



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Novel regulators of megakaryopoiesis: The road less traveled by

Zeddies, S.

Publication date

2015

Document Version

Final published version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Zeddies, S. (2015). *Novel regulators of megakaryopoiesis: The road less traveled by*.

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.

Chapter 7

English summary

Nederlandse samenvatting

List of publications

Curriculum vitae

Dankwoord

PhD portfolio

Thesis summary for non-expert readers

This thesis explores the contribution of new factors – proteins and pathogen reduction treatment – to megakaryopoiesis and platelet functionality.

Platelets are small particles in our blood, responsible for wound closure and blood clotting. They are derived from large cells residing in the bone marrow called megakaryocytes. Platelets are circulating through the blood in an inactive state. But when a blood vessel is damaged, platelets react to the damage by getting activated and close the wound to stop bleeding. To fulfill this role in wound closure and bleeding, a sufficient amount of platelets is needed. In a healthy individual, the body maintains the amount of platelets by itself but certain diseases can cause a drop in the amount of platelets, a situation called thrombocytopenia. Thrombocytopenia can be caused by very different factors, for example after chemotherapy or as a result of an immune reaction that destroys platelets. In these cases, patients need to be given platelet transfusions. Currently, platelet transfusion units are obtained from blood donations. While this approach has been reliable and working for decades, it also has some room for improvement.

This is why researchers have worked on approaches to achieve platelet generation in a culture system, or *in vitro*, for transfusion purposes. Such a system has clear advantages. For example the possibility to generate platelets on demand or developing platelets for patients with specific needs. Another positive aspect lies in the reduction of adverse immune reactions against transfused platelets, a process called alloimmunization, by producing platelets lacking these immunogenic structures. Last but not least, if blood banks were able to generate platelets in a closed system from a constant source, this would nearly eliminate the chance of infecting a recipient through contaminated transfusion products.

However, current approaches cannot deliver sufficient numbers of megakaryocytes and platelets yet. Researches are able to differentiate megakaryocytes from hematopoietic stem cells and study the cells in relatively small amounts, but these culture methods used for research

purposes cannot just be scaled up to make transfusion products. In order to make *in vitro* platelet transfusion products profitable for blood banks, we need to design culture systems supporting the production of vast amounts of megakaryocytes, the platelet progenitor cells from little starting material followed by the generation of large quantities of functional platelets.

In the human body, the source of all blood cells including megakaryocytes are hematopoietic stem cells (HSC). HSCs are immature hematopoietic cells which have the ability to self renew or develop into blood cells depending on specific stimuli. These stimuli come from other cells in the bone marrow such as supporting mesenchymal stromal cells or bone cells, called osteoblasts. Depending on the signals from surrounding cells, the HSC gradually develops more features of a certain blood cell and loses the stem cell potential. This process is called differentiation.

The secreted factors driving differentiation result in signaling cascades in the HSC and lead to changes in the nucleus of the HSC. It is the nucleus that contains all genetic material of a cell, the DNA. Although each cell of our body contains the same DNA, not all of it is used in each cell. Rather, specific parts of the DNA are active in a specific cell. Depending on the active DNA a cell gets its identity, for example being a liver cell, a lung cell or a megakaryocyte. Special proteins called transcription factors (TF) control which parts of DNA in a cell are active. They are shuttled into the nucleus and bind to the DNA in response to factors from the outside. Because of their crucial role in determining a cell fate, a lot of TFs have been investigated in the last years. Important findings have been made, such as the discovery that TFs do not work alone on one piece of DNA, but in groups. Also, single TFs are being reused during the differentiation of a HSC into a blood cell and in combination with other TFs form new groups which then bind new parts of DNA. While the role of a lot of TFs has been investigated, the function of others is still not completely clear.

The TF MEIS1 is such a transcription factor with a currently unclear role in the generation of blood cells. While other groups have shown that MEIS1 plays a

role in HSCs, we found that its action does not stop there. When HSCs start differentiating, they go through a few stages of development and each stage brings them closer to a blood cell and makes them less of a stem cell. These cells in intermediate phases of differentiation are called progenitor cells and MEIS1 plays an important role in them as well. In **chapter 2** we show that if MEIS1 is present in a progenitor cell, this cell is destined to become either a red blood cell or a megakaryocyte and can no longer become a white blood cell or an immune cell. The way MEIS1 achieves this is by binding to specific parts of DNA in the progenitor cell which control genes. MEIS1 regulates genes by binding to them which activates the gene or inhibits it resulting in the induction or inhibition of protein synthesis. Thereby MEIS1 enables red blood cell and megakaryocyte development while at the same time prevents white blood cell or immune cell differentiation.

Earlier experiments we and other groups performed have also shown that MEIS1 is not only present in stem and progenitor cells, but also in megakaryocytes themselves. Not only is MEIS1 present in megakaryocytes, it is also present only in these cells when we compared all blood cells with each other. When blood cells are fully mature, MEIS1 can only be found in megakaryocytes. Because MEIS1 is a transcription factor that regulates genes and ultimately the way a cell differentiates, we next wanted to know more about what genes MEIS1 will bind to in megakaryocytes and what the function of these genes is. When a gene is bound by a transcription factor, the gene is read by specific proteins which also make a copy of the gene. This process is called transcription and once the gene is completely read, the copy, called mRNA, is transported out of the nucleus and into the cytoplasm of the cell. While the nucleus keeps and protects the DNA, the cytoplasm contains many different specialized areas which all work together to keep the cell alive and let it respond to signals from other cells. Many different processes are active in the cell for these purpose and they are all conducted by proteins. But since the environment of a cell and the signals it receives can change all the time, the proteins responding to all this input need to be updated continuously. The copy of a gene that is made in the nucleus does exactly this. This copy holds the information to make a new protein, and once

the copy is transported into the cytoplasm, it will be read again by specialized machinery that translates the information from the nucleus into making one specific protein. This means that if we investigate which genes MEIS1 binds to in megakaryocytes, we can find out which proteins are encoded in those genes. Because MEIS1 is so specific for megakaryocytes we can hypothesize that MEIS1 target genes play a role in megakaryocyte differentiation and by analyzing their function we will understand this process better. To find MEIS1 target genes, we conducted a method in which MEIS1 was deleted from megakaryocytic cells. In the absence of MEIS1 we then analyzed which other genes are also less or more read. From these genes that are responding to changes in MEIS1 availability we chose two which have not been studied in megakaryocytes yet. Our studies show that both targets, ATXN2 and TPM1 are contributing to key events during megakaryopoiesis.

Compared to the differentiation of other cells, megakaryopoiesis contains several unique features. The first characteristic of megakaryopoiesis is endomitosis. Most cells divide in a way that gives rise to two daughter cells of equal size with one nucleus each containing the cells' DNA. However, immature megakaryocytes at one point during their differentiation do not divide completely to form two daughter cells but stop division after their nuclear material is doubled. This incomplete division creates one cell with two nuclei and is called endomitosis. Immature megakaryocytes repeat this process until the cells increase both in size and in their nuclear material to a point that mature megakaryocytes can be found with the nuclear equivalent of 14 cells. This increase in nuclear material is accompanied by an increase in cell size, eventually giving the cell its name, MEGA-karyocyte. We still need to learn more about why megakaryocytes are endomitotic and which factors are responsible for this process. So far, it is believed that by containing more nuclei, the cell can produce more copies of genes (transcription) which are then translated into more protein. The protein masses generated in this way are then packaged and transported into what will become blood platelets.

We found that ATXN2, one of the MEIS1 targets, is also present in megakaryocytic cells that become endomitotic. ATXN2 can bind the copies

made from DNA that leave the nucleus called mRNA. Another group has shown that by binding mRNA, ATXN2 stabilizes them to ensure they can be translated into protein well enough. In **chapter 3**, we show that when ATXN2 is deleted from megakaryocytic cells, these cells end up having less protein inside of them compared to cells that still contain ATXN2. This lack of protein also has consequences for platelets derived from ATXN2-deleted megakaryocytes. When we analyzed platelets from a mouse strain that has no ATXN2, they reacted less well to activation, a trigger that is the first step for wound closure. We could thereby show that it is important to make sure that protein synthesis is working properly during megakaryopoiesis, both in the human body and in cultured megakaryocytes for if protein synthesis is not optimal, it results in platelets of lesser quality.

The second MEIS1 target we studied is called TPM1. TPM1 is known to bind to actin, a protein of the cytoskeleton. Like human bodies, every cell has a cytoskeleton, structures that make sure the cell holds its shape. The cytoskeleton is flexible, though and can be build up and destroyed depending on the environment. Still, this flexibility needs to be regulated to keep cells from collapsing. Proteins that regulate flexibility can do so in many ways. In the case of TPM1, this happens by TPM1 winding around actin fibres and thereby protecting the fiber from being destroyed or deformed by the works of other proteins. Other groups have shown that endomitosis is due to incomplete division after the nucleus of a cell has doubled and that this incomplete division is due to less contraction between the two daughter cells. Contraction in a cell depends mostly on myosin and actin, which are also responsible for muscle contraction. And just like in a muscle, if contraction is not complete, a function cannot be fulfilled. For example, when trying to grab something and the muscles in our arm and hand do not contract fully, grabbing is not possible. While other groups have shown that myosin levels are lower in endomitotic cells which causes less contraction, they were not sure about if actin also is affected. In **chapter 4**, we show that less TPM1, and thereby less protection of actin, causes endomitosis in megakaryocytic cells. Our findings show that correct amounts and correct position of actin is evenly important for endomitosis as myosin.

Another feature of megakaryocytes is their shape change once the cell is fully differentiated. During this process, the megakaryocyte develops long protrusions with bead-like nodes, called proplatelets. These proplatelets are pushed forward through the cytoskeleton. Again, while some contributing proteins have been discovered already, like tubulin, more research is needed to understand the entire process of proplatelet formation. It is in the process of proplatelet formation that we found a second role for TPM1 as described in **chapter 4**. Cells with lower TPM1 levels spontaneously began to make proplatelets although their differentiation was not far enough yet. Because the cell was actually not advanced enough, these premature proplatelets were misshapen. Still, we were able to show that actin, and proteins controlling actin, are involved in proplatelet generation. Proplatelets will protrude a blood vessel and extend into the flowing blood inside the vessel which will rip them off from their mother cell. This way, proplatelet fragments enter the blood circulation where they will be divided into smaller pieces, the actual platelets.

Because it is currently not possible to make platelets for transfusion purposes, methods to improve the quality and safety of donor-derived platelets are developed and improved constantly. One of those methods is called pathogen reduction treatment (PRT). Platelet transfusion products are kept at room temperature which also could provide growth and survival of virus and bacteria. These contaminants can be transferred into transfusion products through donors that have been infected but are still asymptomatic and therefore can give blood. Testing for contaminations is a standard procedure, but results can only be obtained after a few days, sometimes even after the transfusion product has been given to a patient. While transfusion transmitted diseases are rare, blood banks are of course trying to completely exclude any risk of such infections. Pathogen reduction works by adding Vitamin B2 to the transfusion product and then irradiating with UV-light. This treatment destroys all viral or bacterial contaminations that could be present. However, it was not clear if the platelets themselves would be harmed by the treatment as well. Like explained before, platelets are normally inactive and resting but become activated when they encounter blood vessel damage. This activation is

important for the platelet to adhere to and close a wound. Research so far had shown that PRT does not harm resting platelets, but data on activation after PRT were missing. In **chapter 5**, we report that PRT does influence platelet activation. We show that the platelets are getting lightly activated by PRT already and begin “leaking” while being kept in the transfusion bag. The leaking causes the platelets to respond less to actual activation which means that in an actual bleeding situation, a patient that has been given PRT treated platelets would be at risk for bleeding more. We also show that the effect of PRT on platelet activation becomes more pronounced over storage time showing that platelets that are used shortly after PRT are responding well to activation.

In summary, this thesis provides new insight into the mechanisms that drive the differentiation of a HSC into a megakaryocyte. We also provide insight and possible tools to improve the generation of platelets *in vitro* to make transfusion products in the future.

Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden

Dit proefschrift onderzoekt de bijdrage van nieuwe factoren - eiwitten en een pathogeenreductie methode - op megakaryopoïese en de functionaliteit van bloedplaatjes.

Bloedplaatjes zijn cellen in het bloed die verantwoordelijk zijn voor wondsluiting en bloedstolling. Ze worden gemaakt door grote voorlopercellen in het beenmerg, genoemd megakaryocyten. Bloedplaatjes circuleren door het bloed in een inactieve toestand. Wanneer een bloedvat wordt beschadigd, worden bloedplaatjes geactiveerd door de schade en sluiten de wond af om de bloeding te stoppen. Om deze rol in wondsluiting en bloedstolling naar behoren te vervullen, is een bepaalde hoeveelheid bloedplaatjes nodig. In een gezond persoon is er een evenwicht tussen aanmaak en afbraak van bloedplaatjes maar bij bepaalde ziektes treedt er een daling op in het aantal bloedplaatjes, een toestand genaamd trombocytopenie. Trombocytopenie kan worden veroorzaakt door verschillende factoren, bijvoorbeeld na chemotherapie of als gevolg van een immuunreactie die bloedplaatjes vernietigt. In dat geval is een transfusie met bloedplaatjes noodzakelijk. Momenteel worden bloedplaatjes transfusie producten gemaakt van bloeddonaties van gezonde vrijwilligers. Hoewel deze aanpak betrouwbaar is en al tientallen jaren gebruikt wordt, is er ook enige ruimte voor verbetering.

Onderzoekers werken aan methodes om bloedplaatjes voor transfusie doeleinden aan te maken in een kweekstelsel buiten het lichaam (*in vitro*). Een dergelijk systeem heeft duidelijke voordelen. Bloedplaatjes kunnen bijvoorbeeld op verzoek of voor patiënten met specifieke behoeften gemaakt worden. Ook kunnen ongewenste immuunreacties tegen bloedplaatjes, een proces genaamd immunisatie, voorkomen worden door het produceren van bloedplaatjes waarbij deze immunogenen ontbreken. Tenslotte, als bloedbanken bloedplaatjes in een gesloten systeem zouden kunnen maken, wordt daardoor de kans op besmetting van een ontvanger door een besmet transfusieproduct geëlimineerd.

Echter, de huidige kweekmethodes leveren nog niet voldoende aantallen megakaryocyten en bloedplaatjes op. Onderzoekers kunnen megakaryocyten vanuit bloed (hematopoietische) stamcellen kweken en vervolgens de cellen in kleine hoeveelheden bestuderen, maar deze kweekmethodes kunnen niet makkelijk worden opgeschaald om transfusie producten te maken. Om *in vitro* bloedplaatjestransfusie producten efficiënt en kostendekkend door bloedbanken te laten maken, moeten we kweeksystemen ontwikkelen voor de productie van grote hoeveelheden van megakaryocyten. Hierbij zouden megakaryocyten, de voorlopers van bloedplaatjes, uit een kleine hoeveelheid uitgangsmateriaal gekweekt kunnen worden, gevolgd door de productie van grote hoeveelheden functionele bloedplaatjes.

In het menselijk lichaam zijn hematopoietische stamcellen (HSC) de bron van alle bloedcellen, waaronder ook megakaryocyten. HSCs zijn onrijpe voorloper cellen die zichzelf kunnen vernieuwen of zich kunnen ontwikkelen tot bloedcellen afhankelijk van specifieke prikkels. Deze prikkels komen vanuit andere cellen in het beenmerg zoals mesenchymale stromale cellen of botcellen. Afhankelijk van de signalen van de omringende cellen ontwikkelt de HSC geleidelijk meer eigenschappen van een bepaalde bloedcel en verliest zijn stamcel potentieel. Dit proces heet differentiatie.

De signalen uit de omgeving leiden tot veranderingen in de HSC, die weer leiden tot veranderingen in de kern van de HSC. In de kern van een cel is het genetisch materiaal, het DNA, opgeslagen. Hoewel elke cel van ons lichaam hetzelfde DNA bevat, wordt niet alle DNA in elke cel gebruikt. Integendeel, alleen specifieke stukken van het DNA zijn actief in een specifieke cel. Afhankelijk van het actieve DNA ontwikkelt een cel zijn identiteit, bijvoorbeeld als een levercel, een longcel of megakaryocyt. Speciale eiwitten genaamd transcriptiefactoren (TF) controleren welke stukken DNA in een cel actief zijn. Door signalen van buitenaf worden specifieke TF in de kern gelaten en binden aan het DNA. Vanwege hun cruciale rol in het bepalen van het lot van de cel werd in de afgelopen jaren veel onderzoek gedaan naar TF. Belangrijke bevindingen zijn inmiddels gepubliceerd, zoals de ontdekking dat TF in groepen aan een stuk DNA binden en niet alleen. Ook worden enkele TF

hergebruikt tijdens de differentiatie van HSC in een bloedcel. In combinatie met andere TF worden nieuwe groepen aangemaakt die vervolgens nieuwe delen van DNA binden. Hoewel de rol van veel TFs al onderzocht is, is de functie van anderen nog niet volledig duidelijk.

MEIS1 een transcriptiefactor met een nog onduidelijke rol in de productie van bloedcellen. Terwijl andere onderzoeksgroepen aangetoond hebben dat MEIS1 een rol speelt in de HSC, konden wij laten zien dat MEIS1 ook in latere cellen belangrijk is. Wanneer HSC differentiëren, worden verschillende stadia van ontwikkeling doorlopen. Elk stadium brengt hen dicht bij een bloedcel en verwijderd ze verder van een stamcel. Cellen in intermediaire stadia van differentiatie worden voorlopercellen genoemd, en ook hier speelt MEIS1 een belangrijke rol. In **hoofdstuk 2** zien wij dat als MEIS1 aanwezig is in een voorlopercel deze cel bestemd is om een rode bloedcel of megakaryocyt te worden. MEIS1 bereikt dit door binding aan specifieke stukken van DNA in de voorlopercel die genen genoemd worden. Door binding van MEIS1 wordt een gen geactiveerd of geremd wat uiteindelijk resulteert in de inductie of inhibitie van eiwitsynthese. Op deze manier bevordert MEIS1 de ontwikkeling van rode bloedcellen en megakaryocyten terwijl tegelijkertijd de aanmaak van witte bloedcellen onmogelijk wordt.

Uit eerdere experimenten die wij en andere groepen uitgevoerd hebben werd duidelijk dat MEIS1 niet alleen aanwezig is in stamcellen en voorlopercel, maar ook in megakaryocyten zelf. Deze studies laten ook zien dat MEIS1 alleen aanwezig is in megakaryocyten, en niet in andere type bloedcellen. Omdat MEIS1 een is transcriptiefactor die genen reguleert en dus de manier waarop een cel differentieert, wilden wij meer weten over de genen die door MEIS1 gebonden worden in megakaryocyten en wat de functie van deze genen is. Wanneer een gen wordt gebonden door een transcriptiefactor, wordt het gen gelezen en een kopie gemaakt van de informatie. Dit proces wordt transcriptie genoemd en zodra het gen volledig gelezen is wordt de kopie, genaamd mRNA, uit de kern en in het cytoplasma van de cel getransporteerd. Terwijl de kern het DNA houdt en beschermt, bevat het cytoplasma gespecialiseerde gebieden die allemaal samenwerken om de

cellen levende te houden en reacties te geven op signalen van buitenaf. Verschillende processen zijn actief in de cel voor deze doeleinden en ze worden allemaal uitgevoerd door eiwitten. Omdat een cel continu signalen ontvangt van de omgeving zijn eiwitten belangrijk om op deze informatie te reageren en moeten voortdurend worden geactualiseerd. De kopie van een gen in de kern is precies hiervoor bedoeld. De kopie bevat de informatie om een nieuw eiwit te maken. Wanneer de kopie in het cytoplasma terecht komt, wordt deze weer door gespecialiseerde machines gelezen en vertaalt naar een specifiek eiwit. Door te focussen op de genen die MEIS1 in megakaryocyten bindt kunnen we te weten komen welke eiwitten zijn gecodeerd in de genen. Omdat MEIS1 specifiek voor megakaryocyten is zouden MEIS1 target genen een rol kunnen spelen bij de differentiatie van megakaryocyten. Door het analyseren van de eiwitfunctie zouden we het proces van megakaryopoïese beter kunnen begrijpen. Om MEIS1 target genen te identificeren gebruiken we een methode waarbij MEIS1 in een megakaryocytaire cellijn uitgeschakeld wordt. Vervolgens worden de cellen met lagere MEIS1 expressie geanalyseerd om te onderzoeken welke andere genen nu minder of meer aanwezig zijn. Genen die reageren op veranderingen in MEIS1 expressie zijn interessante targets en we er twee gekozen die tot nu toe een onbekende rol spelen in megakaryocyten. Onze studies tonen aan dat zowel ATXN2 en TPM1 bijdragen aan cruciale gebeurtenissen tijdens megakaryopoïese.

Vergeleken met de differentiatie van andere cellen, bevat de megakaryopoïese unieke kenmerken. Het eerste kenmerk van megakaryopoïese is endomitose. De meeste cellen delen op een manier waarbij uit een cel twee dochtercellen met gelijke afmetingen en even veel DNA gemaakt wordt. Op een bepaald moment in de differentiatie van onrijpe megakaryocyten delen deze echter niet volledig om twee dochtercellen aan te maken maar stoppen met de deling nadat hun DNA verdubbeld is. Door deze onvolledige deling ontstaat een cel met twee kernen. Dit proces wordt endomitose genoemd. Onrijpe megakaryocyten herhalen dit proces zodat de cellen zowel in omvang als in nucleair materiaal toenemen totdat de megakaryocyten volledig uitgerijpt zijn. Deze toename in kernmateriaal,

gepaard met een toename in celgrootte, geeft de cel ook zijn naam, MEGA-karyocyt. Tot nu toe is nog niet helemaal duidelijk waarom megakaryocyten endomitotisch zijn en welke factoren verantwoordelijk zijn voor dit proces. Het wordt aangenomen dat de toename in kernen leidt tot meer kopieën van genen (een proces genaamd transcriptie) die vervolgens worden vertaald naar meer eiwit (translatie). De eiwitten, die op deze manier aangemaakt worden, kunnen vervolgens verpakt en vervoerd worden in de voorlopers van de bloedplaatjes die zich uit een megakaryocyt ontwikkelen.

Ons onderzoek laat zien dat ATXN2, een van de MEIS1 targets, ook aanwezig is in endomitotische megakaryocytische cellen. ATXN2 is een eiwit dat de kopieën van DNA kan binden die de kern verlaten (genoemd mRNA). Een andere groep heeft aangetoond dat door deze binding van ATXN2 aan mRNA een stabilisatie plaats vindt die ervoor zorgt dat mRNAs kunnen worden vertaald in eiwit. In **hoofdstuk 3** laten we zien dat wanneer wij ATXN2 kunstmatig verminderen in megakaryocytische cellen, deze cellen uiteindelijk minder eiwitten bevatten vergeleken met controle cellen. Dit gebrek aan eiwit heeft ook gevolgen voor bloedplaatjes die gemaakt worden van megakaryocyten met minder ATXN2. Toen wij bloedplaatjes analyseerden van muizen die geen ATXN2 hebben vonden wij minder klontering (aggregatie) op specifieke signalen. Bloedplaatjes aggregatie is een belangrijke stap in het proces van wondsluiting en bloedstolling. We laten zien dat ATXN2 de eiwitsynthese in immature megakaryocyten steunt, zowel in het menselijk lichaam en in gekweekte megakaryocyten.

TPM1 is het tweede MEIS1target dat we in dit project bestudeerden. TPM1 bindt actine, een eiwit van het cytoskelet. Elke cel heeft een cytoskelet, net als het menselijk lichaam. Het cytoskelet zorgt ervoor dat de cel zijn vorm behoudt, is flexibel, en kan dus worden opgebouwd en vernietigd afhankelijk van de omgeving. Deze flexibiliteit wordt gereguleerd door specifieke eiwitten zoals TPM1. TPM1 windt zich langs de actine vezels en beschermt op deze manier de vezels voor afbraak of vervorming door andere eiwitten. Andere groepen hebben aangetoond dat endomitose door onvolledige splitsing na de verdubbeling van de kern verdubbeld ontstaat en dat deze onvolledige splitsing door minder krimp tussen de twee dochtercellen veroorzaakt wordt.

Krimp in een cel wordt uitgeoefend door myosine en actine, die ook verantwoordelijk zijn voor het samentrekken van de spieren. En net als in een spier leidt onvoldoende samentrekking tot een onvoldoende functie. Als wij bijvoorbeeld proberen om iets te grijpen en de spieren in onze arm en hand kunnen niet volledig samentrekken, dan is grijpen niet mogelijk. Terwijl andere groepen hebben aangetoond dat myosine verminderd is in endomitotische cellen wat minder krimp veroorzaakt, waren ze er niet zeker van of actine deze processen ook beïnvloedt. In **hoofdstuk 4** laten we zien dat minder TPM1, en daardoor minder bescherming van actine, endomitose veroorzaakt in megakaryocytische cellen. Onze bevindingen tonen aan dat de juiste hoeveelheden en de juiste positie van actine even belangrijk zijn voor endomitose als myosine.

Een ander kenmerk van megakaryocyten is het veranderen van de celvorm zodra de cel volledig is gedifferentieerd. Op dit moment ontwikkelt een megakaryocyt lange uitsteeksels met bolletjes (beads on a string model), genaamd proplaatjes. Deze proplaatjes worden aangemaakt door het cytoskelet. Ook hier is de bijdrage van sommige eiwitten zoals tubuline al goed bestudeerd, maar is ook meer onderzoek nodig om het gehele proces van proplaatjes formatie te begrijpen. In het proces van proplaatjes formatie vonden wij dan ook een tweede rol voor TPM1 zoals beschreven in **hoofdstuk 4**. Cellen met lagere TPM1 expressie beginnen proplaatjes te maken nog voordat ze helemaal gedifferentieerd zijn. Omdat de cel niet genoeg gevorderd is, zijn deze voortijdige proplaatjes dan ook misvormt. Een rijpe megakaryocyt steekt zijn proplaatjes uiteindelijk in een bloedvat dus in het stromende bloed waardoor de proplaatjes van de megakaryocyt afgesnoerd worden. Op deze manier belanden proplaatjes fragmenten in de bloedsomloop waar ze delen in kleinere stukjes, de eigenlijke bloedplaatjes.

Omdat het momenteel niet mogelijk is om bloedplaatjes voor transfusie doeleinden te maken, worden nieuwe methodes ontwikkeld om de kwaliteit en veiligheid van donor-bloedplaatjes te verbeteren. Een van die methodes wordt pathogeenreductie behandeling (PRT) genoemd. Bloedplaatjes transfusieproducten worden bewaard bij kamertemperatuur, waardoor ook de

groei en het overleven van virussen en bacteriën gefaciliteerd wordt. Deze verontreinigingen in de transfusieproducten kunnen ontstaan door middel van donoren die besmet, maar nog geen symptomen tonen en daarom bloed kunnen geven. Het testen op verontreinigingen is een standaard procedure, maar de resultaten zijn er pas na een paar dagen, soms zelfs nadat het transfusie product is gegeven aan een patiënt. Terwijl transfusie overdraagbare besmettingen zeldzaam zijn, willen bloedbanken het risico van dergelijke infecties volledig kunnen uitsluiten. Pathogeenreductie werkt door het toevoegen van vitamine B2 aan het transfusie product en vervolgens een bestraling met UV-licht. Deze behandeling vernietigt alle virale of bacteriële verontreinigingen die aanwezig kunnen zijn. Het is tot nu toe echter niet duidelijk of de plaatjes zelf door de behandeling ook worden beschadigd. Bloedplaatjes zijn normaal gesproken niet actief maar stromen door ons bloed in een rustende vorm. Alleen als ze een beschadigd bloedvat tegenkomen worden ze geactiveerd. Deze activering is belangrijk voor de bloedplaatjes om aan het bloedvat te gaan hechten en de wond te sluiten. Onderzoek tot dusver heeft aangetoond dat PRT de rustende bloedplaatjes in de transfusieproducten amper aantast, maar data over de invloed op PRT op bloedplaatjesactivering ontbreekt. In **hoofdstuk 5**, laten we zien dat PRT invloed heeft op bloedplaatjesactivering. We laten zien dat de bloedplaatjes door PRT lichtjes geactiveerd worden en beginnen te "lekkeren", terwijl ze in de transfusie zak worden bewaard. Het lekken zorgt ervoor dat de bloedplaatjes vervolgens minder reageren op echte activering. Dit betekent dat bij een bloeding een patiënt die PRT behandelde bloedplaatjes heeft ontvangen risico loopt op meer bloedverlies. We tonen ook aan dat het effect van PRT op bloedplaatjesactivatie toeneemt hoe langer de bloedplaatjes bewaard worden. Bloedplaatjes die gebruikt worden kort na PRT reageren goed op activatie.

Samengevat geeft dit proefschrift nieuwe inzichten in de mechanismen die de differentiatie van een stamcel naar een megakaryocyt beïnvloeden. We geven ook inzicht en mogelijke opties ter verbetering van de productie van bloedplaatjes voor toekomstige *in vitro* transfusie producten.

List of publications

- **The transcription factor MEIS1 regulates early erythroid and megakaryocytic cell fate**

Haematologica October 2014;99:1555-1564;

Graphical abstract selected for cover illustration

- **Pathogen reduction treatment using riboflavin and ultraviolet light impairs platelet reactivity towards specific agonists in vitro**

Transfusion. 2014 Sep;54(9):2292-300

Curriculum vitae

Sabrina Zeddies was born on January 22nd in Hamelin, Germany. After graduating from Albert Einstein Gymnasium with the admission certificate for University in 1999, she enrolled at the Medizinische Hochschule Hannover (MHH) for a three-year long training as a laboratory technician. In 2002, she graduated as a certified lab technician and began work at DeveloGen AG, a biotechnology company. Here, she conducted *in vitro* and *in vivo* studies and compound screening for drug discovery research.

Due to a growing interest in science and the urge to further her research career, she enrolled at Georg-August University in Goettingen in 2004. She followed undergraduate training in general biology and specialized in developmental biology, microbiology and pathology during her master studies. In 2009, she graduated from university with a diploma (equal's master's degree) and diploma thesis graded with a 1 (equals Dutch 10, American A). She performed her diploma thesis at the Max-Planck Institute for biophysical chemistry in the group of Prof. Dr. Michael Kessel where she characterized aberrant astrocyte and oligodendrocyte composition in the neocortex of *Geminin*-deficient mice.

Eager for a new challenge, she moved to the Netherlands in 2009 and started her PhD at Sanquin Blood Supply. She performed her research under supervision of Dr. Daphne C. Thijssen-Timmer and Prof. Dr. C. Ellen van der Schoot in the department of Experimental Immunohematology. After one year, she joined the newly formed department of Hematopoiesis led by Dr. Marieke von Lindern. Her research topic involved the characterization of targets of the transcription factor MEIS1. These proteins have a currently unknown role in megakaryopoiesis. Based on other data obtained during her research, she also conducted a project together with Sanquin's Blood Bank service in which a novel pathogen reduction treatment was analyzed for its impact on the reactivity of platelets for transfusion purposes. The results of the research performed during her PhD are described in this thesis.

Dankwoord / Acknowledgments / Dankwort / Tankwurd

There is no "I" in "we". I have used this phrase in the lab a lot while goofing around, but in fact it is very true. The past 4+ years have had an enormous impact on my personal and professional growth. There may have been days when all went wrong, weeks when nothing would work out, but I can honestly say that I enjoyed coming to work every day. I obviously enjoyed it so much that occasionally I would also stay the night. So I would like to take the time and thank all of you who have made coming to work so enjoyable and contributed to this thesis. I could not have done it without you!

Daphne, mijn Co-promoter, project leader cellular therapies en nu baas van de nieuwe businessunit. Ik ben erg onder de indruk van hoe je het allemaal regelt en heb veel van je kunnen leren op het gebied van netwerken, time management en organisatie. Oh ja, en over mega's natuurlijk. Je hebt me vanaf het begin veel vrijheid en ruimte gegeven om zelf proeven en projecten te bedenken. Daar ben ik je heel erg dankbaar voor. Bovendien mocht ik al vroeg deelnemen aan congressen in het binnen- en buitenland. De Gordon Conferences ga ik zeker nooit meer vergeten, de Outlet-Mall en de Walmart in Galveston trouwens ook niet. Het klikte gewoon tussen ons, al tijdens mijn sollicitatiegesprek. Vier jaar later hebben we van je projectvoorstel een mooi proefschrift en vier research papers kunnen maken. Heel erg bedankt voor alles!

Ellen, ik wil jou ook heel erg bedanken. Vier jaar geleden ben ik in jouw afdeling "Experimentele Immunohematologie" als PhD student begonnen. Ook al wisselde ik relatief snel naar de nieuwe afdeling "Hematopoïese", je bent als mijn promotor toch altijd betrokken gebleven bij mijn research. Je vragen tijdens de vrijdagochtendwerkbijeenkomsten lieten me meer dan een keer zweten. En terecht. Je scherpe kijk op alle hoofdstukken in het proefschrift en de experimenten die we hiervoor gedaan hebben, heeft me

onnodige proeven bespaard en liet me focussen op de noodzakelijke en belangrijke punten. Dank!

Ook wil ik graag **Prof. Dr. J.J. Zwaginga, Prof. Dr. W.H. Ouwehand, Prof. Dr. K. Freson en Prof. Dr. M.H.J van Oers** bedanken voor het zitting nemen in mijn promotiecommissie.

Mein Dank geht auch an Herrn **Prof. Dr. Auburger**. Vielen Dank, dass Sie sich dazu bereiterklärt haben, Ihre Sca2-Mäuse mit uns zu teilen. Mit Ihrer Hilfe konnten wir unsere Daten in einen größeren Kontext einordnen und der zugehörigen Publikation mehr Impact verleihen. Danke, dass Sie als Opponent an meiner Prüfungskommission teilnehmen.

Peter, dank voor je input voor ons TPM1 stuk. Je enorme kennis van het cytoskelett en actine liet ons met andere ogen naar onze data kijken. Ik heb veel van je kunnen leren en je hebt me op artikelen en methodes gewezen die in ons veld minder bekend zijn.

Marieke, je bent een paar maanden na mij bij Sanquin begonnen als hoofd van de nieuwe afdeling "Hematopoïese", waarin ik terecht kwam. Je kritische kijk op en het continu ter discussie stellen van proeven en conclusies hebben de vier artikelen in het proefschrift naar een nieuw level gebracht. We waren het niet altijd eens met elkaar, en dat was goed zo. Door onze "sparring sessions" heb ik geleerd nieuwe proeven te bedenken en voor mijn ideeën op te komen. Je had het zeker niet altijd makkelijk met mijn soms overenthousiaste manier van doen, maar ja, iemand moet de mega's wel bekend en beroemd maken in een groep met allemaal rode bloedcel vrienden. Aber warum schreibe ich diesen Text denn auf holländisch, wenn du so gut deutsch sprichst? Vielen Dank für all deine Hilfe und Zeit, Marieke. Ich habe viel von dir gelernt.

Franca, moppie, virus-goddess en paranymphe. Van jou heb ik megakaryocyten leren kweken, facsen en aankleuren. En wat hebben we nog allemaal beleefd in de laatste jaren. Virus oogsten om half zeven op een

vrijdagochtend met “Monster Magnet” op de radio, nog meer virus maken en oh ja, soms hebben we ook wat virus gemaakt ;) Dan nog transducties inzetten, titraties, Western Blots, RNA isolaties, polysome profiling, actine scheidingen,... Phew! Zonder je hulp was het proefschrift niet afgekomen. “Bedankt” is niet genoeg. Voel je bij deze dik geknuffeld. Ons project is nu helaas over en ik wens je heel veel succes en plezier toe met de volgende uitdagingen. Je bent een kweekexpert en heel nauwkeurig op het lab, ik weet dat het je gaat lukken. Tenminste, als er maar goede muziek is ;)

Antje, mein Vorbild und Paranymphe ;) Na, dann hat dein Chef ja sein Ziel erreicht als er dich vor vier Jahren bei mir „gedumpt“ hat. Nicht allein hab ich eine gute Freundin gewonnen, ich hab auch noch meinen Mentor gefunden. Jep, Mentor. Und auf einmal hilfst du uns auch noch beim letzten Chapter. Ich hab doch gesagt, dass ich dich noch zu den Megakaryocyten kriege ;) Danke für's zuhören, beruhigen, trösten und aufpäppeln wenn's mal nicht lief im Lab oder sonstwo. Danke für kritische Fragen und gute Ideen. Danke, dass ich auf deiner Couch pennen und bis halb vier Uhr morgens mit dir quatschen konnte. Oh stimmt nicht, halb fünf war's!

“The other megakaryocyte and platelet group”: Laura, Marjolein and Iris.

Laura, not only did you keep a close eye on my progress as a member of my PhD committee, we also published two papers together. I learned a lot from you about platelets, mouse megakaryocytes and thoroughly scanning our paper drafts for all those hidden little errors. Muchas gracias por todo tu esfuerzo. To Mirasol and ATXN2!

Another big thank you, although “thank you” will not quite cut it, goes to my all-nighter companion **Marjolein** aka “M”. Thank you so much for helping me with the analysis and staying up all night for ATXN2. I had fun hanging out with you up there in Y4.

Iris, thanks for your input in Mirasol, teaching me about platelet activation and the chitchat in the metro every once in a while.

Melanie Halbach, Ewa Damrath und Suzana Gispert: Vielen Dank für eure Hilfe mit den Mäusen. Unsere Fließbandarbeit war schon ne interessante

Erfahrung. Wir können jetzt definitiv sagen, dass die Tiere effizient genutzt wurden.

Pieter, hartelijk dank voor je hulp met Mirasol. Dankzij jou heb ik veel kunnen leren over transfusieproducten en “out of the box” kunnen kijken naar de ontwikkeling van transfusieproducten. Leuk! Voor mij als basic researcher een waardevolle ervaring.

Dirk Geerts. Graag wil ik je bedanken voor alle short hairpin vectoren en je bijdrage aan MEIS1. Dank ook voor de champagne!

Ook wil ik het tweede lid van mijn PhD committee bedanken. **Sander**, dank voor je kritische kijk op mijn vooruitgang en mijn tijdslijn. Je enthousiasme over megas en plaatjes is besmettelijk en ik vond het heel leuk om met je te brainstormen.

Dank ook aan jou, **Annemarie**. Je hebt me laten zien hoe Mass-Spec monsters opgewerkt worden, heel erg spannend. Veel succes met je proefschrift en de mega-kweken.

Carlijn Kuijk, bedankt dat je de CD34 organisatie van me wilde overnemen. Ook heb ik het idee dat het inmiddels iets drukker is dan toen ;)

Nu we het over CD34 materiaal hebben, gaat mijn dank natuurlijk ook uit aan het laboratorium voor celtherapie. **Ada, Anahid, Aster, Erica, Leone, Margreeth, Tamara, Marijke, Jolanda en John**. Jullie hoorden bij mijn wekelijkse ritme: Gezellig even op visite komen en op het witte bord spieken. Is er materiaal deze week? Is de donor niet te oud? Of te jong? Is het percentage CD34 hoog genoeg? Dank voor jullie hulp.

Marten Hansen, daar sta je dan... als laatste vertegenwoordiger van de coolste cel in ons lichaam binnen de afdeling HEP. Fijn dat we je tijdens je sollicitatiegesprek enthousiast konden maken voor deze cellen die alles doen wat normale cellen niet doen (endomitose!). Uiteindelijk kon ik van jou ook nog een beetje leren over iPS en hoe men van IPS megas maakt. Niet makkelijk, namelijk ;) Thanks!

Thanks to our “Ex-neighbours” at P111: **Lussy, Aicha, Aniska (yo nymph!), Onno, Jalenka, Gilian and Tamara**. I could hear you laughing through 2 walls and more than once. Is there anything else I need to say about the good spirits coming from your room?????

Special thanks also to my platelet-partner in crime, Mister **Rick(y)** Kapur. Btw, you still owe me a Margarita. Thanks for the good times in the lab and during ASH. You are right, ASH rocks. But Gordon still rocks more ;) As do platelets, of course. They rock big time! Thanks as well for expanding my whiskey repertoire. And not to forget, thanks for introducing me to the NY Sour. All the best for Toronto, be sure I will come visit!

Fräulein Helga! We may have met at work, but managed to never actually talk much about it. And why would we when there is so much more to discuss? Shopping, speakeasies, cocktails, shoes, vintage, music, parties... Iceland! And now that you have moved back there, I finally have a chance to explore all this in Iceland, too. Not that I can afford any of it... Oh well, then we will probably just swing by to admire the little wonder you recently produced. I saw it got great reviews online ;) And how could I not mention you, **Daði**. Especially since you can mix some wicked drinks. Thanks for the continuous supply of espresso martini's and G&T's! Looking forward to seeing you in your natural habitat: cruising Iceland in a truck.

Dank ook aan onze secretaresses **Anita en Mo**. Vluchten, treintickets, cursussen, congressen, Hulshoff dozen aanvragen? Jullie regelen het allemaal en zorgden daarvoor, dat ik altijd alles op tijd voor elkaar had. Bovendien was het ook nog gezellig om eens bij jullie langs te komen. Anita, mijn Pinterest verslaving heb ik aan jou te danken ;)

Thanks to the “Ex-P112 crew”: **Remco, Marion, Irma, Elina, Maja, Felipe, Kim, Sofieke, Edith, Kat and Klaske**. Our office is gone now, but I will always remember the good atmosphere we had there. We shared laughs, frustrations and the occasional strong liquor to rinse it all down. Happy days!

Thanks to all my colleagues now AGW-ing at U2: **Fiamma, Natasja, Pleun, Anne, Aurelie, Ben, Emile, Martijn, Barbera, Gestur, Monika, Derk, Carlijn Voermans, Esther, Magda, Fernanda, Giso, Jesse, Sander, John, Florentine, Esther and Nahuel**. Thanks for discussions and questions during my presentations and in the lab. Thanks for making me look at my data from a different angle and providing fresh ideas, thanks for helping me out with reagents and a kind word when needed. And most of all, thanks for having coffee with me and / or a chat each time I would come to the big, big city from faraway Friesland.

Some of you may have laughed about the fact that I seemed to always have a student working with me. But in the end, they all contributed to the publications in this book. So of course I would like to thank **Raymond, Svitlana, Maikel, Juliette, Daan and Nizar**. Your work provided first data on phenotypes and helped us figure out which way a project would go. You all worked incredibly hard and motivated. All the best for all of you!

Sjoert. Je was een gezellige ML-II buddy. Dank voor je bijdrage aan het MEIS1 artikel. Je data van de MEIS1 knockdown fenotype speelt een belangrijke rol in dit hoofdstuk. Heel veel succes toegewenst met het afronden van je eigen proefschrift. Het gaat je zeker lukken.

In de afgelopen vier jaar heb ik miljoenen cellen met virus groen of rood gekleurd. Of met antistoffen gemarkeerd. En dan? Leuk en aardig, al die kleurtjes maar daar heb je niks aan als er niemand is die de kleurtjes van elkaar scheiden kan. Dank dus aan **Erik, Tomasz en Mark** van de central facility. Wie had gedacht dat cellen sorten en facsen zo gezellig kan zijn?

En dan? De cellen zijn gesorteerd, groeien hard en opeens sta je daar met een paar miljoen meer dan een week geleden. What to do? Invriezen! Bewaren voor later! Dat ik mijn bevroren goodies op kon vragen, heb ik aan de **cryobiologie** te danken. Ein extra-Dankeschön für "Gezelligheid" an die verrückten Holländer **Vincent en Werner!**

Mein Ex-el Chefe: Uwe (Mister Uwe-Puwe) Andag. Ohne Dich wäre es nie so weit mit mir gekommen. Und das ist eine gute Sache. Danke!

Fjouwer jier lyn ha ik ek noch in nije famylje derby krigen. Tank oan **de famylje de Vries / Slager / Bergsma / Tabak!** Jimme boartsje in wichtige rol yn myn libben. Net allinne myn Nederlânsk is tanksij jimme better wurden, ek learde ik fuortendaliks in nije taal derby. De moaiste tal dy't der is neffens Kor: Frysk! Mar noch soad wichtiger is dat ik my troch jimme hjir thús fiel yn dit kikkerlandje. Tank jimme wol!

Und dann möchte ich mich natürlich bei meinen Eltern, **Rosemarie und Horst Zeddies** bedanken. Danke, dass ihr mich von klein auf immer ermutigt habt meine Grenzen zu erforschen. Mich nicht mit dem ersten besten zufrieden zu geben sondern Neues zu erleben, mutig zu sein. Ohne euch wäre ich nie so weit gekommen. Ihr seid immer für mich da und dafür kann ich gar nicht genug danke sagen. Dieses Buch ist auch euer Verdienst!

Danke auch meinem Bruder **Martin**. Kleiner Bruder? Schon lange nicht mehr. Du weißt alles über Filme und gute Musik und High-End Cocktail Bars. Genau dir richtigen Themen, wenn ich mal echt nix mehr hören wollte von Wissenschaft.

Myn leave skat, **Kor**. Tank foar alles. Al fjouwer jier stipe do my, hâld do rekkening mei wittenskip en hasto it op do nommen om tusken Grins / Fryslân en Haarlem hinne en wer te ride. Dit haadstik yn us libben is no om, ik sjoch út nei it folgjende haadstik tegearre mei dyn. Dikke tut!

PhD Portfolio Sabrina Zeddies

PhD period: **November 2009 – May 2014**

Promotor: **Prof. Dr. Ellen van der Schoot**

Co-Promotor: **Dr. Daphne Thijssen-Timmer**

Attended Courses

	Year	ECTS
- Advanced Immunology	2010	2.9
- The AMC World of Science	2011	0.7
- Browsing Genomes with ENSEMBL	2012	0.3
- Reference Manager	2012	0.3
- Scientific writing in English	2013	1.5

Seminars, Workshops, Masterclasses

	Year	ECTS
- Department meetings	2009-2014	4.5
- Journal Club	2009-2014	3.0
- Staff meeting	2009-2014	3.0
- Master classes (6x)	2009-2014	3.0

Poster Presentations

	Year	ECTS
- Gordon Conference on the cell biology of megakaryocytes and platelets, Galveston, Texas, USA	2010	1.5
“The role of the transcription factor MEIS1 in megakaryopoiesis”		
- ISEH, Society for Hematology and Stem Cells annual meeting, Amsterdam, The Netherlands	2012	1.5
„The transcription factor MEIS1 regulates megakaryocyte-erythrocyte fate by inducing FOG1 expression”		
- ASH, American Society of Hematology annual meeting, Atlanta, Georgia, USA	2012	1.5
“MEIS1 induces a megakaryocyte-erythroid fate by upregulation of FOG1 and GATA1 expression”		

Oral Presentations, national and international

	Year	ECTS
<p>- ISBT, International Society for Blood transfusion, Amsterdam, The Netherlands</p> <p>“Degranulation and spreading defects in stored platelets after Mirasol pathogen-reduction treatment”</p>	2013	1.5
<p>- Gordon Conference on the cell biology of megakaryocytes and platelets, Galveston, Texas, USA</p> <p>“The RNA-binding protein ATAXIN-2 regulates megakaryocytic differentiation”</p>	2013	1.5
<p>- DSSCR, Dutch Stem Cell Meeting, Amsterdam, The Netherlands</p> <p>“The transcription factor MEIS1 regulates early erythroid and megakaryocytic cell fate by upregulation of GATA1”</p>	2013	1.5
<p>- EHA, European Hematology Association Congress, Amsterdam, The Netherlands</p> <p>“The transcription factor MEIS1 regulates commitment towards the megakaryocyte-erythrocyte lineage by regulating GATA1 expression”</p>	2012	1.5
<p>- NVvH, Dutch Hematology Association annual congress, Papendal / Arnhem, The Netherlands</p> <p>“The transcription factor MEIS1 is required for human erythroid development”</p>	2011	1.0
<p>“The transcription factor MEIS1 regulates early erythroid and megakaryocytic cell fate”</p>	2012	1.0
<p>“The RNA-binding protein ATAXIN-2 regulates megakaryocytic differentiation”</p>	2013	1.0

Teaching / Supervising		
	Year	ECTS

- Lecturing	-	-
- Supervising Master Students		
o Raymond Baalhuis, 6 months "The role of MEIS1 in platelets"	2011	2.0
o Svitlana Podliesna, 6 months "ATXN-2 is involved in translational regulation in megakaryocytes and platelets"	2012	2.0
o Maikel Fennis, 3 months "The role of TPM1 in megakaryopoiesis"	2012	1.5
o Nizar Hami, 6 months "The role of TPM1 in megakaryopoiesis"	2013	2.0
- Supervising Bachelor students		
o Juliette Postma, Daan Panneman, 4 weeks "The effect of TPM1 on megakaryocytic polyploidization"	2012	1.5

Total
41.7

Additional tasks	
	Year

Coordinator for cord blood and mobilized peripheral blood derived stem and progenitor cells, Sanquin Research, Department of Hematopoiesis, Amsterdam, The Netherlands Duties: organizing supply and isolation of CD34+ cells derived from cord blood and mobilized peripheral blood for research purposes	2011 - 2013
DJOB committee member (De jonge onderzoekers borrel), Sanquin Research, Amsterdam, The Netherlands Duties: Organizing talks on career-related topics for PhD students & Post-Docs, representative for Sanquin PhD students on career events, organization of Sanquin Science Day meeting	2012 - 2013