalverschillen over de celmembraan in stand te houden. In dierlijke cellen wordt 20 tot 30% van alle beschikbare energie hiervoor gebruikt, en in de hersenen is dat zelfs 50%. Energie die wordt verslonden door de natrium-kaliumpomp, die natriumionen de cel uit pompt en kaliumpionen de cel in pompt. In planten is dat niet veel anders, maar hier wordt de energie vooral gebruikt door de protonenpomp die waterstofionen de cel uit pompt.

Hoe staat het nu met de plantenelektrofysiologie? Natuurlijk is tijdens de ontwikkeling van de elektrofysiologie ook onderzoek aan de elektrische eigenschappen van planten (en ook schimmels en bacteriën) uitgevoerd. De voortgang, en de daarmee gepaard gaande doorbraken in inzicht, zijn echter lange tijd beperkt geweest. De oorzaak hiervan moet grotendeels worden gezocht in de extra technische, praktische en financiële beperkingen die de plantenelektrofysiologie kenmerken ten opzichte van de mogelijkheden bij dierlijke cellen. Sinds het meten van elektrische signalen bij planten, het begrijpen van osmose en het begrijpen van de membraan potentiaal is het duidelijk dat het transport van geladen deeltjes, ionen, ook een essentieel onderdeel vormt van de fysiologie van planten. De opname van nutriënten door de wortels, het transport van water, hormonen en metabolieten door de plant, het transport van suikers vanuit de bladeren naar andere plantendelen, het openen en sluiten van de huidmondjes in de bladeren, de fotosynthese, de signaaltransductie voor de talloze verschillende plantenhormonen, de reacties van de plant op veranderende omgevingsomstandigheden of stress zijn allemaal sterk verbonden met elektrofysiologische processen en regelingen. Allemaal processen in de plant die van groot belang zijn om de werking van de plant te kunnen begrijpen,

en bovendien met grote praktische en economische implicaties voor de land- en tuinbouw.

De eerder genoemde technische en praktische beperkingen in de planten worden vooral bepaald door de structuur van de plant. In tegenstelling tot bij dieren wordt in de plant iedere cel omgeven door een uitwendig skelet, de celwand. De celwand is een stevige constructie van onder andere cellulose. De plant bestaat als het ware uit een enorm flatgebouw van zeer stevig aan elkaar geplakte hokjes, met in ieder hokje een cel die is omgeven door een celmembraan. In dit flatgebouw vinden we verschillende structuren met allerhande functies. Doordat de cellen stevig aan elkaar zijn geplakt is het moeilijk hieruit specifieke celtypen of organen te isoleren voor onderzoek, en bovendien is de celmembraan door de harde celwand moeilijk bereikbaar voor elektrofysiologisch onderzoek.

Rond 1990 begonnen we ook in Leiden met het toepassen van de patch-clamp techniek op plantencellen. In onderzoek naar de receptoren van het planten groeihormoon auxine, dat destijds nog grotendeels plaats vond in het Botanisch Laboratorium aan de Hortus Botanicus, werd de tabaksplant in de vorm van een celsuspensie als modelsysteem gebruikt. De losse plantencellen worden hierbij in vloeistof in flessen gekweekt. Met behulp van enzymen konden we de harde celwand verteren en daarmee zogenaamde protoplasten maken: plantencellen zonder celwand. Nu was de plasmamembraan wel direct toegankelijk voor de patch-clamp elektrode. Vervolgens kon de aanwezigheid van verschillende type ionenkanalen in de membraan worden vastgesteld. Nadere analyse van deze kanalen liet zien dat het verschillende type kaliumpkanalen betrof. Kanalen die kaliump voorname-lijk van binnen naar buiten transporteren (de zogenaamde ‘outward rectifiers’), en andere kanalen die juist deze ionen alleen de andere kant op transporteren (de zogenaamde ‘inward rectifiers’).¹⁴ Het toepassen van de modellen van Hodgkin en Huxley op de ‘outward rectifier’ kanaalstromen liet zien dat er twee in serie geplaatste toegangspoorten in het kanaaleiwit aanwezig zijn.¹⁵

Later werk van onder andere Mike Blatt heeft laten zien dat onder invloed van de kaliumconcentratie hier nog twee andere toegangspoorten bij kunnen komen. Inmiddels is het kanaal gekloneerd en is via structuur analyse bekend dat het kanaal behoort tot het ook in dierlijke cellen belangrijke type *Shaker* kaliumkanalen en is opgebouwd uit vier identieke of weinig verschillende subunits. Deze kanalen, die kalium bij een gede-polariseerde membraanpotentiaal uit de cel laten stromen spelen een essentiële rol in de sluitcellen van de huidmondjes in de bladeren, en in de wortel bij het transport van opgenomen kalium naar de houtvaten. Genetisch gemodificeerde planten die dit kaliumkanaal missen in de sluitcellen van de huidmondjes vertonen een veel grotere waterverdamping doordat de huidmondjes veel vaker en verder open staan. Inmiddels is de regulatie van de huidmondjes via een groot aantal transport eiwitten voor een belangrijk deel opgehelderd door verschillende onderzoeksgroepen.

10

In samenwerking met de TNO afdeling Plantenbiotechnologie, later de afdeling Toegepaste Plantwetenschappen, is veel onderzoek verricht aan de aleuroncellen van gerstzaden. De aleuroncellen zijn de cellen in de cellaag rond de zetmeelopslagplaats in het zaad. Tijdens de kieming van het zaad scheiden de aleuroncellen enzymen uit die het in de korrel opgeslagen zetmeel afbreken in suikers, die het embryo vervolgens als voedsel kan gebruiken. Een proces dat van groot belang is bij de zaadkieming, maar ook belangrijk is bij het brouwen van bier. Het activeren van deze secretie wordt gestimuleerd door het planten hormoon gibbereline (GA) en geremd door het plantenhormoon abscinezuur (ABA). Ons onderzoek heeft laten zien dat bij ABA stimulatie de membraanpotentiaal van de aleuroncellen meer negatief wordt door activering van protonenpompen en opening van 'inward rectifier' kaliumkanalen^{16,17} en dat ook de concentratie van calciumionen in de cel afneemt, terwijl deze door stimulatie met GA juist stijgt.¹⁸ Bovendien bleek dat het aantal 'inward rectifier' kaliumkanalen in aleuroncellen van dormante, slapende, zaden veel kleiner is en ook nog trager in hun activatie, dan in cellen uit

zaden die klaar zijn om te gaan kiemen.¹⁹ Het transport van ionen over de plasmamembraan speelt bij de aleuroncellen een belangrijke rol in de hormonale regulatie van het activeren en inactiveren van de secretie van enzymen. Behalve dat de plantenhormonen ABA en GA het transport van ionen over de plasmamembraan reguleren, worden deze hormonen ook zelf getransporteerd. In het gerstzaad worden ABA en GA gemaakt in het embryo. GA wordt vervolgens tijdens de kieming getransporteerd door de aleuronlaag om zodoende alle aleuroncellen rond de zetmeelopslag te kunnen activeren. We hebben met behulp van een mathematische modelbenadering gebaseerd op de fysisch-chemische eigenschappen van de hormonen en de aleuroncellen het transport van GA en ABA gesimuleerd.²⁰ Hierbij zijn parameters als de membraanpotentiaal en de intra- en extracellulaire pH bepalend voor het hormoontransport. GA transport is zeer gevoelig voor de membraanpotentiaal en de extracellulaire pH, terwijl ABA transport meest gevoelig is voor het verschil tussen intra- en extracellulaire pH. Uit de simulaties blijkt dat onder standaard condities GA getransporteerd wordt door de aleuroncellaag, maar dat ABA zich ophoopt in de cellen vlak bij de productiebron, het embryo. Bijzonder in dit systeem van twee hormonen die tegengestelde effecten hebben op de actie van de aleuroncellen, is dat hun transport door de aleuroncellaag sterk afhankelijk is van parameters die ook weer door beide hormonen worden beïnvloed. Immers, ABA activeert de protonenpomp in de aleuroncellen waarbij de extracellulaire pH daalt en de membraanpotentiaal een hyperpolarisatie vertoont, factoren die een negatief effect hebben op GA transport. GA aan de andere kant heeft weinig effect op de extracellulaire pH, en zal zijn eigen transport daardoor niet direct hinderen. Wel zorgt GA voor een verzuring van de intracellulaire vloeistof, waardoor als er ABA aanwezig is, deze ABA uit deze cellen kan vrijkomen en op die manier wel een blokkade voor GA transport kan ontstaan. We hebben te maken met een complex systeem van regelingen dat we eigenlijk alleen goed kunnen begrijpen als we gebruik maken van mathematische modellen.

Het willen begrijpen van dergelijke complexe transportregelsystemen waarbij elektrofysiologische processen, cellulaire fysiologie en signaaltransductie, maar ook de cellulaire structuur, en de anatomie van de plant een rol spelen heeft geleid tot de formatie van het 'Plant Biodynamics Laboratory' in Leiden. In het PBDL wordt in een sterke interactie tussen experimenteren en mathematische modelvorming, en een sterke interactie tussen verschillende onderzoeksgroepen, de complexe regeling van transportprocessen in planten bestudeerd. Het polaire transport van het plantengroeihormoon auxine door de bloeistengel van de modelplant *Arabidopsis thaliana* wordt hier in samenwerking tussen de auxine- en plantontwikkelingonderzoeksgroep onder leiding van Remco Offringa, wiskundigen en (elektro-) fysiologen bestudeerd. Recent heeft dit geleid tot nieuwe inzichten in de aard van het transport dat op macroscopische schaal beter beschreven kan worden door een convectiemodel dan door een diffusiemodel. Ook hier is het te verwachten dat er, net als bij het ABA en GA transport in de aleuroncellaag, een complexe interactie aanwezig is tussen het transport van auxine zelf en van auxine als hormoon dat membraanpotentiaal veranderingen en pH veranderingen induceert. Daarnaast is er nog weinig bekend over de rol van fysisch-chemisch transport van auxine over en langs de lipide bilaag van de plasmamembraan. Deze onderwerpen in het auxine transport vragen nog veel experimenteel onderzoek en kunnen alleen met behulp van het opstellen van mathematische modellen goed worden begrepen.

De pijlen van het PBDL richten zich op het begrijpen van complexe transport processen waarbij het transport op het niveau van de celmembraan, het niveau van de individuele cel en het niveau van grotere multicellulaire structuren zowel experimenteel als modelmatig onderzocht moet worden. Zowel het polaire auxine transport als de interactie tussen ABA en GA transport zullen in het PBDL verder worden onderzocht en gemodelleerd in de komende jaren. Hierbij is de interactie in het PBDL tussen elektrofysiologie, celbiologie, moleculaire biologie en wiskunde van groot belang.

Fundamenteel en toegepast onderzoek

Traditioneel wordt het onderzoekslandschap verdeeld in het fundamentele onderzoek, het toegepaste onderzoek en het ontwikkelingsonderzoek. Het fundamentele onderzoek vindt plaats aan de universiteiten en instituten, het toegepaste onderzoek bij organisaties zoals TNO en PRI, en het ontwikkelingsonderzoek in het bedrijfsleven. De, vooral door financiële beperkingen ingegeven, roep door overheid en samenleving om maatschappelijke en in toenemende mate economische relevantie in het fundamentele onderzoek, vraagt aan universiteiten restricties in de keuzes in onderzoeksrichtingen en actie om ook direct fondsen te werven bij het bedrijfsleven. Hierdoor bewegen universiteiten zich in de richting van de organisaties voor toegepast onderzoek. Analyses door onder andere Kealey en Greenberg naar de relatie tussen economisch succes en sturing van investering in universitair onderzoek vanuit een toepassingsgerichte (economische en maatschappelijke relevantie) gedachte laat echter zien dat er geen directe positieve correlatie is tussen deze twee. Het sturen van fundamenteel onderzoek in de richting van toepassingen door middel van financiële prikkels lijkt eerder een negatief effect te hebben op economisch succes. Kunnen we daarom stellen dat investeren in fundamenteel onderzoek geen zin heeft als we daarmee een economisch en maatschappelijk rendement willen behalen? Zeker niet! Er is een sterk indirect effect te verwachten van stimulering van fundamenteel onderzoek op economisch succes. Dit effect is gerelateerd aan het afleveren van zeer goed geschoolde en gemotiveerde onderzoekers die beschikbaar komen voor onderzoeks- en ontwikkelingswerk binnen de bedrijven en organisaties voor toegepast onderzoek. Een goed voorbeeld hiervan vinden we bij één van de top economische activiteiten in Nederland, de sector die zich bezighoudt met plantenveredeling en de productie van plantaardig uitgangsmateriaal (dit zijn onder andere zaden, bollen, stekken e.d.). In deze sector is Nederland, door sterk bedrijfsonderzoek en innovaties, leidend in de wereld (zowel economisch als op het gebied van kennis). Deze positie heeft men kunnen berei-

ken door de beschikbaarheid van zeer goede onderzoekers vanuit onder andere de universiteiten. Momenteel doet zich echter de problematische situatie voor dat er veel te weinig plantenonderzoekers aan de universiteiten worden opgeleid. De plant als onderzoeksobject is niet populair onder scholieren, studenten en jonge onderzoekers. De veredelingbedrijven vrezen al op korte termijn economische neergang door een verminderde kennis en innovatiekracht door gebrek aan beschikbare goede en gemotiveerde plantenonderzoekers. Het door het bedrijfsleven geïnitieerde Topinstituut Groene Genetica heeft geconcludeerd dat alleen door het stimuleren van baanbrekend, creatief en verrassend fundamenteel plantenonderzoek het imago en de aantrekkelijkheid van plantenonderzoek kunnen verbeteren, waardoor beschikbaarheid van goede onderzoekers voor de bedrijven weer kan groeien. Er moet dus niet gekozen worden voor toepasbaarheid en economische relevantie in het universitaire plantenonderzoek, maar voor risicovol, creatief en baanbrekend fundamenteel onderzoek dat aantrekkelijk is voor de beste studenten uit verschillende disciplines om aan deel te nemen en verder in te groeien.

Hoe komen we dan tot baanbrekend fundamenteel plantenonderzoek? Allereerst moet de gestelde wetenschappelijke vraag passen binnen een fundamenteel kader. Het is duidelijk dat het biologisch onderzoek in Leiden, net zoals op verschillende andere plaatsen in Nederland, financieel onder druk staat. Dat vraagt om het doen van lastige keuzen. In Leiden is gekozen voor onderzoek aan een beperkt aantal model organismen, met *Arabidopsis thaliana*, de zandraket, als modelplant. Op deze keuze is onderzoekstechnisch niet zo veel af te dingen, maar de wetenschapshistorie leert ons ook dat doorbraken in wetenschappelijk inzicht vaak plaatsvinden door onderzoek aan wat we in eerste instantie zien als 'uitwassen' der natuur. Onderzoek aan de eerder genoemde sidderaal, de *Venus vliegenva*l en de pijlinktvis heeft geleid tot doorbraken in inzicht in de elektrofyysiologie. Daarnaast is er nog een fundamenteel verschil bij de keuze van een modelorganisme bij het plantenonderzoek in vergelijking met het biomedische onderzoek. In

het biomedische onderzoek worden geschikte modelorganismen gekozen die uitstekend kunnen dienen voor onderzoek naar het begrijpen van bepaalde aspecten van de biologie en pathologie van de mens. In dit onderzoek is een piramide van modellen aanwezig, van celcultures tot hele dieren, met de mens aan de top. In het plantenonderzoek is deze piramide ook aanwezig, maar daar staat ze op de kop. Het zeer beperkte aantal soorten modelplanten, voornamelijk de zandraket en rijst, moet ons inzicht verschaffen in de werking van meer dan een half miljoen soorten planten, waaronder honderden soorten land- en tuinbouw gewassen. We zullen ons dus bij plantenonderzoek aan de beperkte modelplanten steeds nog sterker moeten afvragen of het model geschikt is om een doorbraak in fundamenteel inzicht te bereiken en zo nodig voor een ander model moeten kiezen. Daarnaast leert de historie ons dat voor grote wetenschappelijke doorbraken in veel gevallen speciale faciliteiten en apparatuur werden gebouwd, zoals bijvoorbeeld bij het onderzoek van Einthoven en van Kamerlingh Onnes in Leiden. Het is verheugend dat dit ook in deze tijd nog steeds mogelijk is getuige de recente realisatie van het 'Cell Observatory' waarvan we veel mogen verwachten. Tenslotte, de samenwerking tussen verschillende disciplines. Het betrekken van kennis en methoden uit verschillende disciplines bij biologisch onderzoek werkt zeer versterkend, en recente doorbraken vinden vooral plaats op de grensvlakken tussen verschillende disciplines. De elektrofyysiologie heeft van oudsher een sterke interactie met wiskundige modelvorming, en de fysische chemie. Vanuit de plantenelektrofyysiologie zal ik via het 'Plant Dynamics Laboratory' de interactie tussen deze verschillende disciplines in Leiden proberen verder te versterken.

De locatie van mijn andere werkplek, het vanuit TNO losgemaakte toegepastplantenonderzoeksbedrijf Fytagoras, binnen de muren van het Instituut Biologie biedt de mogelijkheid om een intermediair te vormen tussen universiteit en bedrijfsleven. De ideeën en wensen uit de R&D van het bedrijfsleven kunnen via Fytagoras worden getoetst binnen een fundamenteel onderzoekskader zonder dat het universitaire onderzoek

toegepast hoeft te worden. Tevens biedt het de mogelijkheid voor studenten om kennis te maken met een ander type onderzoek en zodoende meer bewust te kunnen kiezen tussen een carrière in het fundamenteel onderzoek aan een universiteit of toegepast onderzoek in een onderzoeksorganisatie en het bedrijfsleven.

Onderwijs

Op het grensvlak van disciplines gebeuren spannende dingen, en het aanbieden van meer disciplinair gerichte nieuwe studierichtingen lijkt een garantie voor het op peil houden van studentenaantallen binnen de faculteiten. Het lijkt me echter beter, zowel in het belang van de studenten als in het belang van de kwaliteit van het multidisciplinair onderzoek, dat dit grensvlak wordt benaderd vanuit de verschillende basisvakken. Wiskundigen, natuurkundigen, scheikundigen en biologen moeten zich op elkaars vakgebied begeven, zowel in het onderwijs als in het onderzoek, maar ze moeten wel wiskundige, fysicus, chemicus en bioloog blijven, anders gaat de multidisciplinariteit binnen korte tijd verloren. De fysicus moet geen bioloog worden, maar de bioloog en fysicus moeten wel met elkaar leren communiceren. Het oprichten van zogenaamde minors tussen de verschillende studierichtingen past geheel in dit beeld. Het starten van een pilot minor 'mathematical biosciences' vanuit het PBDL en de wiskunde gaat met horten en stoten, maar er is goede hoop dat al dit jaar een aantal wiskunde studenten een beperkt aantal voor hen relevante onderwerpen uit de studie biologie zullen volgen. Zij vormen hopelijk de voorlopers van een levendige interactie tussen biologen en wiskundigen in onderwijs en onderzoek zoals in het PBDL nu al op bescheiden schaal succesvol is.

Dankwoord

Ik ben aan het eind van mijn oratie gekomen en wil graag een aantal mensen bedanken.

Allereerst bedank ik de directie (zowel oud als nieuw) van het IBL en onze decaan voor het vertrouwen dat zij in mij stellen en het inzicht dat multidisciplinaire elektrofysiologie niet mag ontbreken binnen de biologie en dat dit kansen biedt voor sterke interactie tussen de wiskunde, natuurkunde en biologie in zowel onderwijs als onderzoek.

Tijdens mijn loopbaan in Leiden, Amsterdam en daarna weer Leiden ben ik wisselende perioden wel en niet in de gelegenheid geweest het elektrofysiologisch onderzoek aan planten en de meetopstellingen te bemannen. Heel graag wil ik Frank van Iren bedanken voor de samenwerking en het opvullen van mijn perioden van afwezigheid door zowel de opstelling, het onderzoek als inbedding in het onderwijs in stand te houden.

Mijn eerste kennismaking met de elektrofysiologie was de fantastische 2^{de} en 3^{de} jaars biologiecursus elektrofysiologie, die in het nu oude laboratorium voor Fysiologie aan de Wassenaarseweg werd georganiseerd door Hans van der Starre en Johanniek van der Molen. Deze cursus was zeer inspirerend en heeft mij doen besluiten stages te gaan volgen bij subgroep A in het laboratorium voor Fysiologie. In deze groep heb ik mijn echte elektrofysiologie leermeesters gevonden in Bert Verveen, Dick Ypey en Can Ince. Ik wil hen allen hartelijk bedanken. Ook de bemoeienis met het onderzoek, eerst in de stages en later tijdens de het promotieonderzoek, door Arie de Vos en Kees Versluys van de mechanica- en elektronica-werkplaatsen heeft mijn wetenschappelijke vorming gunstig beïnvloed en mij geleerd dat fysiologisch onderzoek niet kan zonder wetenschap, techniek en praktische oplossingen te combineren. Dank voor dit inzicht en jullie steun.

Vanuit de Leidse vakgroep Celbiologie, de vakgroep Moleculaire Plantkunde en het Centrum voor Fytotechnologie waar ik heb gewerkt, was er altijd belangstelling voor mijn activiteiten, ook al was mijn meetopstelling wat verder uit buurt. Dit had niet gekund zonder de steun en het inzicht van professor Theo Konijn, Loek van der Molen, professor Paul Hooykaas en professor Jan Kijne. Ik dank jullie hartelijk.

Professor Kees Libbenga heeft vanaf het moment dat ik de gedachte opperde om aan plantencellen te gaan werken belangstelling getoond voor mijn onderzoek. We hebben veel discussies gevoerd en veel ideeën gegenereerd en ook veel daarvan weer verworpen. De reizen en bijeenkomsten rond de EU Bridge projecten zijn legendarisch evenals de Gif-Aberystwyth-Leiden en de Moskou workshops. Onze gedeelde belangstelling voor 'de Natuurkunde van het Vrije Veld' biedt nog altijd stof tot een goed gesprek. Kees, ik leer nog altijd van je, en je enthousiasme is aanstekelijk. Samen met Bert Peletier werd het idee voor het 'Plant Biodynamics Laboratory' geboren en ik ben jullie zeer erkentelijk dat jullie mij daarbij in een vroeg stadium hebben betrokken. Jullie inbreng is nog steeds essentieel en ik hoop dat we nog heel lang zullen samenwerken.

Mijn collega's van Fytagoras, het IBL en andere universiteiten in binnen en buitenland dank ik voor de steun, fijne samenwerking, en de soms nodige kritiek en discussie. Speciale dank ook aan de studenten die onder mijn begeleiding onderzoekstages hebben gedaan en de AIO's die ik heb mogen begeleiden. Zonder jullie was alles een stuk minder geweest. Het was en is een voorrecht om met jullie te werken.

Nico Suesan, de directeur van TNO Bedrijven, wil ik speciaal danken voor zijn inzicht dat TNO onderzoek met planten onder haar vleugels moet behouden en zijn ontferming over de TNO afdeling Toegepaste Plantwetenschappen. Ook je inspanningen en steun om via mijn positie de samenwerking tussen het IBL en Fytagoras door middel van de plantenelektrofysiologie te verankeren worden door mij zeer gewaardeerd.

Familie en vrienden, die zoveel voor mij betekenen. Een enkeling bevindt zich zelfs in de positie van familie, collega en beste vrienden. Daar ben ik heel gelukkig mee. Helaas kan niet iedereen hier aanwezig zijn, ook niet iedereen snapt wat ik op het werk uitvoer, maar jullie belangstelling is oprecht en dat geeft een goed gevoel. De familie Heimovaara neemt een speciale positie in. Sjoukje en Timo, onze beslissing nu meer dan 14 jaar geleden om de zorg voor de kinderen op werkdagen te delen pakt nog steeds goed uit. Het geeft ons allemaal veel flexibiliteit in het werk waardoor meer mogelijk is, maar bovenal is het natuurlijk geweldig om regelmatig het gevoel te ervaren alsof je gezegend bent met vijf dochters.

Mijn ouders dank ik voor alle steun en liefde. Jullie hebben altijd interesse gehad in mijn activiteiten en mij vrij gelaten in alle keuzen. Achteraf gezien is het opmerkelijk dat mijn vader, die in die tijd nauwelijks een ei kon koken, mij al op jonge leeftijd voor de wetenschap interesseerde door het uitvoeren van leuke proeven voor de jeugd waarbij zijn twee linkerhanden blijkbaar geen enkel beletsel vormden voor een goede afloop (alhoewel ik mij ook wel enige kleine rampen herinner). Ik ben daar zeer door gestimuleerd. De botanische kennis van mijn moeder is nog steeds superieur aan de mijne, en haar belangstelling voor alles wat groeit en bloeit heeft zeker een rol gespeeld bij mijn keuze voor de biologie.

Wang Mei, Anna en Julia, jullie betekenis voor mij is niet in woorden uit te drukken. Ik zou kunnen vertellen hoe geweldig jullie zijn, maar vanuit opvoedkundig opzicht is dat vast niet wenselijk. Laat ik dit er over zeggen. Zonder jullie had ik hier niet gestaan, het is een feest om samen met jullie te zijn en jullie passies en vrolijkheid te delen en te ervaren. Ik dank jullie voor jullie liefde, steun en, zo af en toe, de kritische noten.

Ik heb gezegd.

Noten

- 1 Aloysii Galvani, "De viribus electricitatis in motu musculari," *De Bononiensis Scientiarum Et Artium Instituto Atque Academia Comentariorum* VII Bologna Academy and Institute of Sciences and Arts, 1791). Reprinted with an introduction by Giovanni Aldini and letters by Bassano Carminati and Luigi Galvani (Modena, 1792). English translation: *Commentary on the Effect of Electricity on Muscular Motion* (Cambridge, MA: Elizabeth Licht, 1953).
- 2 Du Bois-Reymond, E. (1848) Untersuchungen über thierische Elektrizität. *Annalen der Physik* 151(11): 463-464
- 3 Burdon-Sanderson, J. (1873) Note on the electrical phenomena which accompany stimulation of leaf of *Dionaea muscipula*. *Proceedings of the Royal Society, London*, 21, 495-496.
- 4 Einthoven, W. (1901) Un nouveau galvanomètre. *Arch. Neerl. Sc. Ex. Nat.* 6:625-633.
- 5 Einthoven, W. (1902) Galvanometrische registratie van het menschelijk electrocardiogram. In: *Herinneringsbundel Professor S.S. Rosenstein*. Leiden: E. IJdo. 102-107.
- 6 Einthoven, W. (1906) Le telecardiogramme. *Arch. Int. De Physiol.* 4: 132-164.
- 7 Gorter, E. and F. Grendel. 1925. On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood. 439-443. *The Journal of Experimental Medicine*. 41: 439-443.
- 8 Hodgkin, A.L., Huxley, A.F., Katz, B. (1952) Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 424-448.
- 9 Hodgkin, A.L., Huxley, A.F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117: 500-544.
- 10 Verveen, A.A., Derksen, H.E. (1965) Fluctuations in membrane potential of axons and the problem of coding. *Kybernetik* 2: 152-160.
- 11 Verveen, A.A., Derksen, H.E., Schick, K.L. (1967) Voltage fluctuations of neural membrane. *Nature (Lond.)* 216: 588-589.
- 12 Neher, E., Sakman, B. (1976). Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature (Lond.)* 260: 799-802.
- 13 Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B, Sigworth, F.J. (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch.* 391: 85-100.
- 14 Van Duijn, B., Ypey, D.L., Libbenga, K.R. (1993) Whole-cell K⁺ currents across the plasma membrane of tobacco protoplasts from cell suspension cultures. *Plant Physiol.* 101: 81-88.
- 15 Van Duijn, B. (1993) Hodgkin-Huxley analysis of whole-cell outward rectifying K⁺-currents in protoplasts from tobacco cell suspension cultures. *J. Membrane Biol.* 132: 77-85.
- 16 Van Duijn, B., Heimovaara-Dijkstra, S. (1994) Intracellular microelectrode membrane potential measurements in tobacco cell-suspension protoplasts and barley aleurone protoplasts: interpretation and artifacts. *Biochim. Biophys. Acta.* 1193: 77-84.
- 17 Heimovaara-Dijkstra, S., Van Duijn, B., Heidekamp, F., Wang, M. (1994) ABA-induced membrane potential changes in barley aleurone protoplasts: a possible role for the underlying ion-fluxes in the regulation of rab gene expression. *Plant, Cell & Physiology* 35, 743-750.
- 18 Wang, M., Van Duijn, B. & Schram, A.W. (1991) Abscisic acid induces a cytosolic calcium decrease in barley aleurone protoplasts. *FEBS Lett.* 278, 69-74.
- 19 Van Duijn, B., Flikweert, M.T., Heidekamp, F., Wang, M. (1996) Different properties of the inward rectifying potassium conductance of aleurone protoplasts from dormant and non-dormant barley grains. *Plant Growth Regulation* 18: 107-113.
- 20 Bruggeman, F.J., Libbenga, K.R., Van Duijn, B. (2001) The diffusive of gibberellins and abscisic acid through the aleurone layer of germinating barley grain: a mathematical model. *Planta* 214: 89-96.

PROF.DR. BERT VAN DUIJN



- 1986 Doctoraal Biologie (specialisatie Biofysica) aan de Rijks Universiteit Leiden
- 1990 Gepromoveerd in de Wiskunde en Natuurwetenschappen op het proefschrift getiteld: *Membrane potentials, ions and their role in chemotactic response of Dictyostelium discoideum*. Het onderzoek is uitgevoerd aan het Laboratorium voor Fysiologie, het Celbiologie Laboratorium, te Leiden en het 'Department of Botany', Kyoto University, Japan.
- 1990-1994 Postdoc onderzoeker Instituut voor Moleculaire Plantkunde, Leiden.
- 1994-1996 Universitair Docent, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam.
- 1996-2002 Manager Centrum voor Fytotechnologie, TNO-UL. Product manager TNO Toegepaste Plantwetenschappen

- 2002-2006 Plaatsvervangend hoofd van de TNO afdeling Toegepaste Plantwetenschappen, en hoofd van de TNO onderzoeksgroep Plant & Technologie.
- 2006-heden Science Manager Fytagoras BV
- 2008-heden Docent Roosevelt Academy, Univeristy College, Middelburg
- 2008-heden Hoogleraar in de Planten Elektrofysiologie, IBL, Leiden.

In het moleculair-biologische onderzoek van het Instituut voor Biologie Leiden (IBL) is het onderzoek aan planten en op het gebied plantenbiotechnologie een van de pijlers. Op dit gebied werkt het IBL samen met chemici, fysici, wiskundigen en informatici in het kader van het facultaire speerpunt *Bioscience*. Bij het IBL is het *Plant BioDynamics*-laboratorium (PBDL) ondergebracht. Daar wordt de moleculaire plantenfysiologie gekoppeld aan mathematische modellen. Het transport van plantenhormonen en ionen door de plant en door de plantencelmembranen vormen daarbij het speerpunt. Het onderzoek naar dit transport wordt gekenmerkt door elektrische verschijnselen, en bestudeerd met elektrofysiologische methoden. Van Duijn is 15 maart 2008 benoemd tot hoogleraar in de plantenelektrofysiologie. Binnen het kader van het PBDL verricht hij basaal onderzoek naar de elektrofysiologische aspecten van plantenhormoon- en ionen-transport op zowel het niveau van de plant, de plantencel als de plantencelmembranen.



Universiteit Leiden