

Samenvatting voor de leek

DNA IN BEWEGING

DNA is vooral bekend als de drager van erfelijke informatie, maar hoe is DNA georganiseerd in de cel en hoe verandert deze organisatie in de tijd, oftewel: hoe beweegt het? Met die vragen heb ik me de afgelopen jaren beziggehouden. In het eerste deel van deze samenvatting leg ik uit wat erfelijke informatie is en waarom bovenstaande vragen belangrijk zijn. In het tweede deel vat ik de inhoud van dit proefschrift samen, aan de hand van zijn titel.

1. Wat is erfelijke informatie en hoe functioneert het?

Erfelijke informatie

Organismen zoals de mens bestaan uit heel veel cellen. Er zijn levercellen, hersencellen, huidcellen, noem maar op. Al die cellen bij elkaar bepalen hoe wij eruit zien, hoe we bewegen, hoe we denken, enzovoorts.

Hoewel cellen in uiterlijk en in functie behoorlijk kunnen verschillen, komt toch elk van onze cellen voort uit één enkele cel: bij de bevruchting versmelten een eikel van de moeder en een zaadcel van de vader tot één cel. Vanuit deze cel ontstaan twee, iets verschillende, cellen. Deze cellen verdubbelen zich ook weer, de vier nieuwe cellen doen dat ook weer, enzovoorts, enzovoorts. Uiteindelijk ontstaat weer een nieuwe mens, bestaande uit vele miljarden cellen.

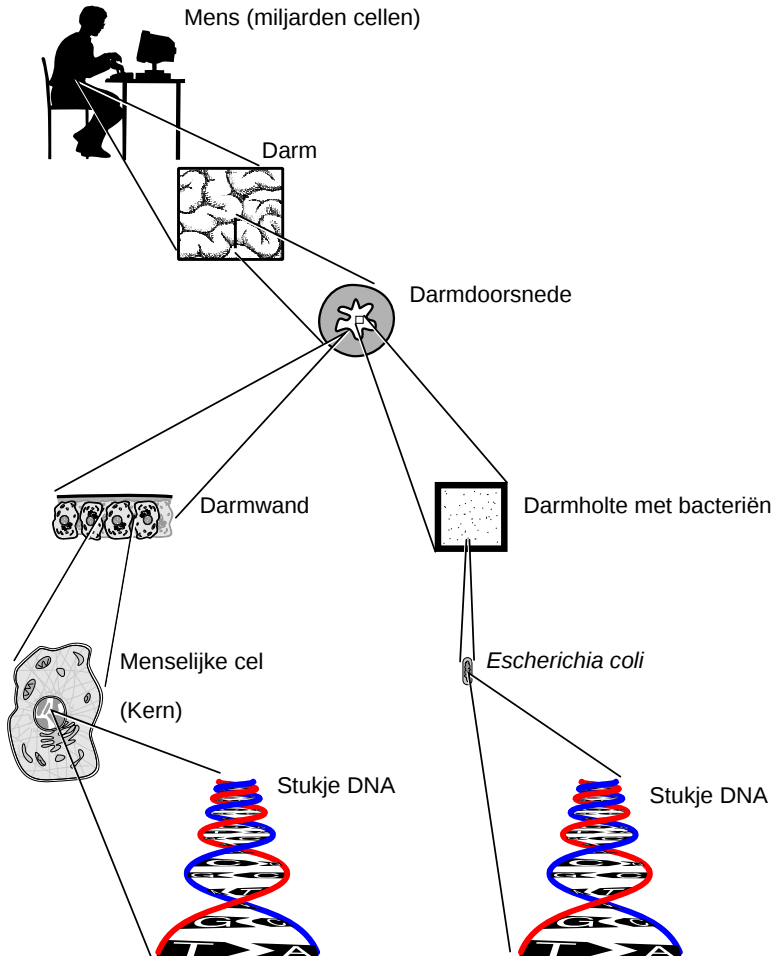
Hoeveel lijken de cellen van ons lichaam nog op die eerste cel? Als we binnen in een cel kijken zal het opvallen dat bijvoorbeeld een hersencel nog veel lijkt op een spiercel. Sterker nog, in theorie kan je met elk van onze cellen weer een mens maken. Dit komt omdat in elke cel een bibliotheek met 'receptenboeken' aanwezig is. Deze receptenboeken bevatten alle informatie om een nieuwe mens te maken. Omdat deze informatie wordt overgedragen van generatie op generatie noemen we het *erfelijke of genetische informatie*.

Bij verdubbeling van een cel krijgt elke dochtercel een volledige set erfelijke informatie. Daarom wordt, voordat een cel deelt, eerst de erfelijke informatie verdubbeld. Vervolgens wordt deze informatie verdeelt over de twee toekomstige dochtercellen. Bij een bevruchting wordt een combinatie gemaakt van de informatie van moeder en van vader, zodat we eigenschappen van beide ouders *erven*.

De erfelijke informatie is essentieel voor het functioneren van een cel. Neem bijvoorbeeld een bouwsteen van de celwand. Als daar behoefte aan is, dan wordt eerst het recept voor deze bouwsteen 'gelezen' in onze erfelijke informatie. Maar wat wordt dan gelezen? Hoe ziet erfelijke informatie eruit?

DNA

Erfelijke informatie is aanwezig in een cel als een code die terug te vinden is in DNA moleculen (chemische naam: *desoxyribonucleïnezuur*, of



Figuur 1 - DNA van de mens en van de bacterie *Escherichia coli*

De mens bestaat uit miljarden cellen. Links zijn cellen uit de celwand van de dunne darm schematisch afgebeeld. Elk van onze cellen bevat een kern, waarin DNA is opgeslagen. In de darmholte leven bacteriën. Rechts is een *Escherichia coli* (*E. coli*) cel afgebeeld. Alle organismen hebben DNA, dus ook *E. coli*. Menselijke cellen zijn 0.01-0.03 mm lang; ze bevatten circa twee meter DNA opgedeeld in 46 stukken (chromosomen); in totaal is het DNA opgebouwd uit 6 miljard bouwstenen (A's, C's, T's, en G's); *E. coli* cellen zijn 0.002-0.004 mm lang; het ene chromosoom van *E. coli* is 1.5 mm lang; het bestaat uit 4.6 miljoen bouwstenen. De erfelijke code van de mens en *E. coli* verschillen aanzienlijk.

in het Engels: *deoxyribonucleic acid*). Je kunt je een DNA-molecuul voorstellen als twee in elkaar gevlochten lange linten (figuur 1). De linten bestaan uit een aaneenschakeling van vier bouwstenen, aangeduid met de letters A, C, G, en T *. Met deze letters worden de recepten voor de componenten van de cel geschreven. Een recept voor één component wordt meestal een *gen* genoemd. Zo is er een gen voor het enzym** dat suiker afbreekt en voor het pigment dat onze ogen een kleur geeft.

De ontcijfering van de genetische code heeft veel discussie losgemaakt. Vaak wordt gesuggereerd dat als je de code weet, je precies weet hoe cellen functioneren. Belangrijker nog, je zou in staat zijn dat functioneren gericht te veranderen door 'genetisch te manipuleren'. Het is echter goed te bedenken dat het ontcijferen van, bijvoorbeeld, de circa 30 duizend genen van de mens, niet meer opgelevert dan een woordenboek van een nog onbekende taal. Om de taal te leren spreken moeten we de verbanden tussen de woorden vinden, en moeten we leren wanneer welke woorden worden gebruikt. Hoe cellen functioneren is nog grotendeels onbekend. Dat is niet zo verwonderlijk als je bedenkt hoeveel interacties 32 duizend componenten kunnen aangaan.

Hoe is DNA georganiseerd in een cel?

Ons doel is om de werking van een cel te ontrafelen door de componenten van de cel te onderzoeken in hun natuurlijke context, dus in een cel. Met betrekking tot DNA vragen we ons het volgende af: 1. 'Hoe is DNA georganiseerd in de cel' en 2. 'Hoe verandert deze organisatie in de loop van de tijd?' Als we ons DNA moleculen weer voorstellen als receptenboeken dan vragen we eigenlijk: 1. 'Welke boeken staan in de schappen en welke liggen open op de leestafel?', en 2.

* A, C, G, en T zijn de eerste letters van de chemische bouwstenen (*nucleotiden*), waaruit DNA is opgebouwd: Adenine, Cytosine, Guanine, en Thymine.

** Een 'enzym' is een molecuul dat helpt om een stof A in een stof B om te zetten, het is een catalysator; enzymen spelen een rol bij bijna alle chemische reacties in een cel.

'Wanneer en hoe worden de boeken gewisseld tussen schap en leestafel?'. Het antwoord op vraag 1 zegt iets over het functioneren van de cel op een bepaald moment. Het antwoord op vraag 2 zegt iets over het functioneren van de cel in de loop van de tijd.

In de cel van bijvoorbeeld de mens zit een enorme hoeveelheid DNA. Als je het DNA van één cel achter elkaar zou leggen kom je op zo'n twee meter uit (circa 6 miljard A's, C's, G's. en T's). Dit moet passen in een ruimte met een diameter die niet groter is dan 10 μm (0.01 mm). Dit is vergelijkbaar met circa 6 km draad in een ping-pong balletje!

DNA in de cel is daarom sterk opgevouwen, maar het mag hierdoor niet ontoegankelijk worden. Ten eerste moeten genen worden gelezen; ten tweede moet, als de cel zich wil verdubbelen, het DNA eerst verdubbeld worden. Ik heb me vooral beziggehouden met de beweging van zich verdubbeland DNA, maar ik deed mijn onderzoek niet met menselijke cellen.

Er zijn vele soorten cellen, maar omdat de cellen van alle organismen DNA bevatten, kunnen we voor fundamentele vragen uitwijken naar eenvoudiger cellen dan die van de mens. Ik ben begonnen met cellen van het Indiase blafhert, omdat die minder, maar grotere, DNA moleculen heeft. Uiteindelijk heb ik me toegelegd op *Escherichia coli*, omdat deze darmbacterie nog veel eenvoudiger is. Zo heeft een mens, maar ook een blafhert, zo'n duizend maal meer DNA per cel dan *E. coli*.

2. Titelverklaring

De titel van mijn proefschrift vertaald in het Nederlands luidt:

***DNA segregatie gedurende de celcyclus van Escherichia coli**
Een analyse van intracellulaire posities van fluorescent gemarkeerde
gengebieden*

Hieronder vat ik de inhoud van mijn proefschrift samen aan de hand van de termen uit deze titel.

DNA segregatie gedurende de celcyclus van Escherichia coli

'Onze' bacterie *E. coli* heeft één cirkelvormig DNA-molecuul opgebouwd uit 4.6 miljoen bouwstenen (de A's, C's, G's en T's), samen 1.5 mm lang. Ter vergelijking: een menselijke cel bevat 46 lineaire DNA-moleculen opgebouwd uit 6 miljard bouwstenen, in totaal twee meter lang. Een bacterie heeft veel minder DNA per cel dan wij, maar de cel is ook navenant kleiner.

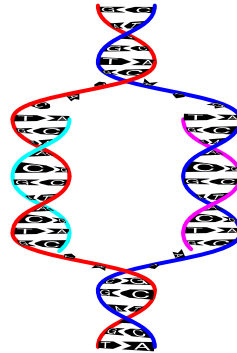
DNA segregatie gedurende de celcyclus van Escherichia coli

DNA segregatie is het uit elkaar bewegen van verdubbeld DNA. Als een cel wil verdubbelen, wordt eerst het DNA verdubbeld. Dat gaat als volgt. De twee in elkaar gevlochten linten die een DNA molecuul vormen, worden van elkaar gehaald (zie figuur 2). In elk van de oude linten wordt een nieuw lint gevlochten. Zo ontstaan uit één DNA molecuul twee nieuwe DNA moleculen, elk bestaand uit een oud en een nieuw lint. Het van elkaar halen begint op één plek van het DNA. Van daaruit wordt steeds meer van elkaar gehaald. Met invlechten van nieuw DNA wordt meteen begonnen; er wordt niet gewacht tot alles van elkaar is.

Nieuw DNA moet verdeeld of *gesegregeerd* worden over twee

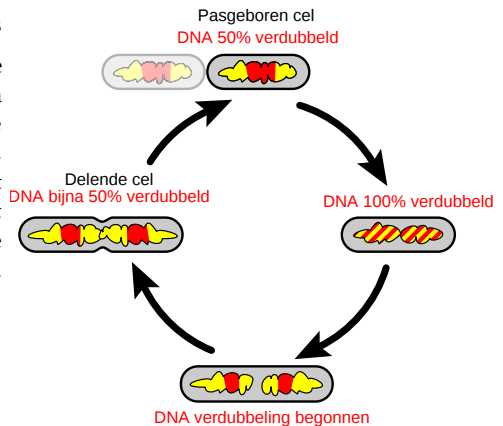
Figuur 2 - DNA verdubbeling

De twee 'linten' van DNA (rood en blauw) gaan uit elkaar; nieuwe linten (magenta en cyaan) worden in de oude gevlochten.



Figuur 3 - *E. coli* celcyclus

Van bovenaf: een pasgeboren cel groeit tot ze twee keer zo groot is, dan deelt ze en beginnen we weer van voren af aan. Gedurende de celcyclus wordt het DNA van *E. coli* verdubbeld, maar het begin van verdubbeling valt niet samen met celdeling. In ons geval begon het verdubbelen van DNA halverwege de celcyclus.



toekomstige dochtercellen. Over hoe dit precies verloopt is het laatste woord nog niet gezegd. Dat geldt voor bacteriën, maar nog meer voor menselijke cellen. Waarschijnlijk begint segregatie zodra het eerste stukje nieuw DNA is ingevlochten. Bij bacteriën gaat het segregeren verder waarschijnlijk gelijk op met het groeien van de cel. Mijn onderzoek heeft ons nieuwe inzichten verschaft over het mechanisme achter segregatie (zie onder), maar we hebben het probleem nog niet geheel opgelost. Bij mensen gaat het segregeren in stappen; eerst een klein stukje (misschien op dezelfde manier als bij *E. coli*), pas later helemaal.

DNA segregatie gedurende de celcyclus van *Escherichia coli*

Zich vermeerderende cellen doorlopen een cyclus: de celcyclus. Een pasgeboren cel groeit totdat ze twee keer zo groot is, groot genoeg om weer te delen (figuur 3). De hoeveelheid voedsel en de temperatuur bepalen hoe snel deze cyclus verloopt (en de vorm van de cellen; hoe dik ze zijn bijvoorbeeld). Onze bacteriën doorliepen hun celcyclus in 79 minuten. Dat noemen we langzame groei (een cyclus van 20 minuten noemen we snelle groei). De celcyclus van menselijke cellen is veel langzamer, bijvoorbeeld 24 uur (snelle groei, van bijvoorbeeld kankercellen, duurt toch nog een paar uur, en is vaak niet foutloos).

Tijdens het groeien worden alle componenten van de moedercel verdubbeld en verdeeld over de toekomstige dochtercellen, zo ook DNA. Het moment waarop de verdubbeling van DNA wordt ingezet hangt af van de groei-omstandigheden. Voor ons onderzoek hebben we zulke groei-omstandigheden gekozen dat we precies wisten wanneer DNA-verdubbeling begon en hoelang het duurde. Dit was nodig voor een juiste interpretatie van onze data.

De celcyclus van bacteriën kan heel complex zijn. Een bacterie wil zich soms sneller vermeerderen dan DNA kan verdubbelen; het verdubbelen van DNA moet dan maar eerder beginnen, desnoods in een voorgaande celcyclus. Om uit te leggen hoe dit tot snellere groei leidt, maak ik de volgende vergelijking: stel dat mensen zich sneller zouden willen voortplanten dan eens per 9 maanden, terwijl de dracht-tijd 9 maanden blijft. De 'bacterie-oplossing' zou zijn om reeds zwangere kinderen te baren. Dan wordt binnen 9 maanden de volgende generatie geboren. (Gelukkig is dit onmogelijk.)

DNA segregatie gedurende de celcyclus van *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) is een darmbacterie die bij ons allemaal voorkomt (figuur 1). We leven ermee samen; zonder bacteriën zou ons eten niet verteren. *E. coli* is een ééncellig organisme (de mens is een meercellig

organisme). De *E. coli* cellen die wij kweekten waren ongeveer 0.0015 tot 0.004 mm lang en 0.001 mm breed. Het DNA van *E. coli* (1.5 mm) is dus zo'n duizend maal langer dan een pasgeboren cel. Menselijke cellen zijn minimaal 10 keer groter dan een bacterie.

DNA segregatie gedurende de celcyclus van *Escherichia coli*

Analyse van intracellulaire posities van fluorescent gemarkeerde DNA gebieden

Het is niet mogelijk direct de bewegingen van DNA in een cel te zien, zelfs niet met krachtige lichtmicroscopen. Het kleinste deeltje dat onze lichtmicroscopen zichtbaar maken is 0.0002 mm in doorsnee; een pasgeboren *E. coli* cel is maar tien keer groter. We kunnen DNA kleuren, maar het totaal aan DNA is dan zichtbaar als één structuur, zonder enig detail (zie figuur 3.2). Vergelijk het met het bekijken van een bos op grote afstand: de contouren zijn zichtbaar, de bomen niet. We zijn niet overgestapt op vormen van microscopie die meer detail zichtbaar maken, omdat die een behandeling vereisen die tot vervorming van de cellen leidt.

Om toch de beweging van DNA te bestuderen, hebben we een techniek gebruikt waarbij fluorescerende moleculen hechten aan een klein stukje DNA. Zodra licht op deze moleculen valt, gaan ze licht uitzenden (vergelijkbaar met een fietsreflector) en 'verraden' daarmee de positie van het stukje DNA. Door de microscoop zien we een cel met daarin één of meer lichtvlekjes (figuur 3.2). Meer vlekjes betekent dat het stukje DNA is verdubbeld. Door in een groot aantal cellen van verschillende lengte de positie van de vlekjes te meten, konden we de beweging van DNA in de tijd reconstrueren.

Wij vonden dat in de gemeten posities van drie specifieke stukjes DNA veel variatie zat. We hebben daaruit de conclusie getrokken dat DNA continu kleine willekeurige bewegingen maakt: het 'wiebelt'. Gemiddeld genomen beweegt verdubbeld DNA geleidelijk uit elkaar, maar dat doet

het al wiebelend.

Omdat het DNA zo wiebelt, kan je in individuele cellen grillige bewegingen van DNA waarnemen. Men heeft wel gedacht dat zulke bewegingen erop duiden dat er specifieke moleculen zijn die aan DNA trekken of het duwen. Wiebelen is echter een normaal fenomeen voor moleculen ('Brownse' bewegingen of diffusie). Wij hebben daarom voorgesteld dat het wiebelen van DNA een belangrijke bron van beweging is voor het uit elkaar bewegen van verdubbeld DNA. Ons model is dat DNA verdubbelt en dan 'wiebelend' uit elkaar 'drijft', terwijl de cel groeit.

Het zou goed kunnen dat de bewegingen die menselijk DNA maakt, lijken op wat er bij bacteriën gebeurt. De vergelijking moet echter niet te ver doorgevoerd worden. Zo moet het verdubbeld DNA van een mens uiteindelijk over een veel grotere afstand verplaatst worden, en daarvoor bestaan speciale mechanismen (figuur 6.2). Dat neemt niet weg dat het 'wiebelen' van DNA altijd een rol speelt, zowel bij bacteriën als bij mensen.