

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/30001>

Please be advised that this information was generated on 2019-05-21 and may be subject to change.

Pompen of Verzuipen

AFSCHEIDSREDE DOOR PROF. DR. JAN JOEP H.H.M. DE PONT

Radboud Universiteit Nijmegen



AFSCHEIDSREDE

PROF. DR. JAN JOEP H.H.M DE PONT



Jan Joep de Pont bespreekt in zijn afscheidsrede de in 1957 ontdekte natriumpomp. Deze pomp zorgt voor het instandhouden van een lage concentratie van natriumionen in vrijwel alle dierlijke cellen. Door het zo gevormde concentratieverschil voor natriumionen kunnen allerlei fysiologische processen, zoals spier- en zenuwwerking en de opname van voedingsstoffen, verlopen. Nu, een halve eeuw later weten we tamelijk gedetailleerd hoe de natriumpomp er uitziet, hoe die werkt en welke rol die speelt bij fysiologische en pathologische processen.

Jan Joep de Pont (Weert, 1942) neemt met deze rede afscheid van de Radboud Universiteit Nijmegen waar hij meer dan veertig jaar heeft gewerkt, waaronder vanaf 1981 als hoogleraar Biochemie. Hij kijkt ook terug op de ontwikkeling van het vakgebied biochemie in het palet van de moleculaire levenswetenschappen, op de opleiding van promovendi en studenten en op de rol van de medezeggenschap waar hij lange tijd deel van heeft uitgemaakt. Hij werd in 2005 benoemd tot Ridder in de Orde van de Nederlandse Leeuw.

Jan Joep de Pont (Weert, 1942) neemt met deze rede afscheid van de Radboud Universiteit Nijmegen waar hij meer dan veertig jaar heeft gewerkt, waaronder vanaf 1981 als hoogleraar Biochemie. Hij kijkt ook terug op de ontwikkeling van het vakgebied biochemie in het palet van de moleculaire levenswetenschappen, op de opleiding van promovendi en studenten en op de rol van de medezeggenschap waar hij lange tijd deel van heeft uitgemaakt. Hij werd in 2005 benoemd tot Ridder in de Orde van de Nederlandse Leeuw.

POMPEN OF VERZUIPEN

Pompen of Verzuipen

Rede bij het afscheid als hoogleraar Biochemie bij het UMC St Radboud en de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica van de Radboud Universiteit Nijmegen op vrijdag 29 juni 2007

door prof. dr. Jan Joep H.H.M. de Pont

Vormgeving en opmaak: Nies en Partners bno, Nijmegen
Drukwerk: Thieme MediaCenter Nijmegen

ISBN 978-90-9021660-7

© Prof. dr. Jan Joep H.H.M. de Pont, Nijmegen, 2007

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar worden gemaakt middels druk, fotokopie, microfilm, geluidsband of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de copyrighthouder.

Mijnheer de rector magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,

Een van de karakteristieken van het Nederlandse landschap is de aanwezigheid van windmolens. Soms zijn deze aanwezig in lange rijen langs een rivierdijk, soms zijn deze verspreid aanwezig in het platteland en zelfs in een stad als Nijmegen vindt men diverse windmolens. Beroemde schilderijen van Nederlandse meesters hebben molens als onderwerp. Ik wijs u er op dat wij in 2007 het 'Jaar van de Molens' vieren.

Waar denkt u aan bij een molen? Waarschijnlijk niet aan wat ik u nu ga uitlegen. Windmolens zetten een bepaalde vorm van energie om in een andere vorm. Zij gebruiken de energie afkomstig van wind om een gewenst energievragend proces, zoals het pompen van water of het malen van graankorrels, plaats te laten vinden. Wind wordt veroorzaakt doordat op een zekere plaats op de aardbol meer luchtdeeltjes per volume-eenheid aanwezig zijn dan op een andere plaats en omdat er ten gevolge hiervan een stroom van lucht plaatsvindt van een gebied met een hoge concentratie (hoge luchtdruk) naar dat van een lage concentratie (lage luchtdruk). Ik laat de wet van Buys Ballot maar buiten beschouwing. Wij spreken over een gradiënt van lucht. Een dergelijke gradiënt heeft dus een potentiële energie die gebruikt kan worden voor diverse energievragende processen.

Het omzetten van de ene energievorm in de andere is zo gewoon in het dagelijks leven, dat we ons dat nauwelijks meer realiseren. Als u hier met de auto gekomen bent is de energie die vrijkomt bij de verbranding van benzine of diesel gebruikt om u te verplaatsen. Hebt u de fiets genomen dan is de energie afkomstig uit uw lichaam en indirect van het voedsel dat u tot u heeft genomen. Soms is het uitermate complex om het energie-omzettingsproces te volgen. Als u in uw huis de stofzuiger laat werken gebruikt u via uw stopcontact energie die bijvoorbeeld afkomstig is van de verbranding van fossiele brandstoffen om een gradiënt van lucht op te wekken die er toe moet leiden dat uw huis schoner wordt.

Stelt u zich nu een polder voor die enkele meters onder de zeespiegel ligt. Op de dijk rond deze polder bevinden zich windmolens die water uit de polder over de ringdijk in een kanaal pompen. Er is dus door windenergie een hoogteverschil van water ontstaan. Elders in de dijk bevindt zich een houtzagerij, waarbij de zaagmachines aangedreven worden door het hoogteverschil van het water. Dan wordt de energie voor de zaagmachines indirect geleverd door de wind. Het voordeel van dit systeem is dat de zaagmachine ook kan werken bij een tijdelijke windstilte. Voor het functioneren van deze processen in de polder en ook het leven in de polder zelf geldt: pompen of verzui-
pen.

Waarom vertel ik u dit allemaal? Een menselijk lichaam bestaat uit biljoenen cellen met allerlei functies die ieder voor zich vrij autonoom kunnen functioneren. Iedere cel heeft energie nodig om haar functies te kunnen uitoefenen en om te overleven. Bij

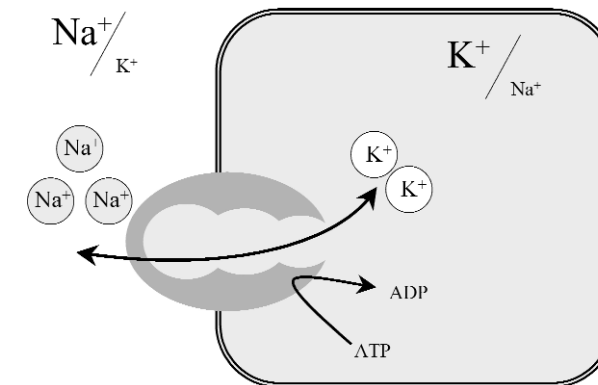
verbranding van voedingsstoffen in de cel komt energie vrij die gebruikt kan worden bij deze processen. Een van de belangrijke vragen van de biochemie is hoe de cel deze energie kan vrijmaken en via welke mechanismen deze energie gebruikt wordt om de bovengenoemde processen te laten verlopen.

Bij de verbranding van voedingsstoffen in de cel wordt via een grote serie van ingewikkelde processen de stof adenosinetrifosfaat (ATP) gevormd. Deze vorming van ATP kost energie. ATP kan vervolgens weer worden afgebroken tot adenosinedifosfaat (ADP) en hierbij komt deze energie weer vrij. ATP wordt ook wel de pasmunt voor energie in de cel genoemd. Net als geld uw portemonnee binnenkomt en weer uitgaat, wordt in de cel gevormd en weer afgebroken. De omzetting van naar ADP wordt gekatalyseerd door bepaalde enzymen (*ATPases* genaamd). De hierbij vrijkomende energie kan bijvoorbeeld direct gebruikt worden om spieren te laten samentrekken. Maar er zijn ook andere mogelijkheden.

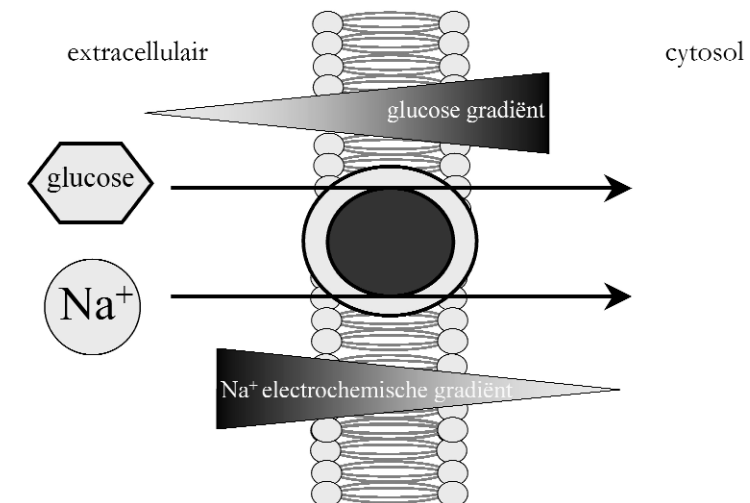
Evenals in het genoemde poldermodel maken cellen gebruik van gradiënten om deze functies te kunnen vervullen. Een belangrijk deel van de energie die in het menselijk lichaam vrijkomt bij de afbraak van ATP, naar schatting ongeveer dertig procent, wordt gebruikt om gradiënten op te wekken. Dit zijn geen gradiënten van luchtdeeltjes maar van kleine positief geladen deeltjes, zoals natriumionen (aanwezig in keukenzout), en kaliumionen (aanwezig in fruit). In iedere cel zijn vergeleken met de omringende vloeistof veel meer kalium- en veel minder natriumionen aanwezig. De gradiënten voor natrium- en kaliumionen worden in stand gehouden door een in de celwand (*celmembraan* genaamd) aanwezige pomp die men kan vergelijken met de windmolen (Figuur 1).

Waarom is een ionengradiënt nuttig voor de cel? Laat ik dat aan een voorbeeld toelichten. Zoals ik gezegd heb is de concentratie van natriumionen in de cel veel lager dan in de vloeistof die de cel omspoelt. Dus de positief geladen natriumionen hebben de neiging van een hoge concentratie naar een lage concentratie te stromen. Dit proces wordt nog bevorderd doordat aan de binnenkant van de celwand van bijvoorbeeld darmcellen een eiwit (*carrier* genaamd) dat alleen glucose, de eenvoudigste suiker, naar binnen kan transporteren als er tegelijk natriumionen meegaan. Het concentratieverschil van natriumionen over de celwand is samen met het potentiaalverschil de drijvende kracht voor de opname van glucose door de cel (Figuur 2). Glucose gaat als het ware op de bagagedrager van natriumionen de cel binnen. Zo kan de concentratie van glucose in darmcellen vele malen hoger worden dan daar buiten. Water volgt nu de natriumionen en het glucose en wordt opgenomen in de darmcellen.

Bij bepaalde ziektes als bijvoorbeeld cholera stroomt een grote hoeveelheid water vanuit de darmcellen naar de binnenkant van de darm. Dus deze waterstroom gaat de andere kant op dan bij een gezonde persoon. We noemen dit diarree. Het aan de opna-



Figuur 1. De rol van de natriumpomp in een modelcel. De natriumpomp pompt natriumionen (Na^+) naar buiten en kaliumionen (K^+) naar binnen tegen de concentratiegradiënten in. De energie voor dit proces wordt geleverd door de splitsing van ATP.



Figuur 2. Model voor de opname van glucose in de darm. De elektrochemische gradiënt voor natriumionen (Na^+), ontstaan door de werking van de natriumpomp, kan gebruikt worden om glucose tegen de concentratiegradiënt in, de cel in te pompen.

me van natriumionen en glucose gekoppelde watertransport naar de darmcellen kan de diarree verminderen of zelfs opheffen. Dit proces is de basis van het gebruik van de Oral Rehydration Solution (ORS) die miljoenen kinderen uit de derde wereld, die leden aan een ernstige vorm van diarree, door bijvoorbeeld cholera, het leven heeft gered.

Terug naar de natriumpomp. Deze pompt natriumionen de cel uit en kaliumionen de cel in. Deze natriumpomp heeft energie nodig die wordt geleverd door splitsing van ATP. De pomp wordt dan ook wel een ATPase genoemd: het Na,K-ATPase. Als je de cel vergelijkt met de polder, zou je deze natriumpomp kunnen vergelijken met de windmolen en de zo juist genoemde natrium-glucose carrier met de houtzagerij. Vergelijkingen gaan echter meestal mank. Bij de polder komt de energie van buiten (door de wind) terwijl de cel zelf door verbranding de energie levert voor de pomp. Zonder de gradiënten voor natrium- en kaliumionen kan een cel niet overleven. Voor iedere cel geldt het devies: pompen of verzuipen.

Als men zich binnen in een korenmolen bevindt kan men het mechanisme waarmee de windenergie wordt gebruikt om de molenstenen te laten draaien vrij eenvoudig achterhalen. Bij de natriumpomp is dat wat moeilijker. De natriumpomp is zeer klein (ongeveer $15 \times 7 \times 6$ nanometer; een nanometer is het miljoenste deel van een millimeter). De lengte van de natriumpomp is twee miljard keer zo klein als die van een gemiddelde korenmolen. Er kunnen in principe 10^{28} natriumpompen in een molen. De pomp wordt ook wel een nanomotor genoemd. Toch weten we langzamerhand vrij goed hoe de natriumpomp er uit ziet en hoe die werkt.

Omdat ik gedurende meer dan 35 jaar de natriumpomp en een aantal andere pompen heb bestudeerd wil ik aan de hand van een beknopt historisch overzicht enige ontwikkelingen uit dit onderzoeksgebied vertellen.

DE NATRIUMPOMP

In 1941, het jaar voordat ik geboren werd, suggereerde Robert Dean als eerste het bestaan van een natriumpomp om het verschil in natrium en kaliumconcentraties binnen en buiten de cel te kunnen verklaren (6). In 1957, dit jaar precies 50 jaar geleden, publiceerde de Deense arts, Jens Christiaan Skou een artikel, waarin hij beschreef hoe ATP in membranen van krabbenzenuwen gesplitst werd. Hij vond bij toeval dat de snelheid van ATP-splitsing veel en veel hoger was wanneer zowel natrium- als kaliumionen in het reactiemedium aanwezig waren. Dit zou kunnen suggereren dat deze ATPase-activiteit verantwoordelijk is voor de natriumpomp. In het artikel van Skou dat gepubliceerd is in het door Nederlandse biochemici opgerichte en jarenlang geleide tijdschrift *Biochimica et Biophysica Acta* wordt in de titel niet gerept over de mogelijke relatie van zijn vondst met ionentransport (19). Skou vond dat te gewaagd. Het artikel trok daarom eerst vrijwel geen aandacht. Een jaar later presenteerde Skou zijn resulta-

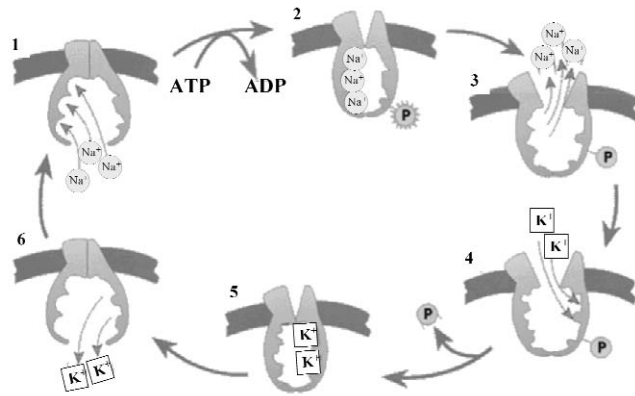
ten op een internationaal congres en ontmoette daar de Amerikaan Robert Post die hem vroeg of hij ouabaine had getest. "Ouabaine, wat is dat?" was Skou's antwoord (21). Hij was blijkbaar niet op de hoogte van het feit dat in 1953 Schatzmann had ontdekt dat ouabaine, een digitalisverbinding, actief natriumtransport over de celwand van de rode bloedcel remde (16). Terzijde: meer dan tweehonderd jaar geleden ontdekte William Withering dat digitalisverbindingen, onder andere afkomstig uit vingerhoedskruid, gebruikt konden worden als geneesmiddel bij hartpatiënten. Ofschoon deze verbindingen nog steeds gebruikt worden weten we nog steeds niet precies wat het mechanisme is waarop zij bij hartpatiënten hun positieve effect uitoefenen.

In 1960 verscheen een tweede artikel van Skou waarin hij aantoonde dat de kationafhankelijke ATP-splitsing, vanaf nu Na,K-ATPase genoemd, inderdaad werd geremd door ouabaine en andere digitalisverbindingen en dus een andere karakteristiek is van de natriumpomp (20). Na,K-ATPase en de natriumpomp worden in het algemeen en ook bij deze rede als synoniemen gebruikt. Het belang van de ontdekking van Skou werd onderstreept doordat aan hem, in 1997, veertig jaar na het verschijnen van zijn eerste artikel op dit gebied, de Nobelprijs voor Scheikunde werd toegekend (21).

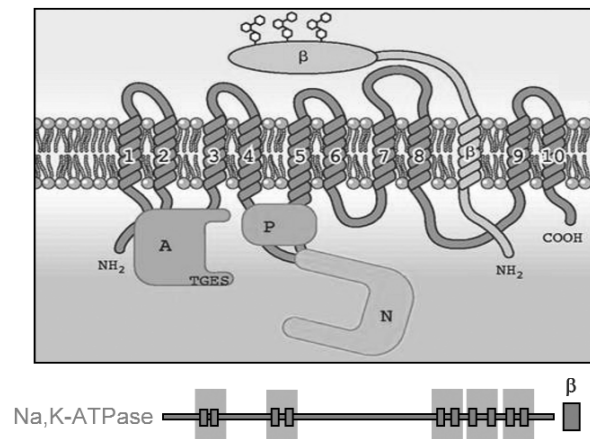
Vanaf 1960 nam het aantal onderzoekers dat werkte aan het Na,K-ATPase sterk toe. Een van de eerste onderzoekers die zich richtte op het Na,K-ATPase was Sjoerd Bonting toen werkzaam in de Verenigde Staten. Mede op basis van dit onderzoek werd Bonting in 1965 benoemd tot hoogleraar Biochemie aan de toenmalige Katholieke Universiteit te Nijmegen. In lijn met zijn eerdere onderzoek richtte hij zich na zijn komst vooral op de rol van het Na,K-ATPase bij een aantal fysiologische processen, maar hij had ook interesse in het visuele mechanisme. In november 1966 kwam ik in dienst bij zijn afdeling en promoveerde in juni 1970 op een onderwerp uit het visuele mechanisme. Ik kreeg vervolgens de dagelijkse leiding over drie promovendi die werkten aan het Na,K-ATPase, of uit dit onderzoek voortgekomen onderwerpen. Een van deze promovendi, Willem Rutten, werkte aan een project over de regulatie van de enzymsecretie uit de alveesklier. Hierna hebben nog tien andere promovendi een promotieproject op dit gebied voltooid. Vanwege de beschikbare tijd kan ik hier helaas niet verder op in gaan.

Na enige jaren besloten wij het onderzoek te gaan richten op het werkingsmechanisme van het Na,K-ATPase en een verwante pomp, het H,K-ATPase ofwel de zuurpomp uit de maag. Op dit gebied zijn er in onze groep vanaf 1974 inmiddels dertien onderzoekers gepromoveerd. Ik tel de eerdere promovendi op dit gebied die alleen onder leiding van Bonting hebben gewerkt niet mee.

In de periode tot 1985 werd door onderzoek op vele plaatsen in de wereld, waaronder Nijmegen, eenduidig vastgesteld dat het Na,K-ATPase twee eiwitketens bevatte, een katalytische subeenheid (α), die reageert met ATP en een glycoproteïne (β) die er



Figuur 3. Schematische weergave van het werkingsmechanisme van de natriumpomp. Drie natriumionen (Na^+) worden aan de binnenkant van de pomp gebonden (1). De bij de splitsing van ATP vrijkomende fosfaatgroep (P) wordt aan de pomp gebonden (2). Hierbij verandert de pomp van vorm (3) en worden de natriumionen aan de buitenkant afgegeven. Vervolgens binden twee kaliumionen (K^+) aan de pomp (4). De fosfaatgroep laat los (5) en vervolgens worden de kaliumionen aan de binnenzijde van de cel afgegeven (6).



Figuur 4. Tweedimensionaal beeld van de natriumpomp. De α -subeenheid gaat tien keer door het membraan heen. Aan de binnenzijde van de cel bevinden zich drie subdomeinen (P, N en A) die betrokken zijn bij de splitsing van ATP. De β -subeenheid gaat een keer door het membraan en heeft aan de buitenzijde suikers gebonden. Aan de onderzijde wordt de structuur van de natriumpomp schematisch weergegeven.

mede voor zorgt dat de pomp na de synthese op de juiste plaats in de cel terecht komt. Verder leidde het onderzoek tot een nog steeds gebruikt model voor de werking van de natriumpomp (Figuur 3). Hierbij worden drie natriumionen aan de binnenzijde van de pomp gebonden, waarna een fosfaatgroep van het ATP gekoppeld wordt aan de pomp. Vervolgens worden deze natriumionen de cel uit getransporteerd. Hierbij verandert het eiwit van vorm, waardoor twee kaliumionen worden gebonden, de fosfaatgroep los laat en de kaliumionen de cel in worden gebracht. Een dergelijk model, hoe bruikbaar ook, zegt echter niets over de wijze waarop dit proces op moleculaire schaal plaatsvindt.

Ook in dit onderzoeksgebied bracht de moleculaire biologie een belangrijke vooruitgang. In één nummer van *Nature* in 1985 werd zowel van het de katalytische subeenheid van het Na,K-ATPase (18) als van het verwante $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ uit de skeletspier (11) de aminozuurvolgordes gepubliceerd, die waren afgeleid uit de basenvolgorde van het DNA. Vervolgens werden binnen enkele jaren de aminozuurvolgordes van diverse verwante pompen en geassocieerde eiwitten gepubliceerd. Op basis hiervan kon spoedig een tweedimensionaal beeld van deze ATPases verkregen worden (Figuur 4). Onder andere bleek hieruit dat de katalytische subeenheden van de natriumpomp en de zuurpomp dezelfde globale structuur hadden en voor 63 procent identiek waren. Ik wijs u, voor een beter begrip van het volgende, er op dat de katalytische of α -subeenheid van beide pompen tien keer door het membraan heen gaat. Schematisch wordt dit aan de onderzijde van deze figuur weergegeven.

EIGEN ONDERZOEK

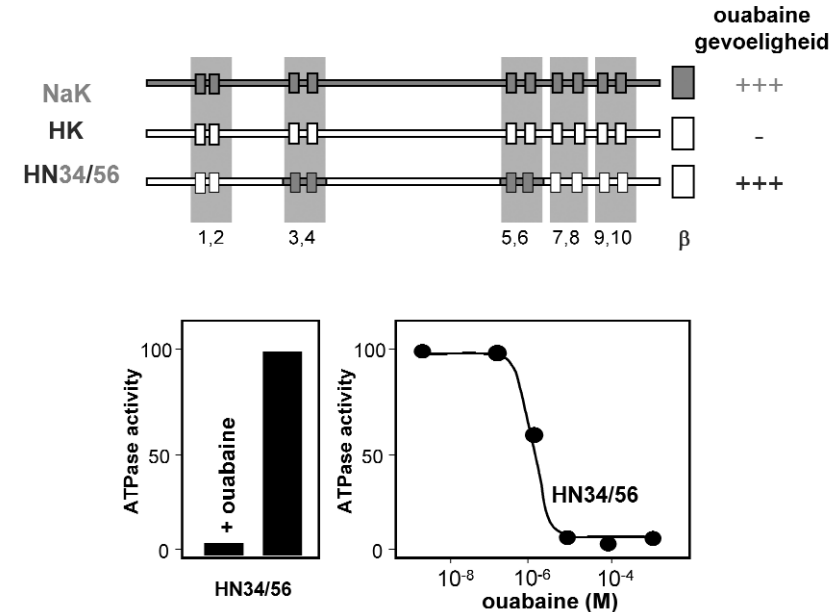
Wij besloten ons, mede gezien de goede ervaring die collega Wim de Grip had behaald met het oogeiwit rhodopsine (8), eind jaren tachtig te gaan richten op het tot expressie brengen van de maagpomp en later de natriumpomp. Dit betekende dat we probeerden de pomp te laten werken in een systeem dat het van nature niet had. Het grote voordeel van expressie van deze pompen is, dat we met moleculair-biologische methoden kleine veranderingen kunnen aanbrengen in de structuur van de pomp en door het bestuderen van de effecten van deze veranderingen inzicht kunnen krijgen in relatie tussen structuur en functie van deze pompen. In 1993 slaagde de promovendus Corné Klaassen er als eerste in de wereld in de maagpomp functioneel tot expressie te brengen (9). Het systeem dat wij hier gebruikten is voor buitenstaanders bijzonder. Wij gebruikten een virus dat normaal insecten bestrijdt en waarmee onderzoekers in onder andere Wageningen op zoek zijn naar toepassingen in de land- en tuinbouw. Dit virus is onschadelijk voor de mens. Binnen het DNA van dit virus konden wij het DNA van het ATPase op een specifieke plaats incorporeren. Vervolgens gebruikten wij een specifieke cellijn, afkomstig van de eileider van de mot. Door nu het virus in contact te brengen met deze cellen konden wij deze mottencel zover krijgen dat die de al dan niet gemuteerde zuurpomp of natriumpomp ging produceren.

Op basis van deze methode hebben we de laatste 15 jaar onderzoek verricht om meer inzicht te krijgen in het werkingsmechanisme van deze ATPases. Een van onze bevindingen wil ik in wat meer detail bespreken.

De promovendus Jan Koenderink maakte met behulp van moleculaire biologie zogenaamde chimere van de natrium- en de zuurpomp, wat mogelijk was omdat deze eiwitten zo veel op elkaar lijken. Het woord chimeer komt uit de Griekse mythologie en wordt meestal afgebeeld met het hoofd van een leeuw, het lichaam van een geit en de staart van een slang (Ilias, hoofdstuk 6). In ons vakgebied bestaat een chimeer uit een combinatie van meestal twee verschillende eiwitten. De bedoeling van zijn onderzoek was om te begrijpen waarom de ene pomp natriumionen naar buiten pompt terwijl de andere pomp protonen (zuurionen) naar de maaginhoud transporteert. Jan maakte een aantal chimere van beide ATPases en mat de ATPase-activiteit. Deze was in het algemeen erg laag of zelfs afwezig. Nu gebruikte hij bij dit onderzoek altijd de remstof ouabaine waarmee hij de lage activiteit van de eigen natriumpomp van de insectencel kon remmen. Bij een bepaald experiment in 1999 liet hij echter ouabaine weg en bij vergelijking van de ATPase activiteiten in dit experiment met die in vorig experimenten in aanwezigheid van ouabaine deed hij een onverwachte bevinding. In figuur 5 ziet u schematisch de natriumpomp (in zwart) en de zuurpomp (in wit) weergegeven. Daaronder staat chimeer HN34/56, zo genoemd omdat het eigenlijk een zuurpomp is met alleen twee kleine stukjes, de transmembraansegmenten 3,4 en 5,6 afkomstig van de natriumpomp. De natriumpomp is gevoelig voor ouabaine, de zuurpomp niet. Jan nam waar dat de ATPase activiteit van chimeer HN34/56 in afwezigheid van ouabaine hoger was dan in aanwezigheid van deze verbinding (Figuur 5, linksonder). Nu kun je een dergelijke bevinding terzijde schuiven, maar wij raakten in grote opwinding. De bevinding betekende dat de ATPase activiteit van dit speciale chimeer werd geremd door ouabaine. Bij nader onderzoek bleek dat deze remming al geschiedde door zeer lage concentraties van ouabaine (Figuur 5, rechtsonder).

Het chimeer HN34/56 bestond voor 95 procent uit de maagpomp (die absoluut niet geremd wordt door ouabaine) en voor slechts 5 procent uit de voor ouabaine gevoelige natriumpomp. Deze laatste delen van de natriumpomp beperkten zich tot twee kleine stukjes, bestaande uit transmembraansegmenten 3,4 en 5,6. Deze stukjes lagen ver buiten het gebied, dat door anderen verantwoordelijk geacht werd voor de binding van ouabaine (14). Uit dit onderzoek kregen we een indicatie welke delen van het de natriumpomp nu echt belangrijk zijn voor de remming door ouabaine. De publicatie van dit werk in de *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* was een gebeurtenis waar we allen trots op waren (10).

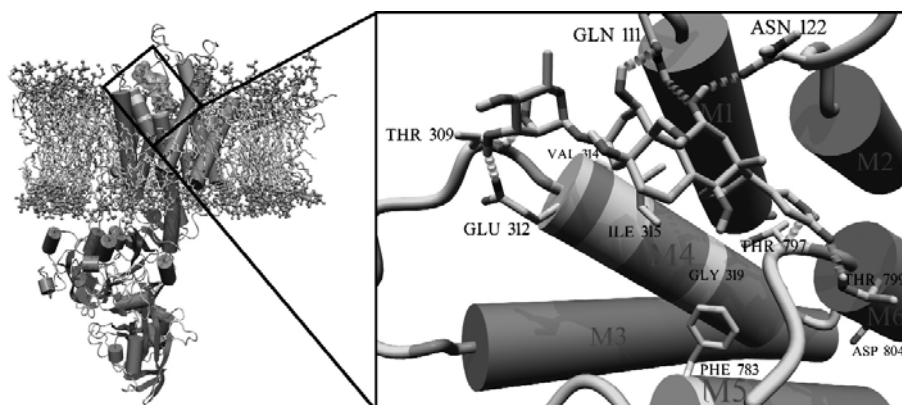
Deze twee gedeelten bevatten echter nog steeds 48 aminozuren die specifiek zijn voor de natriumpomp. Door de Chinese promovenda Liyan Qiu is recent het aantal voor Na,K-ATPase specifieke aminozuren uit deze twee gedeelten teruggebracht van 48



Figuur 5. Effect van ouabaine op de Na,K-ATPase activiteit van chimera HN34/56 (uit referentie 10). In het bovenste gedeelte zijn schematisch de structuren van Na,K-ATPase (NaK), H,K-ATPase (HK) en chimera HN34/56 weergegeven. De figuur linksonder laat zien dat de ATPase activiteit veel hoger is als ouabaine wordt weggelaten. Uit de figuur rechtsonder kan men de gevoeligheid van chimera HN34/56 voor ouabaine aflezen.

tot slechts zeven (15) en we hebben zo de voor ouabaine ongevoelige zuurpomp omgezet in een ATPase dat ouabaine kan binden met een gelijke affiniteit als het natuurlijke Na,K-ATPase.

Inmiddels had de Japanner Chikashi Toyoshima in het jaar 2000 de structuur van de calciumpomp uit de skeletspier met een nauwkeurigheid van 0,26 nanometer vastgesteld (24). Dit betekende dat hij vrijwel ieder detail van de calciumpomp in beeld had gekregen. In de jaren erna slaagden hij en zijn medewerkers er in diverse structuren van deze pomp gedurende de katalytische cyclus te bepalen (23). Deze doorbraak was niet alleen van belang voor de calciumpomp, maar ook voor verwante ionenpompen zoals de natriumpomp en de zuurpomp in de maag. Met behulp van Elmar Krieger en Gijs Schaftenaar van het Centre for Molecular and Biomolecular Informatics (CMBI) van de Radboud Universiteit Nijmegen hebben we, uitgaande van de bevindingen van Toyoshima, een model kunnen produceren dat de binding van ouabaine aan



Figuur 6. Model voor de binding van ouabaine aan de natriumpomp (uit referentie 15). In het linkergedeelte is een model voor de natriumpomp weergegeven waarin bovenaan de 10 transmembraansegmenten te zien zijn. Het gedeelte waar ouabaine bindt is rechts vergroot weergegeven.

de natriumpomp op atomair niveau beschrijft. In figuur 6 ziet u links de natriumpomp in de membraan weergegeven. Rechts ziet u in vergroting een klein gedeelte van de buitenkant van de pomp met in het centrum het molecuul ouabaine. De zeven zojuist genoemde aminozuren spelen in dit model een cruciale rol. U begrijpt dat met de aanwezigheid van een dergelijke verbinding in deze kleine holte de noodzakelijke bewegingen van het molecuul niet meer kunnen plaats vinden en zo de pomp wordt stilgelegd. Het resultaat illustreerde de voorpagina van het nummer van 16 september 2005 van het *Journal of Biological Chemistry* (15). Zonder de oplettendheid van Jan Koenderink was het experiment uit 1999 mogelijk terzijde geschoven als onbelangrijk. Zijn serendipiteit heeft geleid tot een aantal belangrijke publicaties, waar we terecht zeer trots op kunnen zijn.

HET MEDISCH BELANG

De toehoorder zou zich kunnen afvragen of dit soort onderzoek behalve bevrediging voor de onderzoeker ook nog iets oplevert voor de maatschappij. Toen wij met dit onderzoek begonnen hadden wij primair interesse in de wetenschappelijke vraagstelling en weinig aandacht voor het medische belang van dit onderzoek. Ruim 25 jaar geleden is echter gevonden dat de maagpomp het aangrijpingspunt is van de zogenaamde zuurpompremmers, een klasse van geneesmiddelen die zo goed werkt dat de

minister van Volksgezondheid vanwege budgettaire redenen pogingen doet het gebruik terug te brengen. Ik neem aan dat er in het gehoor mensen zijn die Lasix, Pantozol of Nexium gebruiken! In 2006 werd er alleen in Nederland maar liefst 246 miljoen euro aan deze drie geneesmiddelen besteed (22). Een goed begrip van het werkingsmechanisme en het aangrijpingsmechanisme van deze remstoffen is van groot belang voor de farmacologie van deze verbindingen. Ook zijn ouabaine en vooral de daaraan verwante digitalisverbindingen nog steeds gebruikte geneesmiddelen bij hartritmestoornissen en het is niet onmogelijk dat mede op basis van ons recente onderzoek, waarbij de bindingsplaats voor ouabaine is gekarakteriseerd, betere geneesmiddelen kunnen worden ontwikkeld door de farmaceutische industrie.

Tot voor kort dacht iedereen, dat mutaties in de natriumpomp niet gekoppeld zouden kunnen zijn aan genetisch overdraagbare ziekten omdat het enzym zo een essentiële rol speelt in het metabolisme, dat iedere mutatie lethaal zou zijn. Recent is echter vastgesteld dat bepaalde erfelijke vormen van migraine veroorzaakt worden door mutaties in een speciale vorm van de natriumpomp, die slechts in bepaalde organen, zoals de hersenen voorkomt (4). Een andere mutatie in nog een andere vorm van de natriumpomp leidt tot de vrij zeldzaam voorkomende ziekte rapid-onset dystonia-parkinsonism (3). Tenslotte zijn er al lange tijd aanwijzingen vanuit de literatuur dat de mens zelf ouabaine of een soortgelijke verbinding in zeer lage concentraties maakt en dat ouabaine mogelijk een hormoon zou zijn (17). Ook zijn er aanwijzingen dat deze verbinding betrokken is bij bloeddrukregulatie (13). Het laatste woord hierover is nog niet gesproken (1; 2; 7). Dus bestuderen van deze pompen is wel degelijk maatschappelijk relevant.

BIOCHEMIE

Bij de benoemingen van Sjoerd Bonting en Hans Bloemendal tot hoogleraren Biochemie in Nijmegen in 1965 was de positie van het vakgebied Biochemie eenduidig. Geleidelijk gingen veel onderzoekers van diverse aanpalende disciplines biochemische technieken en denkwijzen gebruiken. De resultaten van dit onderzoek werden ook geregeld gepubliceerd in biochemische tijdschriften. Terwijl de betekenis van de biochemische aanpak vooral voor de medische wetenschappen geweldig toenam daalde het aantal hoogleraren in het vakgebied Biochemie aan deze universiteit vanaf 1981 van acht tot drie. De naam van de leerstoel van een van deze drie, die bezet door collega Ger Pruijn, is recent zelfs veranderd in de Biomoleculaire Chemie. Daarentegen is het aantal hoogleraren aan deze universiteit met een biochemische of sterk verwante vooropleiding en aandachtsgebied sterk gegroeid en is nu meer dan twintig. Maar de vakgebieden hebben alle een andere naam gekregen. Wij kunnen niet zeggen dat het slecht gaat met de Biochemie; het is alleen moeilijk de identiteit van het vakgebied vast te

stellen. Biochemie is een van de basisvakken voor het grote palet van Moleculaire Levenwetenschappen geworden. Het is dan ook moeilijk te omschrijven waaraan een kernhoogleraar biochemie zou moeten voldoen. Volgens mij moet deze in de eerste plaats verantwoordelijk zijn voor het onderwijs aan de studenten. Verder moet hij of zij biochemisch onderzoek doen aan het front van de wetenschap, waarbij het onderwerp er niet zo veel toe doet. Het zou mijn voorkeur hebben als het onderzoeksgebied zich niet beperkt tot een erg klein gebied. Het moet tenminste toepasbaar zijn op vele gebieden. Onlangs is Prof. Roland Brock, afkomstig uit Tübingen, aan het UMC benoemd tot profileringshoogleraar Biochemie van Integratieve Systemen en zal een nieuw gebied binnen onze afdeling opstarten. De kernleerstoel Biochemie is echter vanaf overmorgen vacant.

INSTITUTE OF CELLULAR SIGNALLING

In het begin van de jaren negentig jaren ontstonden er overal in Nederland onderzoeksscholen. Deze hadden twee doelstellingen. De eerste doelstelling was gebaseerd op het feit dat velen van mening waren dat een promovendus behalve het schrijven van een proefschrift, wat zich meestal beperkt tot een zeer klein gebied, een bredere opleiding zou moeten hebben. Dus onderzoeksscholen moesten een verband bieden waarin cursussen gegeven werden ten behoeve van promovendi. De tweede doelstelling was dat de onderzoeksschool de plaats zou zijn waarin het onderzoeksbeleid op het betreffende gebied bepaald werd. In Nijmegen besloten omstreeks 1993 een twintigtal onderzoeksgroepen, die alle aan biomoleculen of cellen werkten, een lokale onderzoeksschool op te richten waarbij Cellular Signaling als een thema werd geformuleerd waarbinnen de meeste groepen een plaats konden vinden. De onderzoeksschool werd Institute of Cellular Signaling (ICS) genoemd ofschoon het in feite geen echt instituut was. Ik mocht aan het ICS ruim negen jaar leiding geven.

Van de twee genoemde doelstellingen is de eerste redelijk geslaagd. We konden door deze organisatie echt iets bieden aan de promovendi en zeker de jaarlijkse tweedaagse retraites, in Schiermonnikoog, Heijen en later Papendal waren een groot succes, en niet alleen door de hoeveelheid bier die er gedronken werd. De promovendi leerden elkaar goed kennen en dit leidde tot onverwachte samenwerkingen binnen Nijmegen. Toch waren niet alle begeleiders overtuigd van het nut. Sommigen vonden dat een promovendus alle beschikbare tijd in het eigen promotieonderzoek moest steken en alle bijkomende zaken waren 'flauwekul'. U begrijpt dat ik het daarmee niet eens was en nog steeds niet ben. Een brede ontwikkeling van een promovendus geeft hem of haar na de promotieperiode meer mogelijkheden in de maatschappij. De meeste van onze promovendi zijn goed terecht gekomen en ik vermoed dat ze zich niet herkennen in de titel van het recent in het Nijmeegs universiteitsblad Vox verschenen artikel 'De promovendus verzuipt'.

De tweede doelstelling, het ontwikkelen van een wetenschapsbeleid door de onderzoeksschool werd echter niet bereikt. De tijd was er nog niet rijp voor. Pas toen eind jaren negentig door activiteiten onder leiding van collega Bé Wieringa de mogelijkheid kwam om in één gebouw, de researchtoren, een belangrijk deel van het biomoleculaire en cellulaire onderzoek onder te brengen kwam ook het onderzoeksbeleid op gang. In 2000 trokken een vijftiental onderzoeksgroepen in dit nieuwe gebouw en in 2004 werd het ICS geïncorporeerd in het Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences (NCMLS), waarvan Carl Figdor inmiddels wetenschappelijk directeur was geworden. Ik heb er het volste vertrouwen in dat Carl in staat zal zijn het NCMLS op de internationale kaart te zetten.

ONDERWIJS

Biochemie wordt door medische studenten als een moeilijk vak beschouwd. Dit geldt niet alleen voor Nijmeegse studenten maar is een internationaal verschijnsel. Ik citeer uit het voorwoord van een recent verschenen biochemieboek voor medische studenten (12).

It is rumoured that among students on a course of study in the medical sciences, biochemistry is the most common cause of pretraumatic stress disorder: the state of mind into which people fall in anticipation of unbearable stress and frustration.

Desondanks heb ik altijd met veel plezier onderwijs gegeven. Bij de curriculumaanpassing in 1995 werd ik coördinator van het blok Biochemische en Fysische processen en nam de eerste verantwoordelijkheid voor het onderwijs Biochemie over van collega Jacques Veerkamp. Ofschoon wij de reductie in de omvang van het Biochemieonderwijs betreunden, hebben wij met veel plezier dit type onderwijs gegeven. Het onderwijs in kleine groepen is, niet alleen voor de student, maar ook voor de docent bevredigender, alhoewel het voor de achtste keer op een dag hetzelfde probleem uitleggen wel eens problematisch begon te worden. Het is volgens mij essentieel dat studenten van academische medische opleidingen tenminste een globaal inzicht hebben in de biochemische processen die zich in het lichaam afspelen en begrijpen welke moleculen daarbij een rol spelen. Daarvoor is het niet nodig dat zij zeer veel formules uit het hoofd kennen. Men moet echter wel deze processen kunnen begrijpen, mede gezien de geweldige ontwikkeling van het 'moleculaire' onderzoek. Het is niet eenvoudig een gulden middenweg tussen feitenkennis en inzicht te vinden, maar ik meen dat wij daarin met ons type onderwijs redelijk geslaagd zijn. De studenten begonnen gedurende de laatste jaren langzamerhand onze aanpak, waarbij we zo veel mogelijk klinische voorbeelden gaven, te waarderen. Dit bleek uit het feit dat het cijfer dat de studenten voor dit blok gaven steeds hoger werd.

AFDELING

Vanaf eind 1985 heb ik leiding gegeven aan de afdeling Biochemie van het UMC St Radboud. Ik heb dit altijd zo veel als mogelijk is, in goed overleg met de vaste staf van de afdeling gedaan. Gedurende de gehele periode hebben wij te maken gehad met bezuinigingen, die het moeilijk maakten te overleven. Het was pompen of verzuipen. De belangrijkste reden was dat de formatie van de afdeling in toenemende mate gestoeld werd op normatieve berekeningen van de onderwijs- en onderzoekstaken. De teruggang in de omvang van de onderwijstaak in 1995 kon later enigszins gecompenseerd worden door een toename in onderwijstaken vanwege de groei in het aantal studenten en een grotere participatie aan het onderwijs voor de studenten Biomedische wetenschappen en Moleculaire levenswetenschappen. Een groter probleem was de normatieve berekening van de onderzoekstaak, waarbij via een steeds wijzigend ingewikkeld systeem, genaamd Bonzo de middelen verdeeld werden. Dit systeem was gebaseerd op het aantal publicaties, de zogenaamde kwaliteit van de tijdschriften in het eigen vakgebied en de omvang van de verworven subsidies. Het schrijvende was dat Bonzo tot een reductie van de onderzoeksformatie voor de afdeling leidde, terwijl tegelijkertijd onze onderzoeksprestaties toenamen. Deze onderzoeksformatie daalde naar mate andere afdelingen, soms werkzaam op een volledig ander gebied, in dit systeem beter scoorden. Ik heb een aantal jaren geleden een pamflet geschreven met de titel 'Stop Bonzo terug in zijn hok', maar dit heeft helaas niet geholpen.

Bovendien werden aan de afdeling onvoldoende middelen ter beschikking gesteld om bij een volledige bezetting van de normatieve formatie de salarissen te kunnen betalen. De laatste jaren is de enige uitkomst vast personeel aan te stellen op met externe subsidies verworven onderzoeksplaatsen en een onverantwoord grote vacature-ruimte aan te houden. Wij blijven maar pompen, en ik hoop dat de afdeling het op deze manier kan volhouden en niet zal verzuipen. Aanpassing van het beleid is zeer gewenst.

MEDEZEGGENSCHAP EN HET GEVOLG

In 1971 werd een in de toenmalige Medische Faculteit een Faculteitsraad opgericht waarbij iedere afdeling met een stafmedewerker vertegenwoordigd was. Ik had in mijn studententijd in Utrecht al dit type activiteiten vervuld en was bereid deze taak namens de afdeling Biochemie te vervullen. Bij de vergaderingen bleek dat ik enige affiniteit had voor financiële aangelegenheden. Ik werd al spoedig voorzitter van de financiële commissie van de Faculteitsraad en werd in 1975 verkozen als afgevaardigde van de Medische Faculteit in de Universiteitsraad. Ook daar werd ik spoedig voorzitter van een dergelijke commissie. Ik heb dit type functies gedurende mijn carrière bijna continu vervuld en heb dit in het algemeen met veel plezier gedaan. Persoonlijk heb ik de contacten tussen staf en studenten in deze raden altijd zeer gewaardeerd en heb gepoogd door een goed tegenspel de diverse besturen tot betere beslissingen te brengen. Het

laatste jaar ben ik voorzitter van de UMC-raad geweest, een orgaan waarin de belangen van onderwijs en onderzoek, mede in relatie tot de patiëntenzorgtaken van het UMC op een evenwichtige wijze aan de orde komen.

Omdat ik in jaren tachtig secretaris was van de Nederlandse Vereniging voor Biochemie en mijn activiteiten in financiële commissies niet onopgemerkt waren gebleven in de biochemische wereld, werd ik op 1 januari 2004 benoemd tot Treasurer van de International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB). Deze organisatie waarvan meer dan tachtig landen lid zijn, stelt zich ten doel het vakgebied in de wereld te bevorderen en heeft vooral in Afrika, maar ook in delen van Zuid-Amerika en Azië nog veel werk te doen. Het verheugt mij dat ik ook na mijn emeritaat deze functie nog enige jaren mag vervullen.

DANKWOORD

Allereerst zou ik de leden van het Stichtingsbestuur, het College van Bestuur en de Raad van Bestuur, alsmede hun voorgangers tijdens mijn werkzame leven dank willen zeggen voor het in mij gestelde vertrouwen. Met velen van u heb ik in diverse functies goede persoonlijke contacten gehad en ik denk hier met veel genoegen aan terug. Ik heb altijd geprobeerd te bewerkstellingen dat de Radboud Universiteit en het UMC St Radboud van elkaars expertise zouden profiteren en niet verder uit elkaar zouden groeien. Ik ben daar niet helemaal in geslaagd, maar heb nog steeds goede hoop.

Er zijn velen die bijgedragen hebben aan mijn opleiding (5). De broeders van Maastricht die voor een voortreffelijke lagere school zorgden en de leraren op het Bisschoppelijk College, beiden in mijn geboorteplaats Weert, hebben mij vele zaken geleerd waar ik nog dagelijks profijt van heb. De basis van de opleiding tot biochemicus is gelegd aan de universiteit Utrecht in de jaren zestig. Ik had het genoegen in het door wijlen Professor Laurens van Deenen geleide laboratorium mijn hoofdvakstudie te mogen afleggen. Pas na mijn afstuderen ontdekte ik hoe dit laboratorium wereldwijd zeer gewaardeerd werd. Vervolgens werd ik promovendus bij professor Sjoerd Bonting. Beste Sjoerd, je organisatievermogen, taalgevoel en brede belangstelling heb ik altijd zeer bewonderd. Op mijn eerste werkdag in Nijmegen werd ik kamergenoot van Frans Daemen. In feite was hij mijn co-promotor al bestond die functie toen nog niet. Na mijn promotie in 1970 werden wij collegae. Beste Frans, jij hebt mij vele wijze adviezen gegeven, waarvan ik de meeste heb opgevolgd.

Gedurende de vele jaren heb ik een groot aantal promovendi mogen begeleiden. Vanwege de tijd noem ik jullie hier onterecht niet bij naam. Het onderzoek dat door jullie in je promotietijd is uitgevoerd heeft primair een uitstraling op de begeleiders. Jullie hebben echter de grootste bijdrage geleverd.

Ik wil echter twee uitzonderingen maken. Peter Willems, een van mijn promovendi en naderhand mijn collega medeleider van de werkgroep. Beste Peter, ik heb je

altijd bewonderd vanwege je originele ideeën, je ongelooflijke energie en je uiterst kritische kijk op het geschreven woord. Een artikel werd in jouw handen altijd weer beter. Jan Koenderink is een van mijn laatste promovendi en is sinds enige jaren werkzaam op de afdeling Farmacologie/Toxicologie. Jan, jij hebt een belangrijke bijdrage geleverd aan het succesvolle ATPase-werk van de laatste jaren en ik hoop dat jij nog enkele van de onopgeloste vragen kan beantwoorden in je huidige functie.

Een speciaal woord van dank is voor Herman Swarts. Herman kwam rond 1970 op het laboratorium als jonge leerling-analist en ik heb hem gedurende de afgelopen 37 jaar geweldig zien groeien. Herman, je voerde niet alleen de experimenten in het ATPase-onderzoek voortreffelijk uit, maar had zo een overzicht over de materie dat je in feite op een wetenschappelijk niveau functioneerde. Sjenet van Emst: jij was de stabiele medewerker die er voor zorgde dat de radertjes van het laboratorium soepel bleven lopen.

De functie van het afdelingssecretariaat is in de loop van de veertig jaar aanzienlijk veranderd. In het begin werden artikelen minstens drie maal volledig of partieel getypt. Nu wordt een secretaresse vaak terecht een managementassistente genoemd. Het typen doen we grotendeels zelf. Ik denk met veel genoegen terug aan de voortreffelijke wijze waarop Caroline Kempkes als centrale figuur bij het ICS, mij ondersteunde. Ook Bep, Carly en vele anderen van harte bedankt.

Ik heb op een zeer prettige manier samen kunnen werken met de staf van de afdeling. Ik wens Roland Brock, Wim de Grip, Toin van Kuppevelt, Peter Willems en Giel Bosman veel succes in de toekomst.

Ik wil op deze wijze ook dank zeggen aan de vele collegae in UMC en Radboud Universiteit met wie ik al die jaren heb mogen samenwerken. Het zijn er te veel om op te noemen. In het bijzonder wil ik mijn dank uitspreken aan allen die met mij geparticipeerd hebben in de medezeggenschap van de Radboud Universiteit en het UMC St Radboud. Zet jullie werk voort. Het is hard nodig.

Ik heb al iets gezegd over de studenten. Als je docent bent heb je soms het gevoel dat de student steeds jonger wordt en dat je zelf even oud blijft. Als je echter in de spiegel kijkt weet je dat dat niet het geval is. Toch blijf je door het geven van onderwijs jong van geest. Daarvoor mijn dank. In de medezeggenschap heb ik mogen samenwerken met velerlei zeer talentvolle studenten. Sommigen daarvan hebben het ver geschopt in de maatschappij en anderen zijn daartoe op weg. Het ga jullie goed.

Mijn ouders, die helaas al lange tijd niet meer onder ons zijn, hebben mij altijd alle vrijheid gegeven mijn eigen weg te gaan. Zij hebben mij van harte gesteund in mijn carrière en daarvoor blijf ik hun dankbaar.

Toen ik op achttienjarige leeftijd besloot Scheikunde te gaan studeren en niet te kiezen voor het medische vak, had ik niet kunnen vermoeden dat ik toch vrijwel heel mijn leven in de medische wereld terecht zou komen. Mijn vader was huisarts en mijn

moeder verpleegkundige. Ook trouwde ik met een verpleegkundige en mijn drie kinderen en twee van hun drie partners hebben ook een medische vak gekozen. Een partner zit in het management dus die kan nog kiezen. Saskia en Pieter, Boudewijn en Wanda, en Barbara en Ronald: ik ben trots op jullie en op onze drie kleinkinderen, Hannah, Josephine en Julot. Opa Joep heeft nu nog meer tijd voor jullie.

Lieve Jeanne Marie. Wij hebben meer dan veertig jaar lief en leed gedeeld. We gaan hier nog even mee door.

Ik heb gezegd.

REFERENTIES

1. Aperia A. New roles for an old enzyme: Na,K-ATPase emerges as an interesting drug target. *J Intern Med* 261: 44-52, 2007.
2. Blaustein MP, Zhang J, Chen L and Hamilton BP. How does salt retention raise blood pressure? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R514-R523, 2006.
3. de Carvalho AP, Sweadner KJ, Penniston JT, Zaremba J, Liu L, Caton M, Linazasoro G, Borg M, Tijssen MA, Bressman SB, Dobyns WB, Brashear A and Ozelius LJ. Mutations in the Na⁺/K⁺-ATPase alpha3 gene ATP1A3 are associated with rapid-onset dystonia parkinsonism. *Neuron* 43: 169-175, 2004.
4. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P and Casari G. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na⁺/K⁺ pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 33: 192-196, 2003.
5. De Pont JJHMH. How I became a biochemist. *IUBMB Life* 57: 829-831, 2005.
6. Dean RB. Theorise of electrolyte equilibrium in muscle. *Biol Symp* 3: 331-334, 1941.
7. Ferrari P, Ferrandi M, Valentini G and Bianchi G. Rostafuroxin: an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na⁺-K⁺-ATPase alterations in ouabain and adducin-dependent hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R529-R535, 2006.
8. Janssen JJM, Mulder WR, De Caluwé GLJ, Vlak JM and De Grip WJ. In vitro expression of bovine opsin using recombinant baculovirus: the role of glutamic acid (134) in opsin biosynthesis and glycosylation. *Biochim Biophys Acta* 1089: 68-76, 1991.
9. Klaassen CHW, Van Uem TJE, De Moel MP, De Caluwé GLJ, Swarts HGP and De Pont JJHMH. Functional expression of gastric H,K-ATPase using the baculovirus expression system. *FEBS Lett* 329: 277-282, 1993.
10. Koenderink JB, Hermsen HPH, Swarts HGP, Willems PHGM and De Pont JJHMH. High-affinity ouabain binding by a chimeric gastric H⁺,K⁺-ATPase, containing transmembrane hairpins M3-M4 and M5-M6 at the α-subunit of rat Na⁺,K⁺-ATPase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 11209-11214, 2000.
11. MacLennan DH, Brandl CJ, Korczak B and Green NM. Amino-acid sequence of a Ca²⁺ + Mg²⁺-dependent ATPase from rabbit muscle sarcoplasmic reticulum, deduced from its complementary DNA sequence. *Nature* 316: 696-700, 1985.
12. Meisenberg G. and Simmons W.H. *Principles of Medical Biochemistry*. Mosby Elsevier, 2006.
13. Moseley AE, Williams MT, Schaefer TL, Bohanan CS, Neumann JC, Behbehani MM, Vorhees CV and Lingrel JB. Deficiency in Na,K-ATPase alpha isoform genes alters spatial learning, motor activity, and anxiety in mice. *J Neurosci* 27: 616-626, 2007.
14. Price EM and Lingrel JB. Structure-function relationships in the Na,K-ATPase α-subunit: site-directed mutagenesis of glutamine-111 to arginine and asparagine-122 to aspartic acid generates a ouabain-resistant enzyme. *Biochemistry* 27: 8400-8408, 1988.
15. Qiu LY, Krieger E, Schaftenaar G, Swarts HGP, Willems PHGM, De Pont JJHMH and Koenderink JB. Reconstruction of the complete ouabain-binding pocket of Na,K-ATPase in gastric H,K-ATPase by substitution of only seven amino acids. *J Biol Chem* 280: 32349-32355, 2005.
16. Schatzmann HJ. Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium und Natriumtransport durch die Erythrozytenmembran. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 11: 346-354, 1953.
17. Schoner W. Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. *Eur J Biochem* 269: 2440-2448, 2002.
18. Shull GE, Schwartz A and Lingrel JB. Amino-acid sequence of the catalytic subunit of the (Na⁺,K⁺)ATPase deduced from a complementary DNA. *Nature* 316: 691-695, 1985.
19. Skou JC. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochim Biophys Acta* 23: 394-401, 1957.
20. Skou JC. Further investigations on a Mg⁺⁺ + Na⁺ activated adenosinetriphosphatase, possibly related to the active, linked transport of Na⁺ and K⁺ across the nerve membrane. *Biochim Biophys Acta* 42: 6-23, 1960.
21. Skou JC. The identification of the sodium pump. *Bioscience Rep* 18: 155-169, 1998.
22. Stichting Pharmaceutische Kerngetallen. Unieke leveringen in top 10. *Pharmaceutisch Weekblad* 142: 2007.
23. Toyoshima C and Inesi G. Structural basis of ion pumping by Ca²⁺-ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Annu Rev Biochem* 73: 269-292, 2004.
24. Toyoshima C, Nakasako M, Nomura H and Ogawa H. Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature* 405: 647-651, 2000.