

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/2066/30003>

Please be advised that this information was generated on 2021-01-23 and may be subject to change.

Biomoleculen in optima forma

INAUGURELE REDE DOOR PROF. DR. GER J.M. PRUIJN

Radboud Universiteit Nijmegen



INAUGURELE REDE
PROF. DR. GER J.M. PRUIJN



Het humane genoom bevat verrassend weinig eiwitcoderende genen. Toch blijkt dit beperkte aantal genen in staat een complex organisme als de mens te kunnen laten functioneren. Dat kan, zo legt Ger Pruijn in zijn entreerede als hoogleraar Biomoleculaire Chemie uit, doordat de genproducten

modificaties ondergaan en zo tot een grote diversiteit van biomoleculen leiden. Enzymen en enzymcomplexen spelen daarbij een cruciale rol. Er is grote behoefte aan de ontwikkeling van nieuwe technologieën om specifieke modificaties van biomoleculen te bestuderen. Verstoring van de modificatieprocessen kan ingrijpende gevolgen hebben voor het functioneren van een organisme. Bij de mens kan het bijvoorbeeld leiden tot auto-immuunziekten. Meer inzicht in de processen kan betere diagnostiek en therapieën voor deze ziekten opleveren.

Ger Pruijn (1959) studeerde van 1978 tot 1984 chemie aan de Radboud Universiteit Nijmegen en promoveerde in 1989 aan de Universiteit Utrecht. Sinds 1988 is hij verbonden aan de afdeling Biochemie van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica van de Radboud Universiteit; sinds 2006 is hij hier hoogleraar Biomoleculaire Chemie. Hij doet fundamenteel biochemisch onderzoek naar de structuur en functie van autoantigenen en verbindt dit met meer klinisch georiënteerd onderzoek naar auto-immuunziekten.

BIOMOLECULEN IN OPTIMA FORMA

Biomoleculen in optima forma

Rede in verkorte vorm uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Biomoleculaire Chemie aan de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica van de Radboud Universiteit Nijmegen op vrijdag 8 juni 2007

door prof. dr. Ger J.M. Pruijn

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

ISBN 978-90-9022028-4

© Prof. dr. Ger J.M. Pruijn, 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,*

Het was november 1963. Een kleuter klaagde opeens over pijn in zijn knie. Zijn ouders waren direct gealarmeerd, omdat er bij een oudere broer van het jongetje minder dan een jaar daarvoor poliomyelitis geconstateerd was en zij wisten dat deze aandoening gepaard kon gaan met dergelijke klachten. Overigens hadden beide kinderen een polio-ovaccinatie gekregen in het kader van het Rijksvaccinatieprogramma. Na enig onderzoek bleek er inderdaad sprake te zijn van deze door een poliovirusinfectie veroorzaakte ziekte. Tijdens een verblijf van enkele weken in het ziekenhuis werd de infectie bestreden en de ziekte genezen. Behoudens een groeiachterstand van een van zijn beentjes leidde de poliomyelitis niet tot blijvende gevolgen voor de kleuter. Alhoewel hij zich er niet van bewust zal zijn geweest, had de kleuter kennis gemaakt met een aantal intrigerende biochemische processen en de daarbij betrokken biomoleculen. Het poliovirus is namelijk opgebouwd uit vooral RNA en eiwitten, het vermenigvuldigt zich door cellen te infecteren en gebruik te maken van de biosynthetische processen die zich in die cellen afspelen. Het afweersysteem van het geïnfecteerde individu moet er alles aan doen om de infectie te bestrijden.

Het jongetje is inmiddels 43 jaar ouder en staat u hier vandaag toe te spreken. En waar gaat het over: RNA, eiwitten, biosynthese en het afweersysteem. U zou denken dat hij in al die tijd maar weinig opgeschoten is. Niets is minder waar. De bestudering van biomoleculen heeft in de laatste decennia een enorme ontwikkeling doorgemaakt. Als we dat wat we nu weten over de structuur en functie van biomoleculen vergelijken met dat wat er in 1963 bekend was, dan is het verschil minstens zo groot als het verschil in omvang van het telefoonboek van toen en nu, en dat inclusief alle mobiele aansluitingen.

Ik zal u vandaag een deel van deze kennis presenteren en u daarbij ook proberen duidelijk te maken dat we heel veel nog niet weten. Er is een aantal belangrijke families van biomoleculen. Ik zal me voornamelijk beperken tot twee klassen, RNA en eiwitten, beide biomoleculen die als directe producten van genen beschouwd kunnen worden. Bovendien zal mijn presentatie vooral betrekking hebben op de biomoleculen van de mens.

EEN OPTIMAAL AANTAL GENEN?

In mei 2000 waren genonderzoekers uit de hele wereld bijeen op hun jaarlijkse congres in Cold Spring Harbor in de Amerikaanse staat New York. Het was in de periode dat het in kaart brengen van het menselijke genoom zijn voltooiing naderde. Na een dag discussiëren over de vraag hoeveel genen de mens heeft, lieten de onderzoekers zich

's avonds, na het nuttigen van een aantal glazen alcoholhoudende drank, verleiden tot een weddenschap. Zij konden deelnemen door het aantal menselijke genen te raden, met een dollar als inzet per schatting. Afgesproken werd dat de pot in 2003 uitgekeerd zou worden aan degene wiens schatting het dichtst bij het werkelijke aantal genen lag. De schattingen varieerden van 26.000 tot 153.000. Via internet werd de weddenschap na het congres voortgezet, waarbij de schattingen vreemd genoeg hoger en hoger werden. Op het congres in 2003 werd echter vastgesteld dat de mens niet meer dan 30.000 eiwitcoderende genen heeft. Degene met de laagste schatting, Lee Rowen uit Seattle met een schatting van 25.947 genen, werd tot winnaar van de weddenschap uitgeroepen, mede omdat nog steeds niet vaststond hoeveel genen de mens nu precies had en omdat het werkelijke aantal in ieder geval vele malen lager was dan wat vrijwel iedereen gedurende lange tijd voor mogelijk had gehouden (Pennisi 2003). De twee concurrerende onderzoeksgroepen die het humane genoom in kaart brachten, waren het erover eens dat het aantal eiwitcoderende genen tussen 20.000 en 35.000 zou liggen. Dit lage aantal ervoeren veel wetenschappers als een schok, omdat men lange tijd dacht dat het aantal genen gekoppeld zou zijn aan de complexiteit van het organisme. Nu bleek echter dat de mens niet meer dan anderhalf maal het aantal genen bezit dat voorkomt in het wormpje dat gedurende lange tijd door onze huidige minister van Onderwijs, Cultuur en Wetenschap, Ronald Plasterk, bestudeerd is.

Het zal waarschijnlijk nog jaren duren voordat het exacte aantal menselijke genen bekend is. De belangrijkste reden voor de onzekerheid is dat er verschillende computerprogramma's gebruikt worden om genen in het genoom te vinden. Elk van deze programma's heeft zijn beperkingen en daardoor kunnen snel te hoge of te lage schattingen ontstaan. Met name kleine genen zijn moeilijk te vinden, sommige genen coderen alleen voor RNA en niet voor eiwit, twee genen kunnen overlappen en er kunnen andere complicaties zijn. Uiteindelijk zullen alle door computers voorspelde genen geverifieerd moeten worden door arbeidsintensieve analyses in het laboratorium, voordat definitieve conclusies over het aantal menselijke genen getrokken kunnen worden (Stein 2004).

Niettemin leidde de nieuwe kennis over het menselijke genoom tot de volgende vraag: hoe krijgt een betrekkelijk klein aantal genen het voor elkaar om complexe organismen als de mens in al hun verscheidenheid 'vast te leggen'? Ofwel: hoe kunnen relatief weinig genen de informatie bevatten voor al onze kenmerken? Om deze vraag te beantwoorden zal er nog veel onderzoek nodig zijn. We weten inmiddels wel dat het oude dogma 'één gen, één eiwit, één eigenschap' eerder de uitzondering is dan de regel. Complexe kenmerken zullen in het algemeen het resultaat zijn van een ingewikkeld samenspel van genproducten. Daarbij kunnen sommige genproducten elkaars werk overnemen en kunnen ze tegelijkertijd invloed hebben op meer dan één kenmerk. Andere niveaus waarop een grotere variatie in genproducten verkregen wordt, zijn de

moleculaire veranderingen die RNA en eiwitmoleculen kunnen ondergaan. Hier zal ik wat meer in detail op ingaan.

RNA IN OPTIMA FORMA

De complexiteit van een organisme als de mens met een zo verrassend laag aantal genen is deels een gevolg van het feit dat één gen kan leiden tot meer genproducten. Veel van die genproducten zijn eiwitten. Zoals hierboven reeds vermeld zegt het centrale dogma van de moleculaire biologie dat één gen codeert voor één eiwit en verantwoordelijk is voor één bepaalde eigenschap. Denk maar aan de kleur van uw ogen, de vorm van uw neus of uw bloedgroep. De informatiestroom van gen naar eiwit verloopt via RNA, dat chemisch sterk verwant is aan DNA, de moleculaire component van genen. Het kopiëren van een gen naar RNA, boodschapper-RNA of kortweg mRNA genaamd, verloopt in eerste instantie één-op-één, dat wil zeggen dat er een RNA wordt gemaakt met dezelfde nucleotidensequentie en dus dezelfde genetische informatie als het DNA waar het van afgeleid is. Dit RNA ondergaat vervolgens een reeks van moleculaire veranderingen die cruciaal zijn voor de juiste vertaling van de informatie op het RNA in eiwit.

Een van deze veranderingen is het verwijderen van intronen tijdens het proces dat met pre-mRNA-splicing aangeduid wordt. Hierbij ondergaat het RNA een bewerking waarbij niet-relevante (niet-coderende) stukken uit het RNA verwijderd worden. Dit is enigszins vergelijkbaar met een televisieprogramma op een commerciële zender dat voortdurend onderbroken wordt door reclameblokken. Als de reclameblokken eruit geknipt zouden worden, zou het programma aaneengesloten zonder storende onderbrekingen bekeken kunnen worden. Nou is het zo dat hoe complexer het organisme is, hoe meer genen door intronen onderbroken worden. Bij de mens bevat een gen gemiddeld zeven intronen. Een extreem geval is het titinegen, dat codeert voor een eiwit dat als een moleculaire veer werkt in de hartspier en maar liefst 362 intronen bevat.

Bij veel genen komt het voor dat het verwijderen van intronen niet altijd op dezelfde wijze gebeurt. Een intron kan bijvoorbeeld in combinatie met een naburig intron en het tussenliggende gebied verwijderd worden. Er kan ook een deel van een intron achterblijven. In zulke gevallen is er sprake van alternatieve splicing. Recente gegevens tonen aan dat maar liefst 76 procent van de menselijke genen tot alternatief 'gesplijcte' boodschapper-RNA's leidt (Johnson 2003). En in veel gevallen betreft dit meer dan twee verschillende varianten. Aangezien boodschapper-RNA's vervolgens vertaald worden in eiwitten, worden via dit proces verschillende eiwitproducten gegenereerd die afgeleid zijn van hetzelfde gen, maar die belangrijke functionele verschillen kunnen vertonen. Vaak is een functioneel domein in de ene variant aanwezig en in de andere variant afwezig. Zo kunnen bindingseigenschappen, de intracellulaire lokalisatie, de enzymatische activiteit en de stabiliteit verschillen. Meer ingrijpende effecten die op

kunnen treden, zijn het uitschakelen van de functie van één variant door een andere en het creëren van een niet-functioneel RNA, waardoor het betreffende eiwit helemaal niet meer aangemaakt wordt. Via alternatieve splicing kan dus zowel de samenstelling als de hoeveelheid van een genproduct gereguleerd worden. Het zal duidelijk zijn dat dit proces een aanzienlijke bijdrage kan leveren aan de diversificatie van genproducten.

Behalve het verwijderen van intronen uit RNA-moleculen, worden veel RNA's ook op een andere wijze posttranscriptioneel gemodificeerd. Met name in de niet-coderende RNA's worden op grote schaal andere nucleosiden, de bouwstenen van RNA en DNA, aangetroffen dan de vier nucleosiden die bij het kopiëren van DNA in RNA ingebouwd worden (The RNA modification database). Er zijn tot nu toe 96 verschillende nucleosiden in RNA moleculen beschreven. Een veel voorkomende vorm van nucleosidemodificatie is methylering, waarbij een methylgroep op diverse posities aan een nucleoside gekoppeld kan worden. De belangrijkste effecten van zulke RNA-veranderingen zijn het bevorderen van de correcte driedimensionale structuur, het verhogen van de stabiliteit en het stimuleren van de functie van het betreffende RNA.

Niet-coderende RNA's (ncRNA)

In combinatie met het genomonderzoek hebben recente doorbraken op het gebied van RNA-biologie een grote hoeveelheid bewijs geleverd dat RNA veel meer is dan alleen een klasse van biomoleculen die verantwoordelijk is voor de overdracht van genetische informatie van DNA naar eiwit. Reeds lang is bekend dat RNA-moleculen niet alleen als informatiedrager, maar ook als katalysator kunnen fungeren. Mede hierdoor heeft het concept RNA-wereld vorm gekregen, een periode waarin RNA een centrale rol speelde bij het ontstaan van het leven op aarde (Gilbert, 1986). Ook in de moderne eiwit/DNA-wereld worden nog diverse biosynthetische processen gekatalyseerd door RNA-moleculen. Een mooi voorbeeld is het ribosoom, een groot complex van RNA en eiwitten dat verantwoordelijk is voor de vorming van peptidebindingen bij eiwitsynthese. Na de opheldering van de eerste driedimensionale structuur van het ribosoom in 2000 werd duidelijk dat een van de RNA-componenten deze reactie katalyseert en dat de geassocieerde eiwitten vooral van belang zijn voor het in stand houden van de juiste structuur van het ribosomale RNA.

Gedurende de laatste jaren is gebleken dat RNA op uitgebreide schaal betrokken blijkt te zijn bij regulatieprocessen die van grote invloed zijn op genexpressie (Prasanth & Spector, 2007). Er is onlangs geschat dat ongeveer 98 procent van het RNA dat gesynthetiseerd wordt op het menselijke genoom, niet voor eiwitten codeert (Mattick 2005). Dit impliceert dat er ofwel een enorme hoeveelheid nutteloos RNA gesynthetiseerd wordt, ofwel dat deze niet-coderende RNA's een reeks onverwachte functies vervullen. Recente onderzoeksresultaten tonen aan dat niet-coderende RNA's inderdaad een bijdrage leveren aan de complexe netwerken die de functie van een cel reguleren. Niet-

coderende RNA's kunnen onderverdeeld worden in twee klassen, de zogeheten huishoud-RNA's en de regulerende RNA's. Huishoud-RNA's worden in alle cellen gesynthetiseerd en zijn vereist voor de normale functie van de cel. Voorbeelden zijn transfer-RNA's, ribosomale RNA's en kleine nucleaire en nucleolaire RNA's. Regulerende niet-coderende RNA's, ook wel riboregulatoren genoemd, zijn de niet-coderende RNA's die gesynthetiseerd worden in bepaalde stadia van de ontwikkeling, tijdens celdifferentiatieprocessen of als reactie op externe signalen. Riboregulatoren kunnen op verschillende niveaus invloed uitoefenen op de expressie van andere genen (Carthew, 2006). De bekendste familie van riboregulatoren wordt gevormd door de micro-RNA's, zeer kleine RNA's die de vertaling van RNA naar eiwit kunnen reguleren.

RNA modifierende enzymen

Nagenoeg alle coderende en niet-coderende RNA's worden gesynthetiseerd als moleculen die nog de nodige aanpassingen nodig hebben alvorens ze hun functie kunnen vervullen. Het verwijderen van intronen uit RNA, het modifieren van nucleosiden in RNA en andere aanpassingen zijn ingewikkelde processen die in het algemeen niet spontaan verlopen. Er zijn enzymen nodig om deze processen te katalyseren. Veel van deze enzymen bestaan uit meer componenten, hebben een complexe opbouw en vertonen een hoge mate van specificiteit voor substraat-RNA's. Voorbeelden zijn U1 snRNP, een enzym dat betrokken is bij de selectie van de juiste splicingsplaatsen, RNase MRP, een enzym dat in staat is om bepaalde RNA's in twee stukken te knippen, U3 snRNP, dat eveneens fungeert als een RNA-schaar, Ro RNP, dat een rol speelt bij kwaliteitscontrole van RNA en het exosoom, dat vanaf het uiteinde RNA kan inkorten en afbreken. Dit zijn allemaal complexen van meer biomoleculen, die gezamenlijk de enzymatische functie vervullen.

Een klasse van RNA's die tal van veranderingen ondergaat tussen synthese en functievervulling, is het eerder genoemde ribosomale RNA. Ribosomaal RNA wordt in een specifiek compartiment van de celkern, de nucleolus, gesynthetiseerd. De RNA-kopie van het gen, het primaire transcript, bevat de informatie voor een drietal ribosomale RNA's. Via een reeks van opeenvolgende modificatiestappen worden deze drie RNA-moleculen gevormd uit het primaire transcript. Deze modificaties betreffen zowel het knippen van de RNA-keten in verschillende fragmenten, het inkorten van deze ketens vanaf de knipplaatsen als het modifieren van nucleosiden in de RNA-ketens.

Bovengenoemde enzymen zijn allemaal betrokken bij deze modificaties en spelen daarbij een specifieke rol. Om meer inzicht te krijgen in het werkingsmechanisme van deze enzymen is het van belang om hun samenstelling, structuur en functionele activiteit nader te bestuderen. Gedurende de laatste tien jaar hebben diverse promovendi en postdocs op onze afdeling hieraan onderzoek verricht en een forse bijdrage geleverd aan onze huidige kennis over deze en soortgelijke enzymcomplexen.

We weten inmiddels dat de functie van de meeste van deze enzymen niet beperkt is tot de correcte productie van één specifiek RNA, zoals het ribosomale RNA, maar dat een cel ook andere RNA's bevat waarop ze hun modificerende werking uit kunnen oefenen. Zo is het exosoom bijvoorbeeld betrokken bij de inkorting van heel veel verschillende RNA's en is het bovendien medeverantwoordelijk voor de afbraak van veel RNA's die hun functie vervuld hebben. Dit betekent ook dat de activiteit van deze enzymen goed gereguleerd moet worden. Het exosoom is te vergelijken met een houtversnipperaar en de te versnipperen takken, de RNA-moleculen, moeten nauwgezet geselecteerd worden om niet te veel schade aan te richten in een cel. Daar zijn weer allerlei andere eiwitten, mannetjes die de versnipperaar bedienen, bij betrokken. Over de regulatie van de activiteit van zulke enzymen en enzymcomplexen is nog maar weinig bekend en dat brengt mij op een aantal onderzoeksvragen die in de nabije toekomst veel aandacht zullen krijgen:

- Hoe verloopt de rijping van de vele niet-coderende RNA's?
- Hoe wordt de functie van RNA-modificerende enzymen gereguleerd?
- Welke RNA-moleculen worden door deze enzymen gemodificeerd naast de reeds bekende?
- Wat zijn de gevolgen van mutaties, waardoor deze enzymen niet meer goed functioneren?

En als we de doorbraken op het gebied van RNA van de laatste decennia op een rijtje zetten – splicing, katalytisch RNA, RNA-interferentie, microRNA's, piRNA's – dan roept dat de vraag op welke verrassingen RNA-moleculen nog meer voor ons in petto hebben.

EIWITTEN IN OPTIMA FORMA

Ook op het niveau van eiwitten vindt er op uitgebreide schaal diversificatie van genexpressie plaats. De polymerisatie van de twintig gecodeerde, 'primaire' aminozuren (eigenlijk 19 aminozuren en 1 iminozuur) volgens de sequentie-informatie die vastgelegd is in het DNA en het boodschapper-RNA en de daarop volgende vouwing van de lineaire polymeer in driedimensionale structuren, is meestal niet voldoende om tot een optimaal functionerend eiwit te leiden. Reeds lang voordat de genetische code ontrafeld werd, vond men in eiwitten aminozuurresiduen, die, naar later bleek, niet behoren tot de twintig primaire aminozuren. Het aantal aminozuren dat in eiwitten aangetroffen is, loopt in de honderden.

In de periode toen ik getroffen werd door een poliovirusinfectie, werd de samenstelling van veel eiwitten bestudeerd door deze te degraderen tot hun basale componenten en de resulterende aminozuren te analyseren. Er was in die tijd veel verwarring en een uitgebreid debat over de vraag hoeveel verschillende aminozuren er nu in eiwitten voorkomen. Het was niet bekend of de niet-primaire aminozuren door het ribosoom

in eiwitten geïncorporeerd werden, of het modificatie betrof van reeds gepolymeriseerde polypeptiden of dat het artefacten waren veroorzaakt door de toegepaste degradatie-procedures.

Na de ontdekking van de genetische code in 1966 werd duidelijk dat deze niet-primaire aminozuren het gevolg waren van veranderingen na de polymerisatie van de twintig primaire aminozuren, de zogeheten posttranslationele modificaties. Deze posttranslationele modificaties, meestal afgekort tot PTM's, zijn van cruciaal belang voor een optimaal functionerend eiwit. Het feit dat veel van de twintig primaire aminozuren elk een aantal verschillende modificaties kan ondergaan, biedt een enorm scala aan mogelijkheden om het aantal producten van één gen sterk te vermeerderen (Haurowitz, 1979; Yan et al., 1989). Een eiwit bestaande uit vijfhonderd aminozuren, bijvoorbeeld, dat op tien posities gemodificeerd kan worden, waarvan er vijf in twee verschillende varianten veranderd kunnen worden, levert al ruim 7500 theoretische verschijningsvormen op. Nu zullen in het algemeen niet al deze vormen naast elkaar voorkomen, maar het geeft wel aan dat dit proces een grote impact kan hebben op de diversificatie van genproducten. De meer dan tweehonderd verschillende typen PTM's die momenteel bekend zijn, betekenen gemiddeld meer dan tien verschillende modificaties per aminozuur. In combinatie met de complexiteit die gegenereerd wordt door alternatieve splicing, heeft dit geleid tot recente schattingen dat het aantal verschillende eiwit-moleculen dat in een mens tot expressie komt, dicht bij een miljoen ligt (Meri & Baumann, 2001). Naar alle waarschijnlijkheid is dit nog een zeer conservatieve schatting en zal het werkelijke aantal aanzienlijk hoger liggen (Nielsen et al., 2006).

De diversiteit veroorzaakt door PTM's wordt bovendien ook nog beïnvloed doordat een aantal van zulke posttranslationele modificaties reversibel is. Dat betekent dat de chemische verandering van het primaire aminozuur ook weer ongedaan gemaakt kan worden in de cel of het weefsel waar het betreffende eiwit voorkomt. Stabiele eiwit-modificaties, zoals disulfidevorming, glycosylering, lipideadditie en biotinylering zijn meestal essentieel voor de rijping van nieuw gesynthetiseerde eiwitten in moleculen met de juiste structurele en functionele toestand. De reversibele modificaties, zoals fosforylering, acetylering en methylering, spelen een belangrijke rol in de regulatie van de functie van het betreffende eiwit.

Analyse van posttranslationele modificaties

Posttranslationele modificatie is een belangrijke manier van eiwitregulatie die structuur, activiteit, specificiteit en lokalisatie van een eiwit in de cel kan beïnvloeden. De verschillende types van modificatie die kunnen optreden in een eiwit zijn meestal moeilijk te voorspellen op basis van de informatie van alleen de in de genen vastgelegde aminozuursequentie. Uitgebreid onderzoek is nodig om een goed beeld te krijgen van de PTM's in een eiwit. Daarbij kan de keuze van het bronmateriaal van invloed zijn op

het resultaat: de modificaties van een bepaald eiwit in één type cel of weefsel kunnen verschillen van die in een ander celtype. Voor reversibele modificaties is het resultaat afhankelijk van de mate waarin het betreffende eiwit in het bronmateriaal gemodificeerd is. Bovendien kunnen er tijdens de isolatie van het eiwit uit het bronmateriaal nog veranderingen optreden ten gevolge van het feit dat het eiwit uit zijn natuurlijke omgeving gehaald wordt en tijdelijk blootgesteld wordt aan andere factoren, zoals eiwitmodificerende enzymen. Hierdoor kan de bepaling van de modificatiestatus van een eiwit een ingewikkelde en moeilijke klus zijn.

Een technologie die het onderzoek naar PTM's een enorme impuls gegeven heeft, is de analyse van eiwitten met massaspectrometrie. Hiermee kan met relatief weinig materiaal voor veel modificaties met grote nauwkeurigheid vastgesteld worden welke modificaties er in een eiwit aanwezig zijn en op welke positie deze zich bevinden. De apparatuur die bij deze techniek toegepast wordt, kan omschreven worden als een moleculaire weegschaal. PTM's veranderen het 'gewicht' van een eiwit, dat via deze techniek bepaald kan worden. Tot voor kort was er nog de beperking dat het eiwit eerst in stukjes opgedeeld moest worden, die elk individueel 'gewogen' konden worden. Daardoor was het nog lastig om een totaalplaatje te krijgen van de modificatiestatus van een eiwit. De stormachtige ontwikkeling die de zogeheten topdown massaspectrometrie de laatste jaren doorgemaakt heeft, biedt echter grote toepassingsmogelijkheden voor de karakterisatie van de modificaties in een compleet eiwit (Han 2006).

Dat wil echter niet zeggen dat er geen behoefte is aan nieuwe biochemische reagentia om modificatie van eiwitten in hun natuurlijke omgeving, in een cel of in weefsel, te kunnen bestuderen. Deze mogelijkheid biedt massaspectrometrie immers niet. Hiervoor zijn moleculen nodig die met hoge specificiteit bepaalde structuren op eiwitten kunnen herkennen en binden. Antilichamen zijn moleculen die bij uitstek geschikt zijn voor dit soort toepassingen. En inderdaad zijn er al duizenden antilichamen ontwikkeld die alleen binden aan een eiwit als daarop een bepaalde modificatie aanwezig is. De grote meerderheid van deze antilichamen is echter specifiek voor een bepaald eiwit en kan dus alleen toegepast worden voor de bestudering van de modificatie van alleen dat eiwit.

Er zijn nog maar weinig antilichamen die specifiek een gemodificeerd aminozuur herkennen ongeacht de aard van het eiwit waarin dat aminozuur zich bevindt. Dit is niet zo vreemd, aangezien de omvang van de plaats op een eiwit die door een antilichaam gebonden wordt, het epitoom, doorgaans aanzienlijk groter is dan het gemodificeerde aminozuur. Daarom is het een grote uitdaging om voor verschillende klassen van PTM's antilichamen of andere moleculen te ontwikkelen die binden aan eiwitten op een modificatieafhankelijke wijze, maar waarvan de binding niet of maar beperkt afhankelijk is van de omgeving van het gemodificeerde aminozuur. Dat dit mogelijk is, hebben wij onlangs aangetoond voor het tweevoudig gemethyleerde arginine-amino-

zuur. Via een ingewikkelde immunisatie- en zuiveringsprocedure zijn we erin geslaagd antilichamen te genereren die specifiek binden aan gemethyleerde arginines in een eiwit, waarbij de identiteit van de aminozuren die zich in de nabijheid van het arginine bevinden niet of nauwelijks van belang is. Aangezien het chemische verschil tussen eiwit met arginine en hetzelfde eiwit met tweevoudig gemethyleerd arginine relatief klein is, lijkt dit een aantrekkelijke benadering om ook toe te passen voor andere vormen van posttranslationele modificaties.

Een alternatief voor de antilichamen om gemodificeerde aminozuren in eiwitten op een sequentieonafhankelijke wijze te detecteren, bieden de zogeheten aptameren. Aptameren zijn relatief kleine nucleïnezuren, meestal RNA, die geselecteerd worden op basis van hun vermogen om specifiek een binding aan te gaan met een ander molecuul. In theorie kunnen er ook aptameren ontwikkeld worden die kunnen binden aan gemodificeerde aminozuren in eiwitten. Deze optie wordt ondersteund doordat er reeds een aantal aptameren is beschreven die binden aan vrije aminozuren, dat wil zeggen aminozuren die niet in eiwitten ingebouwd zijn (Patel 2000). Een voorbeeld is het aptameer voor het aminozuur citrulline, een RNA-molecuul van 44 nucleotiden dat op drie posities verschilt van het aptameer dat bindt aan het gerelateerde aminozuur arginine.

Belangrijke voordelen van de isolatie en het gebruik van aptameren is dat er geen proefdieren nodig zijn om zulke moleculen te genereren en dat men niet afhankelijk is van de antigeniciteit van de doelstof.

PTM en eiwitfunctie

Direct na de ontdekking van de genetische code was het biologische belang van posttranslationele modificaties grotendeels onbekend. Ondanks het feit dat er sindsdien voor een groot aantal eiwitten vastgesteld is wat de functie is van specifieke modificaties die deze eiwitten ondergaan, is onze kennis over posttranslationele modificaties op proteoomniveau nog zeer beperkt. Zeker wanneer we de omvang van door posttranslationele modificatie geïntroduceerde heterogeniteit in ogenschouw nemen. Wat is de functie van zulke modificaties? Zijn deze allemaal nuttig en essentieel of zijn het slechts bijproducten van reacties die verlopen omdat substraat en enzym elkaar toevallig treffen? En wat is de wisselwerking tussen verschillende modificaties op hetzelfde eiwitmolecuul? De meeste eiwitmoleculen zullen immers tegelijkertijd meer modificaties bevatten.

In verreweg de meeste gevallen zullen de modificaties van groot belang zijn voor het functioneren van het eiwit. U kunt dit vergelijken met een nieuw huis dat casco opgeleverd is. Er zijn in zo'n geval nog veel ingrepen nodig om het huis bewoonbaar en functioneel te maken. De hydroxylering van proline in het eiwit collageen is bijvoorbeeld van essentieel belang voor het handhaven van bindweefsel. Insuline zou niet

werken zonder de daarin aanwezige zwavelbruggen. Splicing zou niet verlopen wanneer een aantal daarbij betrokken eiwitten niet gefosforyleerd en gemethyleerd zou zijn. En zo zijn er tal van andere voorbeelden.

De eiwitsamenstelling van een cel kan in de loop van de tijd sterk veranderen, door genetische factoren of invloeden van buitenaf. Bij proteomics wordt gekeken welke eiwitten in welke hoeveelheden in een cel voorkomen; dit levert een eiwitprofiel. Daarnaast worden ook de interacties tussen eiwitten onderzocht: het functionele netwerk (Albeck et al., 2006). Het is evident dat er bij de bestudering van het totale eiwitprofiel en het functionele netwerk ook rekening moet worden gehouden met de verschillende verschijningsvormen van eiwitten als gevolg van posttranslationele modificaties. Hierin schuilt ook gelijk de kracht en het belang van proteomics. De invloed van zulke modificaties kan immers nooit via mRNA-profielanalyses bestudeerd worden.

Functionele eiwit-eiwitinteractienetwerken zijn voortdurend aan veranderingen onderhevig. Als gevolg of als onderdeel van signaleringspaden vormen met name intracellulaire netwerken een dynamisch geheel, waarin afhankelijk van de staat van de cel of het weefsel en de beïnvloeding door signaleringsmoleculen de samenstelling van de netwerken en de functionaliteit van de betrokken eiwitten verandert. Eiwitmodificaties spelen hierbij een centrale rol. Omdat de meeste eiwitten meer modificaties zullen bevatten en de specifieke combinatie daarvan bepalend zal zijn voor de functionaliteit, zullen toekomstige studies meer en meer gericht moeten zijn op het in kaart brengen van zulke dynamische ‘moleculaire streepjescodes’ (Yang, 2005).

Eiwitmodificerende enzymen

Ook al kunnen eiwitmodificaties spontaan plaatsvinden, de meeste PTM's zullen gegenereerd worden met behulp van enzymen, meestal eiwitten die in staat zijn om de modificatie van andere eiwitten te katalyseren. Omdat er vele verschillende vormen van eiwitmodificatie bestaan, zijn er ook vele enzymen die deze modificaties aan kunnen brengen. Zo zijn er honderden eiwitkinasen, enzymen die eiwitten kunnen fosforyleren, tientallen eiwitmethyltransferasen, enzymen die eiwitten kunnen methyleren, een vijftal peptidylargininedeiminasen, enzymen die eiwitten kunnen citrullineren enzovoort. Om eiwitmodificatieprocessen te begrijpen is het van cruciaal belang om inzicht te krijgen in de werking van deze enzymen. Hoe wordt de activiteit van deze enzymen gereguleerd? Welke eiwitten kunnen door deze enzymen gemodificeerd worden? En bij welke signaleringspaden zijn deze enzymen betrokken? Allemaal vragen die voor een aantal enzymen reeds bestudeerd zijn, onder andere door een aantal medewerkers van onze afdeling, maar die nog voor een groot aantal eiwitmodificerende enzymen beantwoord moeten worden.

Gezien het dynamische karakter van veel modificaties is het wenselijk dat er methoden ontwikkeld worden, die het mogelijk maken om de activering van zulke

enzymen in de levende cel te bestuderen. Hiervoor is het noodzakelijk dat chemici en moleculair biologen intensief samenwerken om de juiste reagentia en procedures te ontwikkelen om deze onderzoeksvragen te kunnen beantwoorden. Dit heeft hier in Nijmegen onder meer geleid tot een ‘Chemical Biology’ initiatief, waarin organisch chemici en biochemici samenwerken. Dit samenwerkingsverband biedt unieke mogelijkheden om de bestudering van eiwitmodificerende enzymen in de levende cel een belangrijke impuls te geven.

BIOMOLECULEN IN SUBOPTIMA FORMA

Eigenlijk is het verbazingwekkend om te constateren dat er, gezien de grote complexiteit van de processen waarbij biomoleculen betrokken zijn, zoveel goed gaat. De evolutie heeft er uiteraard in hoge mate aan bijgedragen dat de meest robuuste biomoleculaire systemen in de meeste cellen en weefsels operationeel zijn. Niettemin gaat er echter ook wel eens iets mis. Mutaties in de genen kunnen ertoe leiden dat de door de betreffende genen gecodeerde RNA- of eiwitmoleculen niet meer goed functioneren. Zoals bekend kan dit zeer ingrijpende gevolgen hebben voor een organisme. Met name kanker is een aandoening die veelvuldig gepaard gaat met mutaties in eiwitcoderende genen. Deze kunnen zowel de expressie, de splicing op RNA-niveau als de functionaliteit van het corresponderende eiwit beïnvloeden.

Mutaties kunnen ook optreden in genen van niet-coderende RNA's. De functie van de betreffende RNA's kan hierdoor verstoord worden. Een mooi voorbeeld is het zogeheten RNase MRP, dat werkt als een RNA-knippend enzym. Een aantal jaren geleden hebben we in samenwerking met een onderzoeksgroep in Helsinki gevonden dat de ziekte cartilage-hair hypoplasie, een erfelijke ziekte die gekenmerkt wordt door een specifieke vorm van dwerggroei, veroorzaakt wordt door mutaties in het RNA dat onderdeel vormt van het RNase MRP. Een uitdaging van ons huidige onderzoek is om de gevolgen van deze mutaties voor het functioneren van dit enzym te begrijpen.

Zoals hierboven beschreven zijn posttranslationele modificaties van groot belang voor het genereren van optimaal functionerende eiwitten. Maar wat gebeurt er nu als er bij dat proces van eiwitmodificatie ergens iets mis gaat? Wat zijn de gevolgen van het niet aanbrengen van een cruciale modificatie? Wat is de invloed van spontane, ongecontroleerde modificaties, die bijvoorbeeld bij langlevende eiwitten tijdens veroudering op kunnen treden? En wat zijn de gevolgen van blootstelling van een eiwit aan eiwitmodificerende enzymen onder ongebruikelijke omstandigheden, zoals tijdens celdood? Veel van zulke vragen kunnen nog niet beantwoord worden, maar er is wel een aantal aanwijzingen dat dergelijke verstoringen tot ziekteprocessen aanleiding kunnen geven.

Een belangrijk doel van proteomics is het koppelen van eiwitprofielen, specifieke veranderingen en functionele netwerken aan bijvoorbeeld celdifferentiatie – hoe ontstaan verschillende cellen? – maar ook aan het ontstaan van ziekten. Bij veel ziekten

speelt namelijk een fout in een eiwit of een verstoorde interactie tussen eiwitten een cruciale rol.

Directe aanwijzingen voor de associatie van posttranslationale modificaties en ziekten komen van de gevolgen van mutaties in eiwitmodificerende enzymen. Mutaties die de functionele activiteit van zulke enzymen beïnvloeden, zullen immers direct gevolgen hebben voor de modificatie van substraateiwitten. Op basis van de centrale rol die eiwitkinasen, enzymen die een fosfaatgroep kunnen koppelen aan aminozuren met een hydroxylgroep in een eiwit, innemen in signaaltransductieprocessen, is het niet vreemd dat juist deze familie van enzymen veel in verband is gebracht met het ontstaan van ziekten. Dit betreft vooral ziekten die het gevolg zijn van een verstoorde controle van de celdeling, zoals diverse vormen van kanker. Daarnaast zijn kinasen ook van belang voor een correcte regulatie van het immuunsysteem. Een verstoring van ons immuunsysteem kan uiteenlopende gevolgen hebben. Enerzijds kan een afzwakking leiden tot een verhoogde gevoeligheid voor infecties, zoals bij aids. Anderzijds kan een te hoge activiteit van het immuunsysteem leiden tot allergie of auto-immuniteit.

Auto-immuniteit is een thema dat Walther van Venrooij, Martin Salden en Winand Habets jaren geleden op ons laboratorium introduceerden. Een centrale vraag is waarom het immuunsysteem van auto-immuunpatiënten zich tegen componenten van het eigen lichaam richt. Inmiddels is duidelijk dat hieraan een combinatie van factoren ten grondslag ligt. Hiertoe behoren genetische factoren – bepaalde mensen hebben een hogere kans op het ontwikkelen van een bepaalde auto-immuunziekte dan andere – maar ook omgevingsfactoren. Blootstelling aan bepaalde stoffen of microben kan de ontwikkeling van een auto-immuunziekte stimuleren. Roken bijvoorbeeld leidt tot een verhoogd risico op het ontwikkelen van reuma. Een belangrijke vraag is nu wat de invloed van blootstelling aan dergelijke stoffen is op de biomoleculen, meestal eiwitten, waartegen de auto-immunreactie zich ontwikkelt. Een populaire hypothese stelt dat een dergelijke blootstelling op relatief grote schaal celdood induceert en dat de eiwitmodificaties die daarmee gepaard gaan, het immuunsysteem aanzetten tot een reactie, omdat er juist als gevolg van de modificaties geen tolerantie bestaat (Hof, 2007). Deze hypothese wordt door diverse waarnemingen ondersteund. Ten eerste worden veel van de biomoleculen waartegen het immuunsysteem zich richt bij auto-immuunziekten, gemodificeerd tijdens celdoodprocessen. Verder zijn bij een aantal auto-immuunziekten defecten waargenomen in het vermogen om resten van dode cellen op te ruimen. Ten derde zijn er autoantilichamen gevonden die specifiek gericht zijn tegen de gemodificeerde biomoleculen. En ten slotte worden de autoantilichamen tegen gemodificeerde biomoleculen al vroeg tijdens de ziekteontwikkeling gevonden. De verschillen tussen de diverse auto-immuunziekten kunnen verklaard worden door verschillen in de genetische factoren, verschillen in de omgevingsfactor en de vorm

van celdood, verschillen in de weefsels waarin de celdood plaatsvindt, en/of verschillen in de modificaties die het immuunsysteem aan kunnen zetten tot een reactie.

Volgens deze theorie wordt het immuunsysteem bij auto-immuunpatiënten dus in een vroeg stadium van het ziekteproces gestimuleerd door posttranslationeel gemodificeerde autoantigenen waartegen geen tolerantie bestaat (Cloos & Christgau, 2004). Omdat het vaak lange tijd duurt voordat de ziekte zich dusdanig ontwikkeld heeft dat de patiënt bij een klinisch specialist terechtkomt, is het voor onderzoekers lastig om aan goed onderzoeksmateriaal te komen. Bovendien kan men een patiënt met type 1 diabetes natuurlijk niet beroven van zijn pancreas en kan men van een multiplesclerosepatiënt niet zomaar wat hersenweefsel afnemen. Onderzoekers zijn daarom voor de bestudering van deze ziekten en de moleculaire en cellulaire aspecten daarvan grotendeels aangewezen op dier- en celkweekmodellen.

De resultaten van ons onderzoek naar de vroege immuunrespons bij reumatoïde artritis en het SLE-overlapsyndroom MCTD bevestigen inderdaad de cruciale rol die posttranslationale modificaties daarbij kunnen spelen. Zo blijkt het niet-primaire aminozuur citrulline van cruciaal belang voor de auto-immuunrespons bij reumatoïde artritis, zoals door diverse onderzoekers in onze groep aangetoond is. Behalve het verschaffen van meer inzicht in het ziekteproces kan deze kennis ook bijdragen aan de ontwikkeling van diagnostica, zoals in het geval van reumatoïde artritis, en leiden tot nieuwe ideeën voor de ontwikkeling van geneesmiddelen. Daarom concludeer ik dat het van groot belang is om onderzoek naar de moleculaire aspecten van auto-immuniteit veel meer dan voorheen te concentreren op de vroege stadia van de ziekten.

OCTROOIEN EN KENNISBESCHERMING

Het zal duidelijk zijn dat kennis over de structuur en functie van biomoleculen belangrijk kan zijn voor de ontwikkeling van diagnostica en therapeutica. Kennis die voortkomt uit het hiervoor beschreven onderzoek heeft dus potentieel economische waarde. Kennisbescherming met octrooien kan een goede manier zijn om die waarde ook te verzilveren. Dat is in het belang van de onderzoeksgroepen, maar ook van de gezondheidszorg – een beschermde vinding zal eerder toepassing vinden dan een ontdekking die niet met een octrooi beschermd is. Een mooi voorbeeld is de CCP-test, een diagnostische test voor reumatoïde artritis, waarvoor de basis in ons laboratorium gelegd is. Deze test is gebaseerd op een specifieke posttranslationale modificatie, waartegen het immuunsysteem bij reumapatiënten zich richt.

Maar octrooien zijn niet automatisch een goudmijn. Pas na enige tijd zal een goed samenhangend octrooibeleid ook structureel het nodige opleveren. Kennisbescherming kreeg bij Nederlandse universiteiten gedurende lange tijd geen hoge prioriteit. Onderzoek in het kader van door de Stichting voor de Technische Wetenschappen gesubsidieerde projecten, zoals het zojuist genoemde CCP-onderzoek, kon al wel langere

tijd rekenen op begeleiding bij octrooiaanvragen, via de betreffende afdeling van deze stichting. Langzamerhand begint het besef door te dringen dat de Nederlandse universiteiten heel wat kansen op octrooigebied onbenut gelaten hebben en dat daardoor mogelijk miljoenen euro's onderzoeksgeld aan de universitaire neuzen voorbij zijn gegaan.

Tijdens een enkele jaren geleden door de Koninklijke Academie van Kunst en Wetenschappen georganiseerd symposium werd een aantal aanbevelingen gedaan om deze situatie te verbeteren (Proceedings of a symposium, 2005). Inmiddels heeft dit bij onze universiteit geleid tot een aantal initiatieven. Medewerkers van de kennisbeschermingsbureaus zoeken actiever naar mogelijk octrooieerbare onderzoeksresultaten dan voorheen. De Radboud Universiteit Nijmegen heeft een houdstermaatschappij opgericht die ondersteuning en begeleiding zal bieden aan startende ondernemers uit eigen kring en via een speciale werkmaatschappij zal deelnemen in startende bedrijven van haar medewerkers. De Nijmeegse universiteit is penvoerder van en participeert in het project KERN, dat staat voor Kennis Exploitatie Radboud Nijmegen, waar een consortium van regionale partners aan meedoet. KERN is bedoeld om technostarters, potentiële ondernemers die op basis van een vinding of een technologisch idee een bedrijf willen starten, op weg te helpen, en richt zich daarbij op de wijde regio van Nijmegen en Arnhem. Daarnaast zijn er de regionale en landelijke initiatieven, zoals Health Valley, het EFRO (Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling)-programma, het topinstituut Farma en het Center for Translational Molecular Medicine, om de interactie tussen kennisinstellingen en de industrie te stimuleren. Bovendien hebben de ministers Plasterk en Van der Hoeven van Onderwijs en Economische Zaken onlangs aangekondigd dat zij wettelijk willen regelen dat onderzoekers aan universiteiten in de toekomst een vast deel krijgen van eventuele inkomsten uit hun uitvindingen. Dat zal motiverend werken en innovatie stimuleren. Ik ben ervan overtuigd dat al deze initiatieven gezamenlijk een belangrijke impuls zullen geven aan de kennisvalorisatie en de daarmee samenhangende bedrijvigheid in de regio. Al zal men ervoor moeten waken dat er niet te veel spelers, met mogelijk tegenstrijdige belangen, komen. Dat zou een contraproductieve uitwerking kunnen hebben op de primaire doelstelling: bescherming en exploitatie van kennis die in publieke kennisinstellingen gegenereerd wordt.

FLEXIBILITEIT EN ZEKERHEID

De Wet flexibiliteit en zekerheid (Flexwet) is op 1 januari 1999 in werking getreden. De Flexwet is van toepassing op tijdelijke dienstverbanden en is gecreëerd om enerzijds werkgevers voldoende mogelijkheden te bieden om flexibele arbeidskrachten aan te trekken en anderzijds zorg te dragen voor meer zekerheden en een betere rechtspositie voor flexwerkers, met name naarmate de arbeidsrelatie met de werkgever langer duurt. In afwijking van deze wet is in verband met het specifieke karakter van het weten-

schappelijke werk aan de universiteiten, zoals de duur van onderzoeksprojecten, de termijn die bij overschrijding recht geeft op een aanstelling voor onbepaalde tijd met een cao-regeling enigszins verlengd. Deze cao-afspraken voorkomen dat de universiteiten bij het gros van de onderzoeksprojecten tegen de Flexwet aanlopen. Natuurlijk is het goed dat er een wet is die de rechtspositionele belangen van flexwerkers beoogt te beschermen. Maar wat komt hier in de praktijk van terecht? Vaak betekent dit dat het dienstverband na afloop van het project niet voortgezet kan worden, ook al is dit de wens van zowel leidinggevende als medewerker en is er financiering voor voortzetting beschikbaar. Voor de onderzoeksgroep kan dit leiden tot een verlies van expertise en ervaring; voor de medewerker betekent dit dat hij op zoek moet naar een andere baan en dat de teller in het kader van de Flexwet weer op nul staat. Als alternatief wordt er soms gekozen voor een contractloze periode van ongeveer een half jaar, waarna de medewerker weer een nieuwe aanstelling krijgt en de teller ook in dit geval weer op nul staat. Daarnaast stellen enkele instellingen zich wat flexibeler op en gaan zij dienstverbanden aan voor de duur dat er financiering beschikbaar is.

Naar mijn mening schiet in al deze gevallen de wet zijn doel voorbij en richt hij meer schade aan dan dat de flexwerker er baat bij heeft. En dit geldt niet alleen voor de flexwerker zelf, maar ook voor de kennisinstelling. Veelbelovend jong onderzoekstalent gaat voor de instelling verloren en ook het verdwijnen van hooggekwalificeerd technisch personeel doet de voortgang van het onderzoek geen goed. Deze problematiek is overigens niet beperkt tot publieke kennisinstellingen, maar treedt ook op bij kennisintensieve spin-offbedrijven, die in de eerste jaren na oprichting meestal maar beperkt langdurige dienstverbanden aan kunnen bieden. Ik zou er daarom voor willen pleiten dat de gevolgen van de Flexwet voor de kennissector eens grondig geëvalueerd worden en dat er verbeteringen aangedragen worden die in het belang zijn van alle betrokken partijen.

DANKWOORD

Een succesvolle loopbaan in de wetenschap is in grote mate afhankelijk van de mensen in je directe omgeving. Zonder de aanzienlijke inbreng van de mensen met wie ik al die jaren heb samengewerkt, zou ik hier vandaag niet gestaan hebben. Ik wil daarom ook iedereen die hier op welke wijze dan ook een bijdrage aan geleverd heeft van harte bedanken.

Hooggeleerde Van Venrooij, beste Walther. Jij bent degene geweest die me ruim 25 jaar geleden gestimuleerd heeft om het wetenschappelijk onderzoek in te gaan, die een brugfunctie vervuld heeft bij het vinden van de juiste promotiepositie, die richting gegeven heeft aan alles wat er volgde, die in mij is blijven geloven in periodes waarin ik forse tegenslagen te verwerken had in de privésfeer. Jij bent daarmee van onovertroffen belang geweest en ik ben je daar zeer dankbaar voor.

Hooggeleerde Bloemendal, hooggeleerde Bloemers, hooggeleerde De Jong, beste Hans, Peter en Wilfried. Jullie hebben elk op jullie eigen wijze leiding gegeven aan de afdeling Biochemie FNWI. Bedankt voor al jullie inspanningen om deze afdeling te laten floren en voor de steun die ik van jullie ontvangen heb tijdens mijn loopbaan. Inmiddels is de naam van de afdeling gewijzigd in Biomoleculaire Chemie. In het door de KNCV uitgegeven tijdschrift *C2W Life Sciences* vraagt Peter Bloemers zich af wat de naamsverandering van de afdeling, Biochemie in Biomoleculaire Chemie, toevoegt (Bloemers, 2007). De aanduiding Biomoleculaire Chemie vindt hij een irritant pleonasme dat hij bovendien als modieus gedoe beschouwt. Natuurlijk heeft hij wat dat eerste betreft helemaal gelijk. En of het modieus gedoe is, mag iedereen zelf beoordelen. Het past wel in een rijtje recente naamswijzigingen in de directe omgeving: Katholieke Universiteit in Radboud Universiteit; Institute for Cellular Signalling in Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences en Subfaculteit Scheikunde in Institute for Molecules and Materials. De naamsverandering biedt echter ook een aantal voordelen. Een enigszins triviaal voordeel is dat er nu, na meer dan veertig jaar, eindelijk in de naamgeving onderscheid gemaakt wordt tussen de afdelingen van onze instelling die voorheen beide met Biochemie aangeduid werden.

Hooggeleerde Van der Vliet, beste Peter. Onder jouw hoede heb ik een geweldige leerschool gehad op het Laboratorium voor Fysiologische Chemie in Utrecht. Nog dagelijks profiteer ik van de inzichten die je mij destijds bijgebracht hebt over het relativeren en respecteren van onderzoeksgegevens en publicaties van collega-onderzoekers.

Beste Els. Jij bent de stabiele factor binnen de afdeling. Er is momenteel niemand op de afdeling die langer in dienst is dan jij en die de organisatie beter kent dan jij. Dagelijks worden we geconfronteerd met je gemopper over het functioneren, of beter gezegd het disfunctioneren van universitaire collega's. Ik ben ervan overtuigd dat er binnen deze organisatie niemand is die meer fouten weet te herstellen dan jij. Met de voor jou typerende 'recht voor z'n raap' opmerkingen weet je iedereen tijdig tot de orde te roepen en daarnaast knelpunten tijdig te signaleren. Jij bent niet alleen voor mij en de afdeling, maar ook voor de hele 'inrichting' van onschatbare waarde.

In de loop der jaren hebben vele promovendi, post-docs, analisten en studenten grote bijdragen geleverd aan mijn onderzoek. Allemaal bedankt voor jullie inzet, het creëren van een plezierige sociale omgeving en een dynamisch wetenschappelijk klimaat. Eén persoon wil ik in het bijzonder noemen en dat is Reinout Raijmakers. Ik hoop dat zijn toewijding, inzet, gedrevenheid, collegialiteit, relativeringsvermogen en kwaliteiten als wetenschapper een voorbeeld zullen zijn voor alle huidige en toekomstige medewerkers. Reinout, helaas heb jij ons laboratorium onlangs moeten verlaten, mede omdat je een slachtoffer van de Flexwet bent geworden. Het zal veel tijd kosten om het gat dat je achterlaat weer op te vullen.

Het grootste deel van mijn academische leven heeft zich hier in Nijmegen afgespeeld. Ook iedereen binnen de universiteit, met name de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica, bedankt voor de inspirerende omgeving. In dit verband wil ik ook de vele onderzoeksgroepen noemen, zowel binnen Nijmegen als daarbuiten, waarmee wij al jaren succesvolle samenwerkingsverbanden hebben. Twee wil ik er speciaal noemen: Jan Wouter Drijfhout van het LUMC te Leiden, wiens expertise en denkvermogen een enorme invloed hebben gehad op ons onderzoek van de laatste tien jaren; en Jos Raats, directeur van het spin-offbedrijf ModiQuest, waarmee sinds de oprichting intensief samengewerkt wordt.

Tot slot een woord van dank voor mijn vrienden en familieleden. Natuurlijk is het van groot belang om regelmatig ook eens iets anders te doen dan werken en het is fijn dat jullie er dan zijn.

Ma. Bedankt voor de niet aflatende steun en voor voor de kansen die jij, samen met pa, mij gegeven hebt om me te kunnen ontwikkelen tot wie ik nu ben. Ik weet dat je vandaag enorm trots bent en dat mag ook, omdat je hier zelf ook een grote bijdrage aan geleverd hebt.

Tibor en Joyce. Jullie zijn de stabiele factoren in mijn leven. Jullie beseffen waarschijnlijk niet hoe belangrijk jullie tot nu toe voor mij zijn geweest. Op moeilijke momenten vormden jullie voor mij de drijvende kracht om de draad weer op te pakken en met een positieve instelling de toekomst in te gaan. Bedankt dat jullie er altijd zijn voor de 'professor'.

Lieve Thea. Jij hebt mijn leven letterlijk en figuurlijk weer kleur gegeven. Zonder jou zou ik deze stap in mijn loopbaan niet hebben durven zetten. Door jou zijn al mijn biomoleculen in optima forma. En daar ben ik onnoemelijk gelukkig mee.

Ik heb gezegd

REFERENTIES

- Albeck, J.G., MacBeath, G., White, F.M., Sorger, P.K., Lauffenburger, D.A., Gaudet, S., 'Collecting and organizing systematic sets of protein data.' In: *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 7 (2006), p. 803-812.
- Bloemers, P., 'Biomoleculaire Chemie.' In: *C2W Life Sciences*, jrg. 102 (2007), nr. 4, p. 4.
- Carthew, R.W., 'Molecular Biology: A new RNA dimension to genome control.' In: *Science* 313 (2006), p. 305-306.
- Cloos, P.A.C., Christgau, S., 'Post-translational modifications of proteins: Implications for aging, antigen recognition and autoimmunity.' In: *Biogerontology* 5 (2004), p. 139-158.
- Gilbert, W., 'Origin of life: The RNA world.' In: *Nature* 319 (1986), p. 618.
- Han, X., Jin, M., Breuker, K., McLafferty, F.W., 'Extending top-down mass spectrometry to proteins with masses greater than 200 kilodaltons.' In: *Science* 314 (2006), p. 109-112.
- Haurowitz, F., 'Protein heterogeneity: Its history, its bases, and its limits.' In: *Ann. NY Acad. Sci.* 325 (1979), p. 37-47.
- Hof, D., Pruijn, G.J.M., Van Venrooij, W.J., Raats, J.M.H., 'The role of cell death-specific modifications in breaking tolerance to self-antigens.' In: Kettleworth, C.R. (Ed.), *Cell apoptosis research advances*. Nova Science Publishers, Hauppauge NY, USA, 2007.
- Johnson, J.M., Castle, J., Garrett-Engele, P., Kan, Z., Loerch, P.M., Armour, C.D., Santos, R., Schadt, E.E., Stoughton, R., Shoemaker, D.D., 'Genome-wide survey of human alternative pre-mRNA splicing with exon junction microarrays.' In: *Science* 302 (2003), p. 2141-2144.
- Mattick, J.S., 'The functional genomics of non-coding RNA.' In: *Science* 309 (2005), p. 1527-1528.
- Meri, S., Baumann, M., 'Proteomics: Posttranslational modifications, immune responses and current analytical tools.' In: *Biomol. Eng.* 18 (2001), p. 213-220.
- Nielsen, M.L., Savitski, M.M., Zubarev, R.A., 'Extent of modifications in human proteome samples and their effect on dynamic range of analysis in shotgun proteomics.' In: *Mol. Cell. Proteomics* 5 (2006), p. 2384-2391.
- Patel, D.J., Suri, A.K., 'Structure, recognition and discrimination in RNA aptamer complexes with cofactors, amino acids, drugs and aminoglycoside antibiotics.' In: *J. Biotechnol.* 74 (2000), p. 39-60.
- Pennisi, E., 'A low number wins the GeneSweep pool.' In: *Science* 300 (2003), p. 1484.
- Prasanth, K.V., Spector, D.L., 'Eukaryotic regulatory RNAs: An answer to the 'genome complexity' conundrum.' In: *Genes Dev.* 21 (2007), p. 11-42.
- Proceedings of a symposium organised by the Academy Committee for Chemistry and the Council for Medical Sciences of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, the Netherlands, *Cooperation between universities and pharmaceutical industry: new opportunities in drug research?* Koninklijke Academie van Kunst en Wetenschappen, Amsterdam, 2005.
- Stein, E.D., 'Human genome: End of the beginning.' In: *Nature* 431 (2004), p. 915-916.
- The RNA modification database. <http://library.med.utah.edu/RNAmods/>
- Yan, S.C.B., Grinnell, B.W., Wold, F., 'Post-translational modifications of proteins: Some problems left to solve.' In: *Trends Biochem. Sci.* 14 (1989), p. 264-268.
- Yang, X.-J., 'Multisite modification and intramolecular signaling.' In: *Oncogene* 24 (2005), p. 1653-1662.

