

Folia Magazine

weekblad voor HvA en UvA

nr. 27 04/04/2012



Luister
naar je oren

Detective in het donker

Met **geavanceerde microscopen** kunnen biologen sinds kort in cellen kijken, tot op de molecuul. Het **Leeuwenhoek Center for Advanced Microscopy** heeft zulke supermicroscopen, die kankeronderzoek naar een hoger plan tillen. Met een nieuwe microscopiemaster en verregaande Europese samenwerking is de opmars van de microscoop ongekend.

tekst Marieke Buijs / foto's Jan-Maarten Hupkes

Aleen al om te bestaan ben je afhankelijk van het samenspel van oneindig veel kleine schakels in iedere cel in je lichaam. Het is essentieel dat elke cel van energie wordt voorzien, zichzelf schoon houdt, zich deelt en communiceert met zijn omgeving. Bij het Leeuwenhoek Center for Advanced Microscopy (LCAM) kijken onderzoekers door *state of the art* microscopen naar binnen bij de cel om te doorgronden hoe de radertjes die je lichaam in stand houden in elkaar grijpen. Maar ook om te achterhalen waar het mis gaat, zoals bijvoorbeeld in kankercellen.

IN DE GEHAKTMOLEN

De kracht van microscopie, ten opzichte van andere methoden voor celonderzoek, zit hem in de verfijning. Kees Jalink, mededirecteur van het LCAM, vertelt hoe dat zit. 'Stel, je wilt weten

hoe een radio werkt. Je koopt er duizend, gooit ze allemaal in de gehaktmolen en bekijkt welke onderdelen eruit komen. Weet je daarna meer over radio's? Nee! Pak een loep en bestudeer één radio goed, dan leer je veel meer. Zo is het ook met cellen.' Bij andere onderzoeksmethoden in de celbiologie, worden duizenden cellen vermalen en wordt bekeken welke eiwitten dan

'Tumoren kunnen uit verschillende soorten cellen bestaan'

overblijven. Maar zo kun je nooit de details zien die onder de microscoop te zien zijn. 'Onder de microscoop kun je één levende cel, in al zijn glorie, bestuderen,' zegt Jalink, 'En met functio-

nele microscopie, waarin we gespecialiseerd zijn bij het LCAM, kun je juist de functionaliteit, de reacties tussen moleculen in levende cellen, goed in beeld krijgen.'

Maar zelfs als je beschikking hebt over de beste microscopen laat kanker zich niet makkelijk verhelpen. Maarten van Lohuizen, lid van de wetenschappelijke raad van de kankerbestrijding, legt uit waarom, 'Kanker is niet één ziekte, het zijn verschillende ziekten en zelfs bij één soort kanker kunnen tumoren uit veel verschillende soorten cellen bestaan. Je zet dus altijd kleine stapjes in onderzoek en lost niet meteen alle typen op. Maar bijvoor-





Nathalie Reinhard, een van de onderzoekers van het LCAM, in het lab

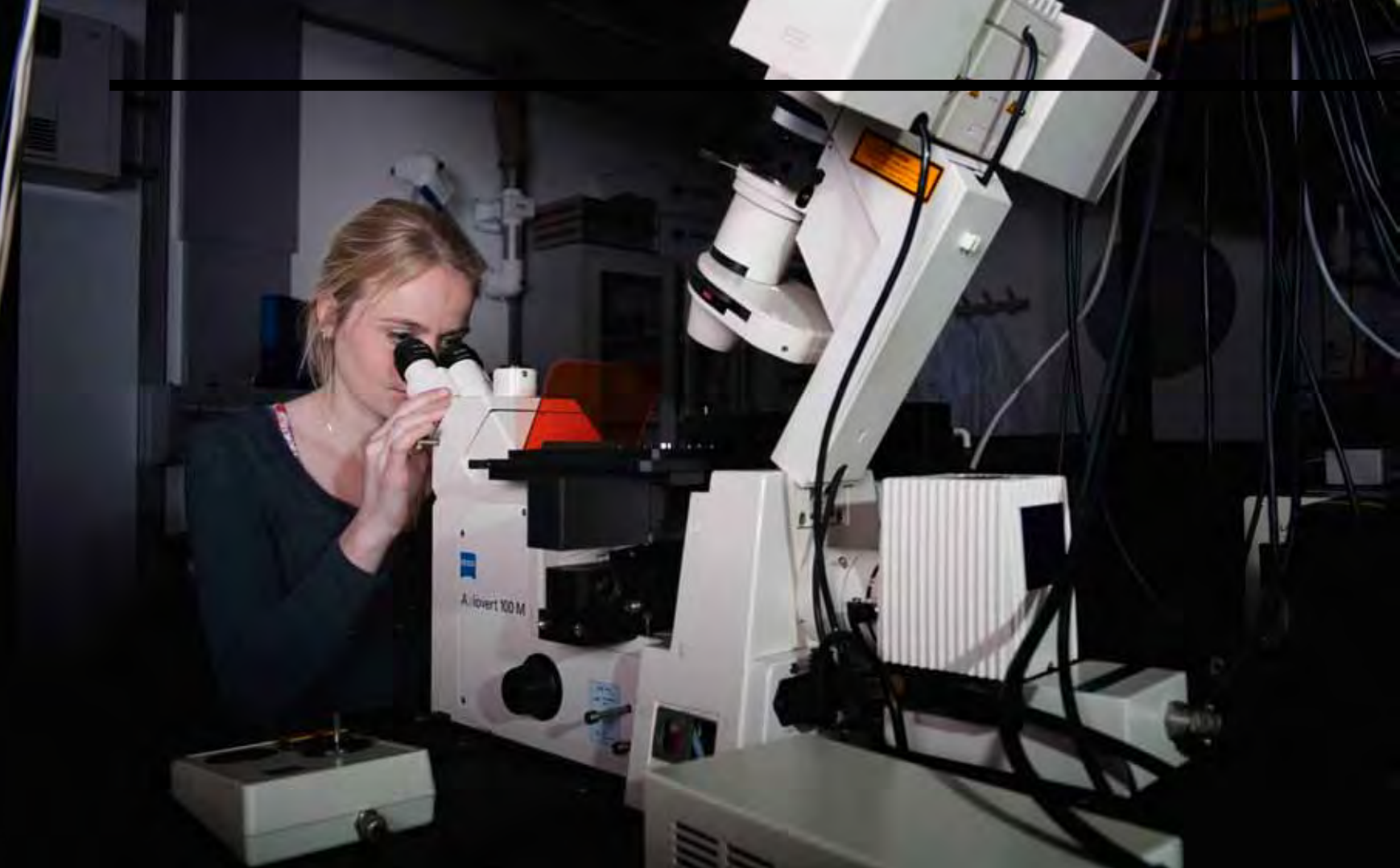
beeld bij borstkanker en leukemie zijn we heel ver en kunnen we patiënten vaak genezen.' Vanwege die diversiteit in tumoren zijn goede microscopen onmisbaar bij diagnostiek. Om het juiste behandeltraject te kiezen, moeten tumorcellen onder de microscoop tot in detail worden bekeken en geclassificeerd. Maar ook bij fundamenteel kankeronderzoek zit de crux hem in de details die je onder de microscoop kunt aanschouwen. Voordat een kankercel zich als pionier van een uitzaaiing door het lichaam kan verplaatsen, moet hij eerst bepalen wat zijn voor- en achterkant is en welke kant hij opgaat. Dat proces kun je

wel zien door een microscoop, maar het gaat verloren in massametingen. De ontwikkelingen in de microscopie zijn nauwelijks bij te

'Op microscopiedagen zie ik nauwelijks zonlicht'

benen. Een microscoop is tegenwoordig niet meer een allround vergrotingsapparaat, maar bestaat in allerlei soorten en maten. Sommige maken 3D-opnamen, andere kunnen zo goed scherpstellen dat je zelfs losse moleculen van elkaar kunt onderscheiden en weer andere, de

'functionele' microscopen, kunnen in beeld brengen of eiwitten op elkaar reageren. Dat levert veel nieuwe onderzoeksmogelijkheden op, maar brengt ook gigantische kosten met zich mee. De apparaten zijn namelijk erg duur en vereisen vergaande specialisatie van de mensen die ze maken en ermee werken. Om die reden zoekt het LCAM aansluiting bij een Europees samenwerkingsverband, het Euro-BioImaging project, dat inzet op gedeelde microscopie-infrastructuur in Europa. Ieder aangesloten microscopiecentrum kiest een specialisme en studenten en onderzoekers uit heel Europa kunnen een centrum uitkiezen dat het



best is uitgerust voor het beantwoorden van hun onderzoeksvraag. Het LCAM is nu opgenomen in de testfase van het samenwerkingsproject als expert op het gebied van functionele microscopie. Ook is LCAM penvoerder van het Nederlandse samenwerkingsverband NL-BioImaging Advanced Microscopy, de Nederlandse tak van het Euro-BioImaging initiatief. De Nederlandse regering juicht internationale samenwerking toe en maakte op 1 maart bekend dat het BioImagingproject op de zogenoemde *roadmap* voor grootschalige onderzoeksinfrastructuur komt te staan, wat betekent dat ze kunnen rekenen op financiële steun van de overheid.

De gedachte van internationale samenwerking is natuurlijk mooi, maar er moeten nog wel wat praktische horden worden genomen. Kees Jalink, mededirecteur van het LCAM, somt ze op: 'Wanneer je gasten vrije toegang geeft tot je lab, kunnen ze ook rondneuzen in jouw onderzoek in wording. Hoe ga je dan met vertrouwelijke gegevens om? Maar ook voor banale dingen als het gebruik van instrumenten en het huisvesten van gasten moeten we een kostenverdeling verzinnen.' Toch ziet Jalink vooral de

mogelijkheden: 'Als je met zo veel onderzoekers uit andere landen in contact komt, ontstaan er prachtige samenwerkingsverbanden.'

STOOMCURSUS

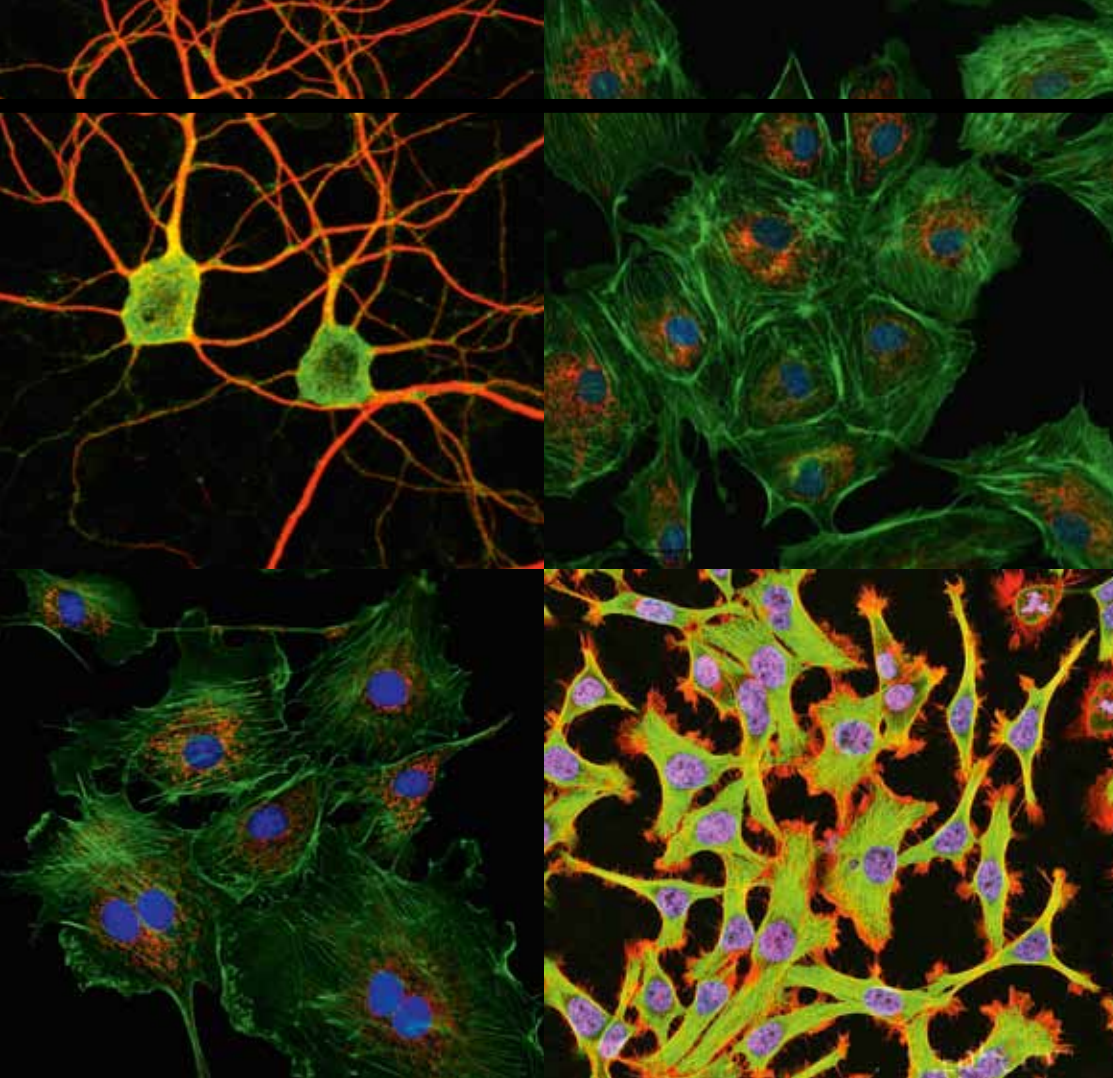
Nathalie Reinhard is een van de onderzoekers die via microscopie proberen te doorgronden welke moleculen een rol spelen bij het uitzaaien van kankercellen. Ze volgt de mastertrack Cell Biology and Advanced Microscopy van de masteropleiding Biomedical Sciences. Voor haar stageonder-

Op zoek naar de functie van een eiwit

zoek spendeert ze dagen achter de microscoop. Nathalie werkt in het LCAM-lab in gebouw 904 op het Science Park. De rolluiken zijn dicht, geen daglicht komt de kamer binnen en er brandt slechts een enkel leeslampje. 'Ja, op microscopiedagen zie ik nauwelijks zonlicht,' zegt Reinhard. 'In het begin vond ik dat wel moeilijk, soms dutte ik 's middags een beetje in, maar nu ben ik er wel aan gewend.'

Op tafels staan grote apparaten – een soort blokkendozen van zwart en zilverkleurig metaal – die niet aan het standaardbeeld van een microscoop voldoen. Op computerbeeldschermen is te zien wat zich in de bijbehorende blokkendozen afspeelt. Het zijn projecties van kleurrijke cellen die eruitzien als fraai versierde, doorzichtige spookjes tegen een zwarte achtergrond. Reinhard bereidt haar experiment voor. Ze haalt een glaasje met cellen die ze heeft gekweekt voor haar onderzoek uit een warmhoudkast. Het zijn levende kankercellen, die zich blijven delen. Reinhard moet ze voeren, verhuizen en verschonen om ze in leven te houden. Ze vist een glaasje uit het bakje en legt hem in een van de zwarte dozen, onder de lens.

Ze scant het glaasje, op zoek naar cellen. Die kan ze zien, omdat ze specifieke moleculen heeft aangekleurd. In het DNA van de drie eiwitten die voor haar van belang zijn, heeft ze de genetische code voor een fluorescerend eiwit ingebracht, voor ieder eiwit een eigen kleur. Terwijl Reinhard de cellen scherp in het vizier probeert te krijgen, puft en zoemt de tafel waar de microscoop op staat. Met minieme pompjes



foto's sciencephoto.com

compenseert die voor trillingen in het gebouw, om de afstand tussen de lens en het glaasje met cellen constant te houden.

De cellen verschijnen op het beeldscherm.

Reinhard vermoedt dat de eiwitten die ze heeft aangekleurd betrokken zijn bij het uitzaaien van een tumor. Als een soort detective probeert ze nu te achterhalen welke rol de verschillende eiwitten spelen in de stappen die leiden tot de migratie van kankercellen. 'Waar een eiwit zich op welk moment bevindt, zegt veel over zijn functie,' vertelt Reinhard. 'Een van de eiwitten die ik onderzoek is bijvoorbeeld pas actief wanneer het vastgeplakt zit aan het membraan om de cel heen. Daar activeert het indirect de aanmaak van actine, het "skelet" van de cel dat essentieel is voor verplaatsing.' Of dat eiwit naar het membraan verplaatst, kun je alleen zien met de microscoop. Daarom maak ik filmpjes die ik later analyseer. De cellen worden nauwelijks gehinderd door mijn onderzoek, ze gedragen zich zoals we denken dat ze dat zouden doen wanneer ik ze niet bekijk,' zegt Reinhard voor ze de opname start.

Terwijl de computer drie kwartier lang opnamen

maakt, vertelt Reinhard over haar fascinatie voor microscopie. 'De eerste keer dat ik een cel onder de microscoop in actie zag dacht ik "Wauw! Dat dat mogelijk is!" Ik was zwaar onder de indruk.' Niet iedereen deelt die fascinatie. Hoewel dit de enige microscopiemaster in Nederland is, heeft Nathalie slechts zeven studiegenoten. 'Volgens mij vinden veel mensen microscopie intimiderend, omdat het zo technisch klinkt,' denkt Nathalie. 'En ze zien het niet zitten om de hele dag door een microscoop te turen. Ook tegenover mijn familie blijf ik een beetje aan de oppervlakte over wat ik precies doe. De meesten begrijpen het toch niet. Maar ik vind het helemaal niet saai. Ik heb een doel voor ogen. Ik wil deze puzzel oplossen, en een goed verslag schrijven. Uiteindelijk wil ik gaan promoveren. In de microscopie, maar op een biologisch onderwerp.' Ook Dorus Gadella, algemeen directeur van het LCAM, komt even kijken. Hij vertelt over zijn visie op het LCAM. 'Wij blinken uit in de microscopie, omdat het LCAM een samenwerkingsverband is tussen de bètafaculteit, het AMC en het Nederlands Kanker Instituut. We hebben hier dus programmeurs en natuurkun-



Henrietta's tumor

De cellen die Nathalie gebruikt voor haar onderzoek, HeLa-cellen, zijn tegenwoordig onmisbaar in biologisch onderzoek. Voor veel onderzoek maken ze het gebruik van proefdieren overbodig. De cellen zijn vernoemd naar de Amerikaanse tabakboer Henrietta Lacks, wiens biografie, *The Immortal Life of Henrietta Lacks*, werd opgetekend door de Amerikaanse Rebecca Skloot. Henrietta Lacks overleed in 1951 op 31-jarige leeftijd aan baarmoederhalskanker. Artsen hebben buiten Henrietta's medeweten een klompje tumorcellen verwijderd en in een petrischaaltje gezet. De tumorcellen bleken ook buiten het lichaam te floreren, iets wat tot dan toe onmogelijk werd geacht. De cellen vermenigvuldigden zich in rap tempo en buisjes met de tumorcellen werden opgestuurd naar diverse laboratoria, voor onderzoek naar polio en andere virussen. Zo veroverden Henrietta's tumorcellen de wereld, onder de codenaam HeLa.

Twintig jaar na Henrietta's dood vormden de cellen een ware plaag. Ze verplaatsten zich via piepkleine druppeltjes en besmetten andere cellen die toen gekweekt werden in laboratoria. Wetenschappers voerden genetische tests uit om te doorgronden welke cellijnen door HeLa waren overgenomen. Daardoor begonnen ze zich af te vragen waar de HeLa-cellen eigenlijk vandaan kwamen. Zo kwamen ze bij Henrietta's familie terecht. Toen artsen Henrietta's laagopgeleide dochter Deborah vertelden dat haar moeders erfelijk materiaal wereldwijd werd onderzocht, raakte Deborah in paniek. Ze dacht dat ze overal op straat kopieën van haar moeder tegen het lijf kon lopen en dat haar moeders ziel geen rust heeft als wetenschappers haar cellen onderzoeken. Het duurde jaren voordat iemand de moeite nam Deborah uit te leggen wat er precies gebeurde en wat haar moeders cellen voor de wetenschap betekenden. In het ziekenhuis waar Henrietta overleed kreeg Deborah decennia later een buisje met haar moeders cellen in handen. 'You're famous, but nobody knows it,' fluisterde ze het buisje in.



digen rondlopen die de microscopen kunnen verbeteren, maar ook biologen en kankeronderzoekers, die erop toezien dat ontwikkelingen daadwerkelijk biologisch relevant zijn. Vanwege de vele doorbraken die nu zijn gerealiseerd in de microscopie en de enorme impact die dat heeft op celonderzoek, willen we deze kennis en vaardigheden via het masteronderwijs doorgeven aan een nieuwe generatie onderzoekers. Daarom zijn we gestart met het mastertraject Cell Biology and Advanced Microscopy waar

studenten leren onderzoek te doen met de meest geavanceerde microscopen.

Reinhard werpt af en toe een blik op het scherm en is niet blij met wat ze ziet. De eiwitten doen niet wat ze verwacht had dat ze zouden doen. 'Ik weet niet waarom het nu niet werkt. De ene keer lukt het wel, de andere keer niet.' Na afloop van de opnamen blijkt dat deze sessie inderdaad niet bij zal dragen aan het antwoord op haar onderzoeksvraag. Dat is dus een uur vruchteloos werk. Maar Reinhard raakt niet gefrustreerd,

'Dat is onderzoek, het is een uitdaging. Gadella zei eens in college: "Je moet pas echt opletten als er iets gebeurt wat je *niet* verwacht." En zo is het. Als ik erachter kom waarom dit niet werkt, ken ik weer meer stukjes van de puzzel.'

Na een uur onder het laserlicht van de microscoop sterven de cellen af en zijn ze niet meer te gebruiken. Reinhard gooit het glaasje in de bak met biochemisch afval. Genetisch gemanipuleerd materiaal mag uit voorzorg niet in de natuur terecht komen. Ze haalt een volgend glaasje met cellen uit de warmhoudkast, en begint opnieuw. ■■■

Zie www.foliaweb.nl/foliavond/microscopen voor een filmpje over Reinhard's onderzoek en een interactief filmpje over de verhoudingen wereld van heelal tot nanometer.

Nog meer detail

Een slimme truc in de microscopie maakt het sinds kort mogelijk om nog verder in te zoomen, zo ver dat je losse moleculen – op een schaal van enkele tientallen nanometers – van elkaar kunt onderscheiden. (Een nanometer is een miljardste meter. Ter vergelijking: dat is ongeveer 80.000 keer kleiner dan de dikte van een menselijke haar.) Maar voor dat zover is, moet de techniek worden verbeterd. Opnamen met de nieuwe superresolutiemicroscoop vergen nu nog zo veel tijd dat de cellen afsterven tijdens de metingen.

Erik Manders, manager bij het LCAM, probeert die superresolutiemicroscopen zo te verbeteren dat levende cellen langer bestudeerd kunnen worden. Om dat voor elkaar te krijgen, heeft het LCAM in december 2011 een subsidie van een kleine vijf miljoen euro ontvangen van de Stichting voor Technische Wetenschap. 'We willen de superresolutiemicroscoop integreren in ons programma voor functionele microscopie,' vertelt Manders. 'Dan kunnen we afzonderlijke moleculen volgen én zien welke moleculen op elkaar reageren. Dat zou echt een mijlpaal zijn. Je weet natuurlijk nooit hoe het daarna verder gaat, maar ik vraag me

wel eens af of dit de laatste grote stap is in de ontwikkeling van de microscopie.' Tot tien jaar geleden was het ondenkbaar dat microscopen tot op de molecuul, van enkele nanometers, konden scherpstellen. Niet de lenzen, maar het licht vormde de belemmering. Het licht dat van een gekleurd molecuul afstraalt, verplaatst zich als golf. Die golf slaat ongeveer vijfhonderd nanometer uit. Als een paar moleculen dichter dan de helft van die afstand op elkaar zitten, zie je ze dus als een vlekje. Om die moleculen van elkaar te kunnen onderscheiden, moest een tien keer zo hoge resolutie worden bereikt. De truc daarvoor is om heel veel opnamen van dezelfde cel te maken. Daarbij wordt het signaal van de gekleurde moleculen voor het overgrote deel uitgezet, maar bij iedere opname worden er een paar geactiveerd. Wanneer je dan binnen de resolutie die de lichtgolf toelaat een signaal oppikt, weet je dat dat signaal afkomstig is van slechts één molecuul. Bovendien kun je dan berekenen waar in dat veld het molecuul zich bevindt. Door dat voor alle moleculen afzonderlijk te doen en die informatie in de computer te combineren, breng je alle afzonderlijke moleculen in de cel in kaart.

