

Nieuw licht voor de celbiologie

Rede uitgesproken door

Herman Pieter Spink

bij aanvaarding van het ambt als hoogleraar
in de moleculaire celbiologie
aan de Universiteit Leiden op 29 januari 1999.

Mijnheer de Rector Magnificus,
Zeer gewaardeerde toehoorders,

De titel van mijn rede luidt: “Nieuw licht voor de celbiologie”.

Deze titel heeft zowel een figuurlijke als een letterlijke betekenis. Met de figuurlijke betekenis verwijs ik, in alle bescheidenheid, niet naar mijzelf. Ik bedoel hiermee echter de nieuwe technische mogelijkheden die recentelijk ter beschikking zijn gekomen voor de celbiologie. Deze nieuwe mogelijkheden zullen leiden tot ongekende doorbraken in ons denken over de levende cel. Met de letterlijke betekenis van de titel wordt verwezen naar de grote rol van het gebruik van nieuwe lichtmicroscopische technieken voor het waarnemen van moleculaire processen in de levende cel.

Voor ik toekom aan het verduidelijken van deze nieuwe technische mogelijkheden wil ik een korte inleiding geven over de celbiologie en daarbij aangeven waarom er binnen deze discipline van de biologie behoefte is aan nieuwe technische mogelijkheden.

Wat is celbiologie, oftewel wat zijn cellen? Na de uitvinding van de eerste microscopen in de zeventiende eeuw begon duidelijk te worden dat dieren en planten uit kleinere onderdelen bestaan met een afmeting van ongeveer 1 tot 100 micrometer (ter verduidelijking: één micrometer is één duizendste gedeelte van één millimeter). Het woord cel is vooral gebaseerd op klassieke studies van de houtvaten van de plant die onder de microscoop opgebouwd blijken te zijn uit kleine regelmatige kamertjes, cellen genaamd. Tegen het eind van de 19e eeuw was het duidelijk dat alle levende organismen met elkaar gemeen hebben dat ze zijn opgebouwd uit cellen; met als eenvoudigste voorbeeld de ééncelligen zoals bacteriën, amoeben en algen. Het was toen ook al duidelijk dat al dit soort cellen zeer divers van vorm en afmetingen kunnen zijn en dat binnen de cellen zelf vaak weer kleinere onderdelen onderscheidbaar zijn. De celbiologie heeft zich vervolgens zeer lang en met groot succes bezig gehouden met de beschrijving van deze cellen.

Een grote doorbraak was de uitvinding van de elektronenmicroscoop omstreeks 1930. Door gebruik te maken van elektronen in plaats van licht (dat bestaat uit fotonen) werd het mogelijk om details binnen een cel te onderscheiden tot op een grootte van ongeveer 1 nanometer (dit is één miljoenste gedeelte van één millimeter). Ter verduidelijking kan ik hieraan toevoegen dat met een lichtmicroscoop nog een bacterie van ongeveer één micrometer makkelijk kan worden gedetecteerd terwijl met de elektronenmicroscoop objecten die duizend keer zo klein zijn nog net kunnen worden waargenomen. Het is theoretisch zelfs mogelijk om met de elektronenmicroscoop nog veel kleinere objecten te onderscheiden zoals de atomaire bouwstenen binnen de moleculen waaruit alle stoffen bestaan. Helaas brengt het gebruik van elek-

tronen als onderscheidingsmethode voor atomen praktische problemen met zich mee waar momenteel nog steeds een oplossing voor wordt gezocht.

Dankzij de elektronenmicroscop werd een hele nieuwe wereld van waarnemingen geopend. Het is daardoor mogelijk geworden om diverse onderdelen van cellen in groot detail te beschrijven en algemeen voorkomende onderdelen te herkennen. Er zijn ontelbare grote verdiensten van deze techniek voor de biologie. Een voorbeeld is de ontdekking van virussen, die, zoals nu algemeen bekend is, verantwoordelijk zijn voor vele ziektes. Een ander belangrijk voorbeeld is de ontdekking dat alle levende organismen, op grond van de organisatie van hun cellen, zijn in te delen in twee types: de zogenaamde prokaryoten en de eukaryoten.

De prokaryoten zijn organismen zoals bacteriën die een eenvoudige organisatie hebben. De bacteriële cel is omgeven door een stevige celwand die is opgebouwd uit diverse soorten polymeren met als hoofd-bestanddeel bepaalde suikers en aminozuren. Daarbinnen bevindt zich een vliesje, membraan genoemd, dat voor een groot deel bestaat uit bepaalde soorten vetten. Dit vliesje omgeeft het waterige gedeelte van de cel waarbinnen zich bijvoorbeeld het DNA bevindt; DNA is de drager van de genetische informatie, oftewel het bouwplan van de cel. Ook bevindt zich hier het grootste gedeelte van alle eiwitten (zoals bijvoorbeeld enzymen).

Bij de eukaryoten, die ook vaak “hogere organismen” genoemd worden, is de binnenkant van de cel heel anders georganiseerd. Dit valt met name op door de aanwezigheid van vele compartimenten binnen de celmembraan die zelf óók weer zijn omgeven zijn door membranen. We kunnen als het ware spreken van minicelletjes die zich binnen de cel bevinden. Een voorbeeld van zo'n compartiment is de celkern waarbinnen zich het grootste gedeelte van de genetische informatie bevindt. Daarnaast bevinden zich binnen de cel onderdelen die essentieel zijn voor de energiehuishouding, de zogenaamde mitochondriën. De mitochondriën bevatten zelf ook een kleine hoeveelheid erfelijk materiaal. Deze ontdekking heeft geleid tot de inmiddels algemeen aanvaarde theorie dat deze kleine onderdelen van de cel tijdens de evolutie ontstaan zijn uit een bacterie die ooit binnengedrongen is in de cel van een groter organisme. Vervolgens hebben beide organismen een eeuwig verbond gesloten om samen als één organisme door het leven te gaan. Met ander woorden: de cellen van hogere organismen zijn ontstaan uit het samengaan van verschillende eenvoudigere organismen die samen een goede taakverdeling hebben afgesproken en vervolgens volledig afhankelijk van elkaar zijn geworden.

Er moet hierbij opgemerkt worden dat deze conclusie mogelijk is gemaakt doordat de oorspronkelijk beschrijvende studie celbiologie gedurende de laatste dertig jaar steeds sterker geïntegreerd is geraakt met biochemische analyses die zich richten op de functie van levensprocessen. Als voorbeeld kan genoemd worden de studies aan

het DNA als drager van de genetische informatie. Als gevolg van deze integratie van celbiologische en biochemische technieken is de celbiologie zoals die nu wordt onderwezen aan de universiteiten heel sterk geconcentreerd op de studie van chemische processen die plaatsvinden in de levende cel. Vandaar dat vaak gesproken wordt van **moleculaire** celbiologie.

Als we nu al de kennis uit deze moderne discipline moleculaire celbiologie op een rijtje zetten is het eigenlijk heel indrukwekkend hoeveel er nu bekend is van een cel. In deze eeuw zijn er honderdduizenden artikelen verschenen over de moleculen die een rol spelen in een levende cel. Door de belangrijke bijdrage van de organische chemie zijn een groot aantal van deze verbindingen gesynthetiseerd en konden gericht veranderingen in de moleculen aangebracht worden. Dit heeft het mogelijk gemaakt hun biologische functie in detail te onderzoeken en is de basis geweest voor het totstandkomen van de celbiologische modellen zoals die nu in de leerboeken staan beschreven.

Deze modellen zijn opgebouwd vanuit het inmiddels zeer stevige fundament van de moleculaire genetica. Een belangrijke mijlpaal zal in het begin van de volgende eeuw worden gezet door de opheldering van de totale genetische informatie van de mens. Hierdoor wordt het mogelijk te voorspellen welk totaal aan verschillende producten van genen er door een mens gemaakt kan worden. Bovendien kan worden vastgesteld tijdens welke levenstadia van de cel de genproducten geproduceerd worden. Dit kan gebeuren met behulp van zogenaamde DNA-chips, dit zijn kleine stukjes silica waarop tienduizenden verschillende stukjes DNA geordend zijn vastgeplakt. Een celextract kan door deze chip worden gespoeld waarna onmiddellijk kan worden uitgelezen welke genproducten door deze cel zijn gemaakt.

Ondanks deze indrukwekkende vorderingen blijft een zekere bescheidenheid gepast, al was het alleen maar omdat anders een verkeerde indruk kan ontstaan van de wetenschap. Als voorbeeld dat dit makkelijk kan gebeuren blijkt uit een recent verschenen boekwerk getiteld "Het einde der wetenschap" dat is geschreven door de gerenommeerde wetenschapsjournalist John Horgan. De auteur beschrijft hierin dat eigenlijk alle grote wetenschappelijke ontdekkingen al zijn gedaan en dat de huidige wetenschap zich slechts bezighoudt met het invullen van details.

Niets is echter minder waar! Een pakkende omschrijving van de domheid van deze conclusie is te vinden in het boek "Het transgalactische liftershandboek" geschreven door Douglas Adams. In dit boek beschrijft Adams hoe de wat verder gevorderde extragalactische culturen over dit soort aardbewoners denken. Ik citeer: "De planeet aarde is bewoond door levensvormen die zo verbijsterend primitief zijn dat ze nog altijd denken dat het digitaal horloge een hele belangrijke uitvinding is". Einde citaat.

In het geval van de celbiologie wil ik ook een aantal concrete argumenten geven waarom onze kennis sterk gerelativeerd moet worden. Een belangrijk doel van cel-

biologische studies is te doorgronden wat de essenties zijn van een levende cel. Een belangrijke vraag hierbij is wat de minimale benodigdheden zijn voor een cel om zich te kunnen vermenigvuldigen, want dat is de basis van het leven. Een bevredigend antwoord op deze vraag zou eigenlijk pas kunnen worden gegeven als wij in staat zouden zijn zelf een levende cel uit afzonderlijke onderdelen te creëren.

Alhoewel wij inmiddels redelijk handig zijn geworden in het wijzigen van levensprocessen door het na-apen van natuurlijke processen, is het creëren van een levend cel iets dat nog *láng* niet mogelijk is.

Het principiële probleem is dat wij na miljarden jaren van evolutie alleen nog maar te maken hebben met dusdanig complexe vormen van leven dat de minimale basisprocessen erg moeilijk zijn te definiëren. Bij het definiëren van de belangrijkste basisprocessen is er bovendien het grote probleem dat wij van het merendeel van de moleculen van levende organismen de biochemische functie nog niet kennen. Zelfs van de moleculen waarvan we de functie *wèl* denken te kennen moet worden opgemerkt dat de meeste van onze gegevens zijn verkregen uit de studies van levenloos materiaal en dat is aangenomen dat deze gegevens ook gelden voor de levende situatie. Bij moleculair biologische studies worden cellen namelijk vaak kapot gemaakt om vervolgens de biochemische processen in een testbuisje te bestuderen.

Dit is ook een probleem met de gegevens die zijn verkregen met de elektronenmicroscoop waar altijd gewerkt wordt met dood materiaal zodat dynamische processen niet kunnen worden gevolgd. Bovendien is het voor deze techniek noodzakelijk dat de studieobjecten worden ontdaan van water en worden ingebed in plastic zodat er vervolgens dunne plakjes van kunnen worden gesneden. U kunt zich voorstellen dat zich in het oorspronkelijke levende materiaal na al deze behandelingen een aantal ingrijpende veranderingen hebben voorgedaan.

Ook bij lichtmicroscopie wordt vaak gewerkt met dood materiaal omdat gebruik wordt gemaakt van dodelijke fixatie en kleurtechnieken om objecten waar te nemen. Dat betekent concreet dat we alle gegevens gebaseerd op microscopie die momenteel worden beschreven in de leerboeken met een korreltje zout moeten nemen.

Waarschijnlijk zijn zelfs een groot aantal basale theorieën over de opbouw van een cel geheel onjuist. Samenvattend komt dit dus omdat moleculaire biologen meestal levende dingen moesten doodmaken voordat ze iets goed konden bestuderen.

Hier gloort nu nieuw licht voor de celbiologie! Dit nieuwe licht is afkomstig van nieuwe laserapparatuur waarmee we beter gebruik kunnen maken van het principe van fluorescentie. Om dit uit te leggen heb ik enig eenvoudig demonstratiemateriaal meegenomen. In de eerste plaats een zogenaamde laserpointer zoals die tot voor kort in alle boekhandels verkrijgbaar was. Met deze laserpointer kan een rood vlekje op een witte muur geprojecteerd worden. Helaas is dit handige aanwijsinstrument wegens misbruik tijdens voetbalwedstrijden uit de handel genomen.

De laserpointer is in principe vergelijkbaar met de laserapparaten die momenteel gebruikt worden in de lasermicroscopie. Het principe van alle laserapparatuur is namelijk dat licht uitgezonden wordt van precies één bepaalde golflengte zodat dit door ons oog gedetecteerd wordt als licht van een bepaalde kleur. In tegenstelling daarmee stralen andere lichtbronnen, zoals de zon, licht uit met een breed scala aan golflengtes en dit licht wordt daarom ervaren als de kleur wit. Indien dit witte licht tegen kleurstoffen opbotst worden bepaalde golflengtes geabsorbeerd zodat het gereflecteerde licht een bepaalde kleur krijgt. Een voorbeeld zijn de fraaie glas-in-loodramen zoals deze hier in deze zaal te zien zijn. Indien het zonlicht bijvoorbeeld door een blauw glaasje valt zullen de rode golflengtes worden geabsorbeerd.

Met dit blauwe glaasje en een laserpointer kan dit principe makkelijk worden gedemonstreerd. Het licht van een rode laserpointer kan niet passeren door het blauwe glas. Het licht kan echter wel passeren door dit rode beschermplaatje afkomstig van onze lasermicroscop.

De klassieke kleurmiddelen in de microscopie zijn allen gebaseerd op het principe van absorptie van licht zoals het geval is met gekleurd glas. Het gebruik van dit soort kunstmatige kleurmiddelen om objecten te zien binnen een cel heeft echter een groot aantal nadelen. Naast het feit dat de kleurreactie schadelijk kan zijn voor de cel is het ook praktisch onmogelijk om meerdere kleuren te combineren.

Het principe van fluorescentie, biedt veel meer mogelijkheden. Fluorescentie is oorspronkelijk ontdekt met de stof calciumfluoride, ook bekend onder de oude naam vloeispaat. Bij fluorescentie wordt er door een molecule licht uitgezonden indien het wordt bestraald met licht van een bepaalde golflengte. Dit kan worden bereikt met behulp van laserapparatuur. Het uitgestraalde licht is van een andere golflengte dan het ingestraalde licht en kan vervolgens zeer gevoelig worden gedetecteerd. Dit proces is echter vaak niet met het blote oog waar te nemen omdat het fluorescentielicht te zwak is of omdat de golflengtes vallen buiten de schaal van het zichtbare licht. Ik kan het hier helaas dus niet demonstreren.

Een groot aantal belangrijke biologische moleculen die in de natuur voorkomt is van nature fluorescent. Ook is het mogelijk om binnen een cel een eiwit naar keuze fluorescent te maken zonder dat de cel hier schade van ondervindt. Door cellen met een geschikte laserstraal af te tasten kan het gedrag van moleculen dus in een levende cel worden geobserveerd.

Door de beschikbaarheid van vele nieuwe fysische analyse methoden voor fluorescentie gaan de mogelijkheden van het gebruik van fluorescentie echter nog veel verder dan alleen het volgen van moleculen in een cel. Het is namelijk ook mogelijk om interacties tussen afzonderlijke moleculen te detecteren en hun onderlinge afstanden

tijdens die interacties zeer nauwkeurig te bepalen. De nauwkeurigheid van afstands-bepaling is hierbij groter dan mogelijk is met de electronenmicroscop.

Voor dit soort toepassingen volstaat het niet om te werken met eenvoudige lasers zoals een laserpointer. In plaats daarvan wordt in ons laboratorium nu gewerkt met een nieuwe generatie van laserapparatuur. Een van de bijzondere eigenschappen van deze laserapparatuur is dat er zeer korte felle pulsjes van rood licht door worden afgegeven. Deze pulsjes licht zijn duizelingwekkend kort, elk pulsje duurt slechts ongeveer 100 femtoseconden. Dat betekent dat binnen één seconde tienduizend miljard van deze pulsjes passen. De bedoeling is echter dat relatief slechts weinig van zulke pulsjes worden afgegeven, zodat er aan het biologische preparaat in totaal slechts weinig energie wordt toegediend. Hierdoor is de kans op beschadigingen minimaal.

Er zijn vele belangrijke voordelen van onze nieuwe laserapparatuur. Een daarvan is dat ook cellen die heel diep in weefsels liggen kunnen worden bekeken doordat de felle flitsjes licht veel beter kunnen doordringen. Bovendien kunnen nu ook stoffen geanalyseerd worden waarvan de fluorescentie valt buiten het zichtbare golflengtebe-reik, het zogenaamde ultraviolet en het infrarood.

Het spreekt voor zich dat voor het interpreteren van de gegevens die met dit soort technieken worden verkregen een goede samenwerking met fysici essentieel is. Gelukkig blijken ook vele fysici nieuwe uitdagingen te zien in het beschrijven van het gedrag van individuele moleculen in levende cellen zodat er een goede basis is voor samenwerking. Het daarmee beoogde bijstellen van onze biochemische modellen voor de situatie in een levende cel vereist een brede multidisciplinaire samenwerking. In Leiden is gelukkig inmiddels een consortium van biologen, medici, chemici, fysici en mathematici gevormd die gezamenlijk dit soort nieuwe uitdagingen willen aan-gaan. Wij voeren hierbij de vlag genaamd F.O.L.M. (dit staat voor fundamenteel onderzoek aan de levende materie).

Men moet zich bovendien realiseren dat levende cellen dusdanig complex zijn dat zelfs de hedendaagse generatie van supercomputers nog niet in staat is de te verkrij-gen meetgegevens van moleculaire interacties te verwerken. Laat staan dat we momenteel in staat zijn om alle gegevens goed door te rekenen om te komen tot voorspellende modellen. Een nieuwe interessante ontwikkeling is dat biologen ook zelf kunnen bijdragen aan nieuwe rekentechnieken door de ontwikkeling van zoge-naamde DNA-computers. Ook dit soort DNA-computers maakt weer gebruik van fluorescentietechnieken en laserapparatuur zodat dit soort onderzoek in samenwer-king met informatici zeer goed past in het Leidse F.O.L.M. consortium.

Een laatste punt dat ik nog graag wil behandelen is de keuze van het organisme waarmee binnen de celbiologie gewerkt wordt, met name in ons eigen onderzoek.

Het ligt voor de hand om te stellen dat basale vragen over levensprocessen het best beantwoord kunnen worden door de studie aan ééncellige organismen aangezien hier alle processen die noodzakelijk zijn voor het leven in één cel zijn geconcentreerd. Het blijkt echter traditie dat de studie aan ééncellige organismen is ondergebracht bij de discipline microbiologie terwijl de celbiologie zich meestal gericht heeft op de bestudering van cellen van meercellige organismen.

Als reden hiervoor zou kunnen worden genoemd dat de cellen van de meeste ééncellige organismen relatief kleine afmetingen hebben vergeleken met de cellen van hogere organismen en dat ze daardoor met microscopische technieken veel moeilijker te bestuderen zijn. Er zijn echter vele uitzonderingen op deze regel: bijvoorbeeld bepaalde soorten amoeben en zelfs sommige bacteriën kunnen wel tot 1 millimeter groot worden en bij de microscopische analyse van deze cellen zijn er geen technische nadelen in vergelijking met de bestudering van meercellige organismen. Een andere reden zou kunnen zijn dat de celbiologie een zeer belangrijke rol speelt binnen de geneeskunde en dat daarom de meeste aandacht is besteed aan de studie van dierlijke cellen.

Dit neemt echter niet weg dat het in alle gevallen makkelijker lijkt de basale vragen binnen de celbiologie te bestuderen aan de hand van eencellige organismen, al was het alleen maar omdat ze eenvoudiger genetisch zijn te manipuleren en omdat ze beter onder de microscoop passen.

Omdat mijn voornaamste interesses in mijn studie zich op de biochemische aspecten van de biologie hebben gericht was dit een overweging die mij er toe gebracht heeft om tijdens mijn studie en het daaropvolgende promotieonderzoek te gaan werken aan bacteriën. Als we nu kijken naar mijn wetenschappelijke loopbaan moet ik echter toegeven dat ik zelf inmiddels ook ben afgedwaald van dit oorspronkelijke “rechte pad” en dat een groot gedeelte van mijn huidige onderzoek zich momenteel richt op meercellige organismen.

Ik wil mij op twee manieren verantwoorden voor deze ontwikkeling. Ten eerste wil ik aanvoeren dat de huidige beschikbare genetische technieken, vergeleken met die tijdens mijn studietijd, dusdanig zijn verbeterd dat mijn argumenten van destijds om mijn onderzoek te beperken tot ééncelligen zeer zijn verzwakt. Ten tweede wil ik aan de hand van een korte beschrijving van de geschiedenis van mijn onderzoek aantonen dat mijn specifieke vraagstellingen mij om goede redenen geleid hebben van het ééncellige naar het meercellige organisme.

Tijdens mijn studie biologie in Leiden ben ik sterk geïnteresseerd geraakt in een bepaalde soort bacterie, *Rhizobium* genaamd. Tot op heden is deze soort bacteriën een van de belangrijkste onderwerpen van studie in mijn groep. De *Rhizobium* bacteriën hebben de opmerkelijke eigenschap dat zij in staat zijn de wortels van planten

aan te zetten tot de vorming van kleine knolletjes. De bacteriën zijn bovendien in staat de cellen van deze knolletjes binnen te dringen en kunnen zich daarbinnen vermenvuldigen op een soortgelijke manier zoals de in het begin genoemde mitochondriën dat doen.

De bacteriën doen zich tegoed aan voedsel (zoals suikers) dat van de plant afkomstig is. Toch zijn de *Rhizobium* bacteriën geen parasieten want zij geven in ruil een groot cadeau terug voor dit voedsel. Dit cadeau is voedsel dat de plant zelf niet kan produceren: namelijk de stof ammonia. Ammonia is een stof die als grondstof dient voor de vorming van een groot gedeelte van alle belangrijke moleculen in levende organismen (zoals eiwitten en DNA). Dit komt omdat ammonia een leverancier is van het atoom stikstof. Stikstof komt ook in grote hoeveelheden voor in de lucht (maar liefst 75%) waarin het bestaat als een gasvormig molecule dat is opgebouwd uit twee aan elkaar gebonden atomen van stikstof. Dit gasvormige stikstof is echter niet bruikbaar als bouwstof voor hogere organismen zoals planten en dieren en daarom is er in de natuur een voortdurend gebrek aan stikstof ondanks dat het in grote hoeveelheden voorkomt in de lucht. De bacteriën in de wortelknolletjes zijn echter wel in staat dit stikstofgas te gebruiken om ammonia te produceren. Het afstaan van ammonia is dus inderdaad een zeer groot cadeau omdat zonder deze stikstofbron geen leven mogelijk zou zijn.

Echter niet alle planten zijn zo gelukkig dat ze wortelknolletjes kunnen vormen met deze bacteriën van binnen. Integendeel: dit soort wortelknolletjes worden (op een enkele uitzondering na) alleen gevonden bij de familie van de vlinderbloemigen. Voorbeelden van vlinderbloemige planten zijn vele gewassen die peulvruchten opleveren zoals erwten, linzen en bonen. Diegene die wel eens een van deze planten uit de grond heeft getrokken zal de aanwezigheid van knolletjes op de wortel waarschijnlijk wel zijn opgevallen.

Alle andere soorten planten die niet dit soort knolletjes hebben zijn dus sterk afhankelijk van aan de grond toegevoegd ammonia om te kunnen overleven. In de landbouw wordt dit tegenwoordig bewerkstelligd door het toedienen van kunstmest. Het toegevoegde kunstmest wordt echter niet allemaal door de plant opgenomen met als gevolg dat het milieu sterk vervuild raakt. Een veel schonere, en ook goedkopere, manier om te bemesten is om planten te groeien in aanwezigheid van vlinderbloemige planten. Dit landbouwkundig principe werd vroeger met groot succes toegepast maar is helaas door het grote overschot aan kunstmest in de rijke landen grotendeels in onbruik geraakt.

Gelukkig hebben wetenschappers zich tot nu toe niet laten meesleuren door de gevaarlijke economische trend van “korte termijn denken”. De huidige hongersnood in de wereld, die zich met een voorspelde wereldbevolking van meer dan 10 miljard

mensen in het midden van de volgende eeuw alleen maar zal verergeren, lijkt de westerse politici tegenwoordig maar nauwelijks te interesseren. De meeste biologen worden echter steeds bezorgder over de voedselsituatie, al was het maar uit eigenbelang. Daarom zijn wij toch geïnteresseerd gebleven in de mogelijke toepassingen van het proces van wortelknolvorming en van de bacteriën die zich in die wortelknolletjes bevinden. Een belangrijke vraag is daarbij altijd geweest: waarom vormt deze bacterie nu alleen wortelknolletjes op vlinderbloemige planten? Kunnen we het proces niet uitbreiden naar andere landbouwgewassen zoals rijst? Rijst noem ik hier als voorbeeld omdat dit momenteel een van de genetisch best bestudeerde voedselgewassen kan worden genoemd. Bovendien is van rijst bekend dat het in staat is tot vorming van knolachtige structuren op de wortel, de zogenaamde pseudoknollen.

Ondanks diepgravend onderzoek in Leiden en vele ander laboratoria in de wereld zijn we echter nog niet in staat de *Rhizobium* bacterie te laten infecteren bij rijstplanten. Wel hebben we buitengewoon veel geleerd over het proces van wortelknolvorming. Zo weten we nu bijvoorbeeld dat de wortelknolvorming het resultaat is van een proces van wederzijdse herkenning dat zich afspeelt tussen de *Rhizobium* bacterie en de plant.

Deze herkenning gebeurt door het uitwisselen van signalen op een manier die vergelijkbaar is met de manier waarop dieren geursignalen uitwisselen. Kort gezegd blijken de wortels van vlinderbloemige planten bepaalde stoffen uit te scheiden die door de bacteriën als het ware geroken worden en daarmee het signaal geven dat ze bij een plant zijn aangekomen die wortelknolletjes wil maken. Als reactie scheiden de bacteriën bijzondere stoffen af die de plant laten weten dat er bacteriën voor de deur staan die graag binnenin een wortelknolletje willen wonen.

De plant gaat vervolgens aan de gang met het maken van een wortelknolletje en zet bovendien een cellulair deurtje in de wortel open zodat de bacteriën binnen kunnen komen. Tijdens het daaropvolgende binnendringen van de bacteriën houdt de plant voortdurend zeer scherp in de gaten of ze geen misbruik maken van het gesteld vertrouwen. Niet alle bacteriën zijn namelijk vriendjes die van plan zijn cadeautjes in de vorm van ammonia af te leveren. Dit wederzijds besnuffelen met behulp van signaalmoleculen blijkt zeer nauwkeurig te gebeuren. Het is zelfs zo dat bepaalde soorten bacteriën en planten precies op elkaar zijn afgestemd.

Zo is er een bepaalde soort *Rhizobium* bacterie die “het” doet met de erwt en een andere soort bacterie die “het” doet met de boon. Indien de bacteriën van de boon bij wortels van de erwt worden gevoegd worden dus geen wortelknolletjes gevormd doordat de bacterie en de plant elkaar niet herkennen. Het geheim zit hem dus in de aard van de signaalmoleculen die door de plant en bacterie uitgewisseld worden.

De structuren van deze moleculen zijn inmiddels allemaal opgehelderd alhoewel dat niet zo makkelijk was omdat er maar zeer weinig van deze stoffen geproduceerd

wordt. Bovendien weten we ook hoe de signaalmoleculen door de bacterie herkend en geproduceerd worden, oftewel welke genen en eiwitten hierbij betrokken zijn. Hierdoor is het zelfs mogelijk geworden om de bacterie voor de gek te houden zodat hij alle planten als vriendjes gaat beschouwen en dus altijd signaalmoleculen produceert. Toch blijkt een rijstplant in de aanwezigheid van dit soort in de war gebrachte bacteriën geen wortelknolletjes te gaan vormen.

Samenvattend kan ik stellen dat er een groot gat in onze kennis is, namelijk de herkenning van de bacteriële signalen door de plant. Dit is om verschillende redenen heel jammer. In de eerste plaats omdat we daardoor nog steeds niet begrijpen waarom alleen vlinderbloemige planten wortelknolletjes vormen in de aanwezigheid van *Rhizobium* bacteriën. In de tweede plaats, omdat we recent ontdekt hebben dat de signaalmoleculen die een rol spelen bij de vorming van de wortelknolletjes ook een rol spelen bij vele andere biologische processen. Zo hebben we bijvoorbeeld ontdekt dat de bacteriële moleculen die de plant aanzetten tot de vorming van wortelknolletje sterk lijken op moleculen die door planten zelf worden geproduceerd en daar mogelijk een rol spelen bij de ontwikkeling van het embryo.

Een ander zeer verrassende vinding is recentelijk gedaan door een van onze promovendi. Deze promovendus, Jeroen Bakkers, heeft ontdekt dat moleculen die soortgelijk zijn aan de wortelknolvormende stoffen ook een rol spelen bij de vorming van organen in hogere dieren, zoals de zebravis, en waarschijnlijk ook bij de mens. Het lijkt er nu dus op dat het proces van wortelknolvorming gebaseerd is op de uitwisseling van een algemeen type signaalmoleculen zoals die reeds zeer vroeg in de evolutie ontstaan is. Gezien het algemene belang voor de celbiologie zijn wij dus van plan de werking van dit soort moleculen in hogere organismen in meer detail te gaan bestuderen. Hierbij kunnen we gebruik maken van de vele nieuwe technische mogelijkheden voor celbiologisch onderzoek zoals ik er daarnet een aantal heb genoemd. Ik ben er van overtuigd dat als wij de principes van signaalherkenning goed zullen begrijpen dat we dan ook in staat zullen zijn het proces van stikstofbinding te introduceren bij niet-vlinderbloemige voedselgewassen, zoals rijst.

Aan het eind gekomen van deze rede wil ik nog een aantal mensen bedanken die belangrijk zijn geweest voor mijn studie en wetenschappelijke loopbaan.

In de eerste plaats wil ik daarbij noemen mijn ouders, Ton en Trees, die mij altijd op een prachtige manier gestimuleerd hebben om te gaan studeren. Ik hoop dat ik hun voorbeeld zal kunnen volgen en ons kleine zoonje Hermes ook op een soortgelijke manier kan stimuleren zodat hij misschien ook een academische opleiding wil gaan volgen.

Mijn echtgenote Helmi Schlaman weet door haar dubbelrol als moeder en als gepromoveerd medewerker als geen ander dat wetenschap bedrijven en onderwijs geven

moelijk te combineren is met sociale activiteiten in het gezin. Het begrip dat zij toont voor het feit dat ik het meeste van onze vrije tijd besteed aan mijn beroep maakt het mogelijk dat ik nog steeds competitief toponderzoek kan verrichten.

Tijdens mijn academische opleiding heeft professor Ben Lugtenberg een zeer belangrijke rol gespeeld in het bepalen van de richting van mijn verdere carrière. Als promotor van mijn proefschrift en als groepsleider tijdens het grootste gedeelte van mijn postdoctorale onderzoeksperiode heeft hij mij veel geleerd. Veel van zijn lessen in zakelijkheid komen mij nu erg goed van pas.

Professor Rob Schilperoort heeft mij in staat gesteld de leiding van zijn succesvolle groep over te nemen. Ik ben hem zeer dankbaar voor de mogelijkheden die dit mij biedt om binnen het plantenonderzoek een goede brede basis op te bouwen voor nieuwe ontwikkelingen in de moleculaire celbiologie.

Wat betreft mijn nieuwe onderwijstaken ben ik gestimuleerd door professor Theo Konijn, emeritus in de celbiologie. Zijn erfgoed heb ik met de hulp van Dr. Wessel de Priester goed kunnen gebruiken voor het opzetten van mijn celbiologische colleges aan de eerste jaars studenten.

Aan professor Eugene Kennedy ben ik dank verschuldigd voor het grote voorbeeld dat hij is geweest tijdens mijn postdoctorale periode aan Harvard University. Dankzij hem heb ik zeer veel biochemische technieken geleerd en is het mogelijk geworden belangrijke doorbraken te verkrijgen in de analyse van de bacteriële signaalmoleculen.

Zeer belangrijk voor mijn plezier in het onderzoek is altijd geweest de uitermate prettige samenwerking met andere wetenschappers. Aangezien ons type onderzoek geheel afhankelijk is van samenwerkingen zijn er zoveel mensen bij mijn onderzoek betrokken dat het onmogelijk is ze hier allemaal op te noemen.

Binnen ons instituut wil ik in het bijzonder noemen professor Jan Kijne zonder wiens steun ik ons huidige onderzoek aan zowel wortelknollen als zebravissen een stuk problematischer zou inschatten.

Graag wil ik ook het bestuur van onze faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen, en in het bijzonder onze decaan professor Kees Libbenga, bedanken voor de grote steun bij het versterken van mijn groep en de benoemingsvoordracht.

Tenslotte dank ik het college van bestuur van deze universiteit voor mijn benoeming tot hoogleraar. Ik hoop dat deze rede uw vertrouwen heeft bevestigd dat toekomstig onderzoek in de celbiologie, hoewel het een stukje duurder is geworden dan vroeger, zijn geld meer dan waard is.

Aan de dames en heren studenten zou ik willen voorhouden dat, hoewel de specialisatierichting celbiologie er de komende jaren zeker niet gemakkelijker op zal worden, het een goede keuze is indien u werkelijk geïnteresseerd bent in de aard van levensprocessen. Ik spreek hierbij de hoop uit dat deze positieve perspectieven niet negatief beïnvloed zullen worden door een te korte studieduur.

Ik heb gezegd.

