

Een reis naar het binnenste van de cel, langs membranen, microtubuli en actinebundels. Dat is *The Inner Life of the Cell*. Het animatiebedrijfje XVIVO maakte de film in opdracht van Harvard University. Bekijk het op: <http://nrch.nl/4qm> BEELDEN HARVARD UNIVERSITY

# Soep, maar dan netjes

## BIOLOGIE

Onze cellen zijn niet gevuld met chaotische soep. Keurig bewegen eiwitten zich langs buisjes, door poorten en over membranen. De eerste filmpjes zijn al gemaakt.

Marianne Heselmans

**K**lik, klik, klik. Elektronenmicroscopist Bram Koster van het Leids Universitair Medisch Centrum kan even niet goed kiezen wat hij van de cel zal laten zien. De plaatjes en filmpjes op zijn laptop vindt hij allemaal even bijzonder. Hij kiest voor een driedimensionaal plaatje met microtubuli, de eiwitbuisjes die de cel hun stevigheid geven. Het plaatje is gebaseerd op duizenden foto's van een minuscuul celplakje, die filmpjes opleveren van razendsnel bewegende grijze bolletjes en rondjes. "We dachten altijd dat microtubuli stabiel en dicht waren. Maar we zien nu dat ze ook open kunnen zijn, misschien om een andere kant op te groeien."

We zijn in het eindoktobergeopende Nederlands Centrum voor Elektronen Nanoscopie (NecEN) in Leiden. Dat is een ruimte in de Universiteit Leiden waar deze zomer twee metershoge, geavanceerde elektronenmicroscopen arriveerden. Ze kunnen driedimensionale plaatjes maken van diepgevroren celschijfjes tot op twee nanometer scherpte, ofwel twee milliardste meter, de afmeting van een eiwit. We bezoeken ook het naastgelegen Cel Observatorium, waar 200 medewerkers opnames maken van eiwitten en DNA in levende cellen, met samen 16 geavanceerde lichtmicroscopen. De nieuwste is geheel vanuit de computer te bedienen en gebruikt laserstraling in plaats van gewoon licht, waardoor de beweging van moleculen in levende cellen nog scherper is te volgen. Behalve in Leiden ontwikkelen nu tientallen laboratoria in de wereld steeds betere beeldtechnieken en software hiervoor.

De eerste beelden die nu wereldwijd vrijkomen zijn een ware *eye opener*. De tweedimensionale plaatjes van dode celplakjes, waarbij veel kleinere structuren niet te zien waren,

gaven tot zo'n tien jaar terug altijd het beeld van een statische cel, waarin eiwitten in hun eentje rondloopen in een woelige zee en daar waar het uitkwam hun reacties uitvoeren. Maar de cel blijkt meer geordend dan gedacht. Eiwitten bewegen zich keurig en 'doelgericht', naar elkaar toe en van elkaar af, langs en door allerlei bewegende buisjes, blaasjes, zakjes en andere structuren waar men tot voor kort nog geen weet van had.

### Membraanvlot

Zo'n nieuw ontdekte structuur is bijvoorbeeld de in 2004 voor het eerst gesignaleerde *nanotube*. Nanotubes zijn lange smalle buisjes van membranen, beschermende vetlagen. Deze buisjes blijken nu, althans in celkweken, te groeien tussen allerlei typen cellen, waaronder immuun- en niercellen. Nanotubes kunnen van cel naar cel eiwitten, elektrische signalen en virussen transporteren. Het zijn weer andere structuren dan de pseudopootjes, uitsteeksel die zich vormen als de cel zich over een oppervlakte uitstrekt. In die vijf nanometer dikke pseudopootjes, die nu ook druk worden gefilmd, blijken zich sensoreiwitten op te hopen die 'voelen' of een oppervlakte hard of zacht is. Belangrijk, want bijvoorbeeld een stamcel weet daardoor of hij een harde botcel moet worden of een zachte hersencel.

De filmpjes van deze en andere structuren tonen aan dat eiwitten

Als er iets te doen blijkt, creëren eiwitten er samen een tijdelijk celstructuurkje voor

van dezelfde soort vaak daarbinnen weer clusteren in nog kleinere structuurtjes. Veel celfysiologen denken dat dit niet passief gebeurt, maar dat eiwitten, als er iets te doen blijkt, in een paar minuten of paar uur tijd samen eerst zo'n eigen structuurtje in de cel creëren, daar hun werk doen – bijvoorbeeld een spijsverteringsreactie versnellen of DNA herstellen – en dan weer uit elkaar gaan. Binnen zo'n structuur samenwerken lijkt ook efficiënter dan alleen, in een zee van andere bewegende eiwitten.

Als het in een membraan gebeurt, heet zo'n eiwitcluster een 'membraanvlot'. Thomas Schmidt, verbonden aan het Cel Observatorium in Leiden, is op zoek naar zulke membraanvloten. Hij zoekt ze onder andere voor het eiwit Hras, betrokken bij celdeling. Normaal zwemt dat eiwit inactief in de cel, wachtend op werk. Komt de cel in contact met een groeifactor, zoals insuline, dan migreert Hras naar de buitenkant van de cel om daar zijn taak uit te voeren: het signaal 'delen' versterken.

De groep van Schmidt legt dit gebeuren vast. Op een scherm zien we donkere filmpjes met blauw oplichtende stipjes – *real time* opnames van bewegend eiwit in een levende bindweefselcel! En inderdaad, de beelden tonen dat het Hras-eiwit zich op het membraan niet willekeurig, maar in groepjes beweegt. "Dit zagen we ook bij het zebrafisje", vertelt de hoogleraar. Binnen vijf minuten na toevoegen van de signaalstof (insuline) zitten de eiwitten al op het membraan, om daar na zo minuten weer te weg te zijn. Op het membraan verplaatsen ze zich in gebiedjes van 200 nanometer, met een snelheid van ongeveer 300 nanometer per seconde. "Het idee is", zegt Schmidt, "dat membraanvloten met hun actieve eiwitten heen en weer over andere mem-

braanvetten schuiven. Tweehonderd vierkante nanometer zou de grootte van zo'n vlot kunnen zijn." Dus hij heeft er eentje gevonden? "Dat willen we nu gaan bewijzen."

De Leidse hoogleraar heeft de lichtmicroscopie voor dit onderzoek zelf ontworpen – *stochastic imaging*, heeft hij hem gedoopt. Normaal kun je met lichtmicroscopen structuren kleiner dan 300 nanometer niet zien. Een ribosoom (het celorgaanje waarin eiwitten worden gemaakt) kun je er dus wel mee zien, maar een membraanvlot niet. En bijvoorbeeld een eiwitpoort waardoor moleculen door membranen worden vervoerd ook niet. Bij deze nieuwe microscoop is de verplaatsing van een gelabeld eiwit echter tot op 30 nanometer nauwkeurig te volgen. En voor elke milliseconde is automatisch een andere kleur fluorescentielabel op een eiwit aan of uit te schakelen, waardoor meerdere typen eiwitten tegelijkertijd zijn te filmen. De groep wil nu achterhalen welke eiwitten samen met Hras in zo'n gebiedje de celdeling beïnvloeden.

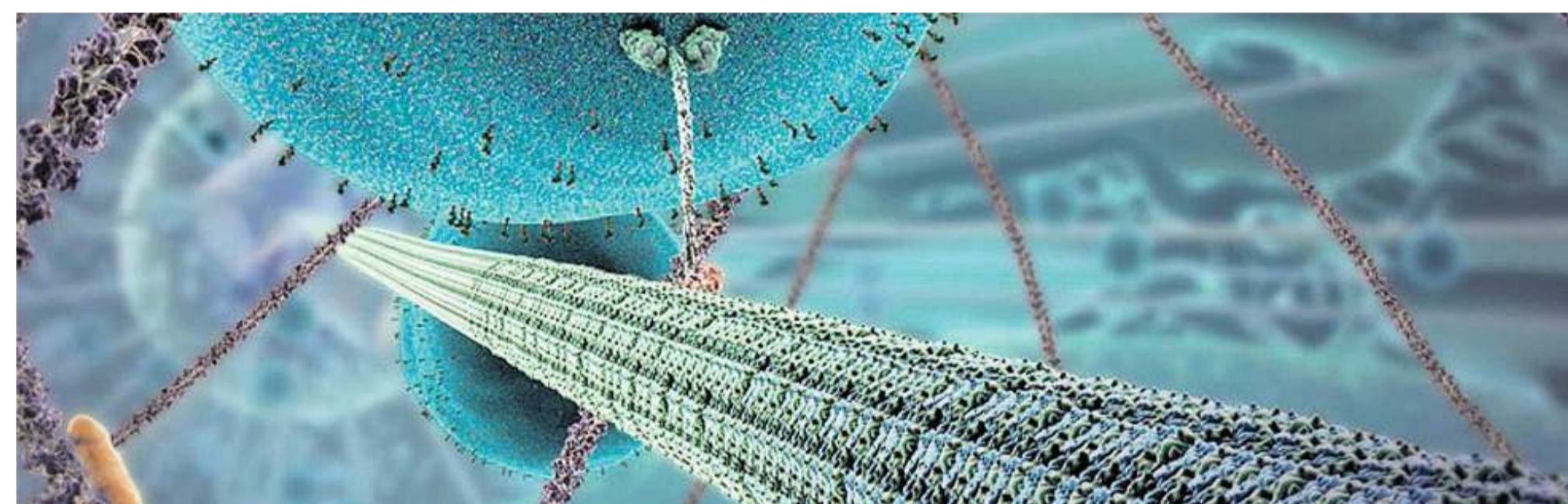
### Strengen van enzymen

Sommige groepen in de wereld zijn op deze manier op zoek naar de 'neus' van de cel: membraanvloten met daarin de eiwitten die 'ruiken' in welke richting de cel zich moet bewegen. Anderen zoeken naar beelden die aantonen hoe 'celmondjes' ofwel *phagophores* ontstaan – deze mondjes zijn tijdelijke, deels geopende membraanblaasjes. Ze eten beschadigde celonderdelen op en lossen daarna weer op.

Vorig jaar signaleerden Engelse en Amerikaanse groepen voor het eerst zogenoemde celslangen: lange strengen van aan elkaar geknoopte enzymen van dezelfde soort. Eerst hadden ze in gist allerlei eiwitten fluo-



# – en goed gevuld



rescerende labels gegeven, en vervolgens keken ze welke eiwitten strengen konden vormen. Een daarvan bleek CTP-synthase, een enzym dat is betrokken bij de opbouw van DNA. 'Het lijkt logisch dat ook deze celslangen een rol spelen in levende organismen', schrijft onderzoeker James Wilhelm van de Rockefeller Universiteit in *Nature* van 2 december. 'De cel kan hiermee bepaalde enzymen en massa aan of uitzetten. Hij breekt gewoon zo'n slang af, en al die enzymen komen tegelijk vrij om DNA op te bouwen.'

Ten slotte lijken ook in het heilige der heilige, de celkern met het DNA erin, de reacties bijzonder geordend te verlopen. Laboratoria filmen nu druk in recentelijk gevonden struc-

Op het scherm zien we blauwe stipjes: bewegend eiwit in een levende bindweefselcel

turen, met prachtige namen als Cajal-lichaampjes, spikkeltjes, paraspikkeltjes en PML-lichaampjes. En de chromosomen natuurlijk. Dat zijn geen statische kluitjes, zo lieten onderzoekers van de University of Massachusetts (vs) in 2002 voor het eerst zien. Het zijn vertakte netwerken van chromosoomlussen, bestaande uit strengen DNA, inge-

pakt in honderden soorten eiwitten en RNA's (betrokken bij de vertaling in eiwitten). Ook daarin zitten allerlei compartimenten, voor bijvoorbeeld het herstellen van fouten in het DNA, of het openen van DNA-strengen voor de vermeerdering. En de structuren bewegen – chromosomen kunnen wel de halve cel (500 nanometer) door schuiven. Aangetoond is ook al dat vooral genen aan de buitenkant van het chromosoomnetwerk actief zijn. Het zoeken is nu naar beelden die leren hoe zo'n bewegend driedimensionaal netwerk met armen honderden genen tegelijkertijd stil legt, of juist activeert.

In deze prille fase filmt nog wel ieder laboratorium andere vierkante nanometers van een cel, met vaak ook

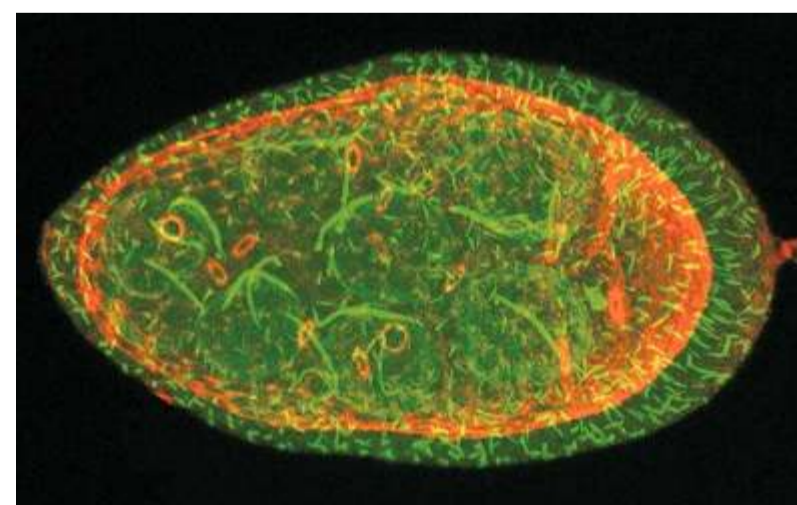
net weer andere microscopische technieken. Wie bepaalt nu welke filmpjes de oude modellen uit de papieren leerboeken kunnen gaan vervangen? Dertig Europese laboratoria, met als grootste het Max Planck Instituut in Frankfurt, werken nu samen binnen het Europese programma *Instruct*. In Amerika zitten een aantal belangrijke groepen, en de Chinezen zijn grote laboratoria aan het richten.

### Buisjesslinger

Bram Koster van het LUMC: "We gaan op een symposium echt niet stemmen welke beelden het beste zijn. Nee, diegene die als eerste de fondsen voor educatieve animaties weet binnen te halen, bepaalt voor

een groot deel hoe je naar de cel als geheel kunt kijken. Totdat iemand anders betere heeft, gaan die beelden de collegialen rond. Harvard loopt nu voorop."

Klik, klik, klik, gaat het weer. We zien een prachtige animatie van wandelende eiwitcomplexen over microtubuli, *The Inner Life of the Cell*, gemaakt door de Harvard Universiteit (zie hierboven). "Kijk", wijst Koster naar een voorbij zwemmende oranje buisjesslinger, "dat is een Golgi-apparaat. En hier, dat paarsblauw in die groen golvende bolletjes: een eiwitpoort die door het membraan steekt." De hoogleraar klikt nog een paar keer. Maar er staan nu zo'n tien filmpjes open. De laptop weigert nog iets te doen.

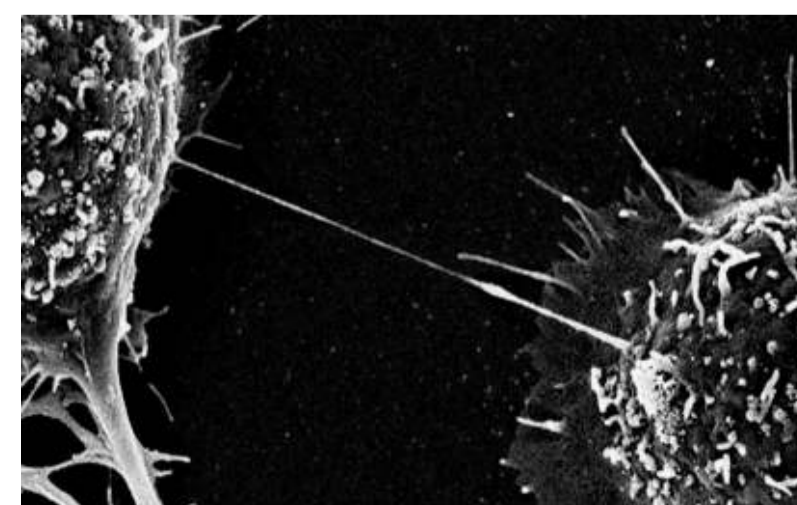


Celslangen zijn aan elkaar geregen enzymen. In dit fruitvliegje zijn ze fluorescent groen aangekeurd. FOTO CHALONGRAT NOREE

### Collectief microscopen kopen

De aanschaf van microscopen is afgelopen jaren voor het Leidse Cel Observatorium in de honderdduizenden euro's gaan lopen. Ook de andere Nederlandse celgroepen hebben flink in de buidel moeten tasten. Maar toen de nieuwste twee elektronenmicroscopen ieder 6 miljoen bleken te kosten – vier keer zoveel als de laatste 'oude' – was de grens bij de financiers wel bereikt. Mede op initiatief van elektronenmicroscopist Bram Koster van het LUMC (die eerder in Utrecht werkte) is toen het Nederlands Centrum voor Nanoscopie (NecEN) opgericht om samen microscopen aan te schaffen. Alle 11 universiteiten hebben meebetaald.

Koster zegt erg blij te zijn dat de Nederlandse groepen hun eigen ego opzij hebben weten te zetten. "Het ene minilabje moet geen ruzie gaan zitten maken met het andere minilabje. We moeten gewoon goed meespelen. Voorop lopen in dit veld heeft alles met financiering te maken."



Cellen kunnen eiwitten uitwisselen via nanotubes, een soort dunne draden. FOTO AMIN RUSTOM

### Driedimensionale atlas van het zebrafisje

Vanaf half februari kan het publiek bij museum Naturalis driedimensionaal inzoomen in het zebrafisje, het dunne, doorzichtige modelvisje van de Leidse ontwikkelingsbiologen. Een visje van twee millimeter en vijf dagen oud is nu al te zien op een vier bij drie meter scherm in het LUMC. Het beeld is gemaakt met een elektronenmicroscopie waarmee je van een sterk vergrote doorsnede toch nog celonderdelen kunt zien tot twee nanometer; het beeld vervaagt bij die vergroting dus niet. Je ziet er bijvoorbeeld de paar nanometer dikke membranen lopen. Met de muis zoom je dan bijvoorbeeld in op een rijtje ribosomen, waar de eiwitten

worden gemaakt. Nog eens inzoomen en je weet waar op zo'n ribosoom eiwitpoorten zitten. Zo'n overzichtskaart is indrukwekkend en educatief. En hij kan dienen als basis voor een driedimensionale atlas voor onderzoekers. Daaraan werken nu het Cel Observatorium en het LUMC. Zij willen volgend jaar als eerste in de wereld met een digitale driedimensionale atlas komen van het zebrafisje waarin, uitgaande van zulke overzichtskaarten, andere onderzoekers beelden van 'hun' eiwit kunnen vinden, bijvoorbeeld van het eiwit Hras dat is betrokken bij celdeling. Even klikken en je weet waar Hras zich in een stamcel bevindt 8 uur na be-

vruchting. Oké, nog nergens. Na 16 uur dan? Zulke atlanten zijn al wel in de maak voor alleen lichtmicroscopische beelden, maar nog niet voor lichtmicroscopische beelden én elektronenmicroscopische beelden. Juist die integratie, waarvoor nu ook technieken op de markt gaan komen, is nieuw. Nu zijn er vele typen cellen en zo'n tienduizend eiwitten die zich op verschillende momenten in de ontwikkeling anders kunnen gedragen. Thomas Schmidt van het Cel Observatorium laat zich daar niet door ontmoedigen: "Een driedimensionale atlas waarin van alle eiwitten is te zien waar ze zich op een bepaald tijdstip bevinden. Dat is onze droom."