

Het Transportoom

Prof. dr. Anne Mie C. Emons

Inaugurale rede uitgesproken op 25 april 2002,
In de Aula van Wageningen Universiteit

In verband tot haar benoeming tot persoonlijk
hoogleraar Plantencelbiologie bij Wageningen
Universiteit

Abstract in English

Het Transportoom

Mijnheer de Rector Magnificus, dames, en heren,

Stelt U zich een moderne maatschappij voor. In deze maatschappij zijn de gegevens van ieder individu beschreven in de burgerlijke stand. De taken van alle individuen zijn vastgelegd in functieomschrijvingen. De interacties tussen individuen zijn de essentie van het functioneren van die maatschappij. De drie hoofdtaken die gemeenschappelijk uitgevoerd worden zijn: zorg voor nageslacht, levensonderhoud en ontwikkeling. Kortom, dit is een dynamische maatschappij. Deze maatschappij heeft transportsystemen voor vervoer van individuen, grondstoffen, producten en informatie, maar helaas, dit systeem is inefficiënt. Opstoppingen, files, vertragingen zijn aan de orde van de dag. U kunt zich dat voorstellen. Het is geen ideale situatie voor een dynamische maatschappij.

Een cel is ook een maatschappij. Het is een complexe organisatie waarvan de gegevens van alle individuen, de moleculen, vastliggen in het DNA, waardoor de taken van die moleculen helder omschreven zijn. De interacties tussen die moleculen vormen de essentie van de celmaatschappij. Door die interacties voeren ze hun taken uit: reproductie, groei en ontwikkeling. Hierdoor ontstaat het organisme dat een bepaalde vorm krijgt door celdeling, celgroei en celdifferentiatie. Dat organisme, plant, dier, of mens bestaat uit cellen.

Celbouw

Hoe ziet een cel eruit? Een typische plantencel heeft een stevige beschermende wand, een kern, een systeem van vacuoles, en daaromheen het cytoplasma met daarin de organellen.

In de kern zit het DNA dat de instructies in zich heeft om eiwitten te maken, het programma van die maatschappij. Eiwitten zijn bouwstenen van de cel of enzymen die andere bouwstenen maken, of regulatoren. Ze worden gemaakt in de eiwitfabrieken, de ribosomen, bijvoorbeeld die op het endoplasmatisch reticulum. Die eiwitten hebben een adresstrookje waarop hun bestemming staat. Het Golgi-apparaat neemt die geadresseerde eiwitten op, modificeert en sorteert ze en geeft ze af in transportblaasjes. Dit Golgi-apparaat is de sorteerder, het postkantoor van de cel. In plantencellen heeft het Golgi-apparaat ook een neventaak: het is de koolhydraatfabriek voor celwandbouwstoffen. Vacuoles zijn pakhuizen voor nuttige of schadelijke stoffen. Mitochondriën zijn energiecentrales die energie leveren voor de processen. Al die organellen zitten ook in onze cellen en hebben daar dezelfde taken. Plantencellen hebben bovendien nog plastiden, bijvoorbeeld chloroplasten, die de energie van de zon vastleggen in chemische verbindingen. In die plastiden, de voedselbedrijven, wordt de grondstof gemaakt voor al hún voedsel en dat voor mensen en dieren. Het wordt tijdelijk opgeslagen in voorraadkelders, de amyloplasten.

Celinfrastructuur

Voor het goed functioneren van de cel, moeten de moleculen in die verschillende organellen, de werknemers van die bedrijven, met

elkaar communiceren. Daar is een infrastructuur voor nodig. In analogie met het genoom, de genen, het proteoom, de eiwitten en het metabool, de stoffen die door de enzymen worden gemaakt, noem ik de complete infrastructuur het TRANSPORTOOM, met als basis het celskelet. Het transportoom is vergelijkbaar met de hele infrastructuur van onze maatschappij, niet alleen treinstelsel en wegennet, maar ook telefoon, internet, ministerie van verkeer en waterstaat en ieder die zich bezig houdt met ruimtelijke ordening. Binnenkort kennen we alle genen en de eiwitten waarvoor ze coderen. Dat is belangrijk, maar beschrijvend, een lange woordenlijst van DNA en een vertaling ervan in eiwit. De volgende stap is het achterhalen van de betekenis van die woorden en ze plaatsen in een context met elkaar, in zinnen. Die zinnen staan in alinea's, en de alinea's in hoofdstukken. Het transportoom zorgt voor de structuur in het geschrift, zodat de sportuitslagen in het sportkatern terechtkomen en niet in de wetenschapsbijlage.

We weten niet hoeveel genen betrokken zijn bij de codering voor die celinfrastructuur. Voor de plantencel zeker wel duizend. Er zijn alleen al 80 actine-genen in planten gevonden. Het is nu tijd om al die transportoomgenen te leren kennen en de functie van hun eiwitten te bestuderen. Het welzijn van iedere plant, ieder dier en ieder mens hangt af van een normaal functionerend DNA, niet in de laatste plaats dat van het transportoom. Het transportoom is het bewegingsapparaat van de cel en bepaalt dus wat waar, op welk moment aanwezig is. De basis van het transportoom is het cytoskelet. Dit cytoskelet komt niet alleen voor in plantencellen, maar ook in cellen van dieren en mensen. De meeste vormen van kanker zijn defecten in moleculen die het cytoskelet beïnvloeden; en bepaalde stoffen, bijvoorbeeld taxol uit de Taxusboom, die het cytoskelet stabiliseren, worden gebruikt als medicijn tegen kanker.

Aan die basis van het transportoom, het cytoskelet, binden moleculen die specifieke functies geven aan de cytoskeletpolymeren. Op hun beurt worden die cytoskeletbindende eiwitten gereguleerd door andere moleculen. Zo ontstaat een flexibel en efficiënt transportsysteem. Cellen zijn buitengewoon slim, ze hebben een geoliede infrastructuur.

Ik zal de werking van het transportoom toelichten, refererend aan werk van leden van onze leerstoelgroep. In cellen, bijvoorbeeld in een cel uit de meeldraadhaar van een bloem van *Tradescantia*, staat niets stil: leven is bewegen. Dr. Jan Vos maakte een video van die beweging. In de cytoplasmadraden zitten de organellen die bewegen. Die beweging wordt cytoplasmastroming genoemd, maar het is geen stroming. Het is gerichte beweging van organellen en moleculen door motormoleculen over de polymeren van het cytoskelet. Die beweging zal ook wel moleculen die niet vastzitten aan het cytoskelet meesleuren, maar van dit type celtransport weten we nog niets. Daar willen we ook nog eens onderzoek aan doen.

In het type cel dat wij ook veel gebruiken voor ons onderzoek, de wortelhaar, is het patroon van cytoplasmastroming anders. Dat hangt samen met de functie van het transportoom in deze cellen.

Wortelharen zijn cellen die uitsteken uit het worteloppervlak en dienen voor opname van water en zouten uit de bodem. Ze groeien aan hun top. In een video van een levende wortelhaar van het onkruid, de modelplant *Arabidopsis thaliana*, gemaakt door Tijs Ketelaar, zien we in die celtop geen beweging van organellen. In de top verzamelen zich blaasjes met daarin de grondstoffen die nodig zijn voor de groei aan de top. Het transportoom veroorzaakt een polariteit in die cel door het fabriekscomplex dat grondstoffen en energie levert voor celgroei, endoplasmatisch reticulum, Golgi-

apparaat en mitochondriën naar de groeiplaats te vervoeren. Het transportoorm régelt dat proces ook.

Dit voorbeeld laat zien waarom het transportoorm zo cruciaal is. Om dezelfde reden als waarom de infrastructuur in onze maatschappij wezenlijk is. Als we alle genen kennen, de driedimensionale structuur van hun eiwitten kennen, de stoffen kennen die door de enzymen gemaakt worden, dan begrijpen we de celprocessen nog niet. We begrijpen dan niet hoe chromosomen tijdens de celdeling uit elkaar gaan of hoe celwandproducten terechtkomen op de plaats van bestemming. Zonder transportoorm hebben we een maatschappij zonder vervoer. Stelt U zich de situatie voor als dat bij ons zou gebeuren, geen vervoer. Dan zou Wageningen helemáál niet meer bereikbaar zijn. Onze leefwereld zou krimpen tot middeleeuwse proporties waarin we ons te voet of met paard en wagen verplaatsen als moleculen die alleen maar diffunderen in de cel. Als dat in een plantencel gebeurt zal die cel niet normaal delen of groeien of een wand vormen. Cellen zijn geen objecten; cellen zijn structuren waarin processen plaatsvinden. Een proces impliceert verandering in ruimte en tijd. Celbiologie bestudeert de processen van de levende cel.

Een dynamisch cytoskelet

In de evolutie zijn er twee typen polymeren voor transport in cellen ontstaan: microtubuli en actine-filamenten, die verschillen wat betreft hun opbouw en stevigheid. Microtubuli zijn buisjes met een doorsnede van 25 nanometer, actine-filamenten 7 nanometer dikke draadjes. Op een mm zouden dus 40.000 microtubuli naast elkaar kunnen liggen en 147.000 actine-filamenten. Deze buisjes en

draadjes lopen door de hele cel en organiseren de cel. Microtubuli en actine-filamenten zijn de structurelementen van het transportoom. Het zijn rails, die bij mensencellen net zo gebouwd zijn als bij plantencellen.

Die cytoskeletrails zijn dynamisch. Hun werking leek zo ondoorgrondelijk als die van de bezemsteel van een heks. Ik ben er zeker van dat we de werking van het cytoskelet in de toekomst volledig zullen begrijpen, terwijl die bezemsteel magie zal blijven. Het aspect waarin het cytoskelet lijkt op de bezemsteel is het feit dat er geen gebaande wegen zijn, maar men van ieder punt in het systeem naar ieder ander punt kan gaan. Er is vooral een groot verschil tussen de heksenbezemsteel en het cytoskelet: het transportoom maakt zelf zijn eigen rails, wanneer die nodig zijn. Als er geen behoefte is om van Velp naar Nijmegen te gaan, is er ook geen weg of spoor. Als iemand in alle vroegte van Velp naar Nijmegen wil, wordt de transportbaan stante pede, aangelegd. Dat gebeurt steeds weer, totdat Wageningen meer te bieden heeft. Dan verdwijnt de weg naar Nijmegen en worden de bouwstenen voor de weg naar Wageningen gebruikt. Dus altijd zijn er nieuwe goed onderhouden rails, in die cellen. Cellen zijn flexibel en gebruiken materie efficiënt! Als de transportbaan gevormd is, mag iedereen er gebruik van maken, niet gratis; men moet zijn eigen vehikel en energie meebrengen.

De microtubuli van het cytoskelet zijn gemaakt van heterodimeren van α - en β -tubuline monomeren, tubulinekrallen die zich aan elkaar rijgen tot een ketting. Dertien kettingen vormen samen een plaat die zich sluit tot een buis. De kettingen in de buis groeien, polymeriseren, minutenlang, tot er, zonder aanwijsbare impuls van buitenaf een zogenaamde "catastrofe" plaatsvindt, en de

tubulinekrallen van de ketting rollen, depolymerisatie. Daarna kan, spontaan, de buis weer gaan groeien. Die zogenoemde catastrofe is geen ramp. Het is juist deze dynamische instabiliteit die het cytoskelet zo effectief en efficiënt maakt. Door de afwisseling van groei en krimp, en hergroei in een willekeurige andere richting, wordt de ruimte volledig geëxploreerd. Die willekeur maakt het systeem flexibel. De uiteinden van het cytoskelet patrouilleren in de cel, tot ze vastgegrepen worden door een organel. Dit principe gebruikt de natuur vaak. Het is vergelijkbaar met het in overvloed maken van zaadcellen voor de bevruchting, of antistoffen in het immuunsysteem. Zo maakt het cytoskelet constant uitlopers en mist het bijvoorbeeld een chromosoom dat verslept moet worden niet.

Omdat een tubulinekraal uit een α - en β -tubuline bestaat, en α -tubuline van een dimeer steeds aankoppelt aan β -tubuline aan het uiteinde van de ketting, hebben microtubuli een pluskant van β -tubuline en een minkant van α -tubuline. In feite zijn het niet tubulinekrallen die aankoppelen aan bestaande microtubuli, maar een complex van die kralen met het energierijke GTP, guanosine-trifosfaat. GTP-tubuline koppelt bij voorkeur vast aan de pluskant van de microtubulus. Eenmaal in de microtubulus wordt GTP-tubuline gehydrolyseerd tot GDP-tubuline, het minder energierijke guanosine-di-fosfaat. GDP-tubuline in de buis is stabiel, maar depolymeriseert als het aan een uiteinde zit. Als aan het uiteinde van een microtubulus geen GTP-tubulinekap zit, de meest voorkomende situatie aan de min-kant, vallen de kralen daar van de ketting. Het uiteinde van een microtubulus stabiliseert als het aan een andere structuur vastzit, aan een membraan, een chromosoom of γ -tubuline. Microtubuli zullen dus lang worden als er voldoende GTP-tubuline is om aan de pluskant te polymeriseren en als tegelijkertijd de minkant vastzit. Zulk een groeiend polymeer kan kracht uitoefenen

op het object waar het tegenaan groeit en kan dat object voortbewegen. Dus het cytoskelet zelf kan beweging veroorzaken.

In ons laboratorium analyseert Dr. Jan Vos dit proces van dynamische instabiliteit in relatie tot het begin van de celdeling. Hij maakte de microtubuli van levende tabakscellen van een suspensiecultuur zichtbaar door een fluorescent microtubuli-bindend eiwit in de cel te brengen (GFP-MBD). Het proces van dynamische instabiliteit van microtubuli is nu voor het eerst waargenomen in plantencellen. Groei, catastrofe, krimpen en weer groei, soms in een andere richting, enzovoort. Dit gaat zo door totdat het uiteinde vastgegrepen wordt in dit geval door een andere microtubulus. Daarna vindt er geen catastrofe meer plaats. Dynamische instabiliteit is een intrinsieke eigenschap van microtubuli; ze groeien en krimpen zonder regulerende stoffen ook *in vitro*, buiten de cel als ze op glazen plaatjes gebracht worden. De moleculen die groei en krimp in de cel regelen zullen invloed hebben op de tubuline concentratie en vooral op GTP-hydrolyse. In het systeem dat wij bestuderen vindt groei plaats met een snelheid van 4,8 micrometer per minuut; krimp gaat sneller: gemiddeld 7,9 micrometer per minuut. Dus een microtubulus oscilleert tussen fases van groei en fases van krimp; krimpen gaat sneller dan groeien, en de ene microtubulus kan groeien terwijl de andere microtubulus aan het krimpen is en weer anderen stabiel zijn.

De andere component van het cytoskelet, actine-filamenten, heeft een vergelijkbaar polymerisatie / depolymerisatie-mechanisme, maar de energieleverancier is hier het ATP.

Hoe bewegen nu die organellen over de dynamische rails? Waarmee kunnen we dat vergelijken? Als wij ons voortbewegen, hebben we

vaste grond onder de voeten, de aardbol. We hebben ook een ingebouwde motor, onze spieren, of we binden ons aan een motor met twee, vier of meer wielen. Organellen bewegen over de rails van het cytoskelet, maar niet als vlinders die over bloemstengels lopen, want ze hebben geen intrinsieke motor, geen spieren. Er zijn wel overal motoren aanwezig in het cytoplasma. Organellen pikken de motoren, de vehikels, op uit hun omgeving en binden eraan. Die motoren binden op hun beurt aan de cytoskeletrails en lopen over die rails als touwklimmers. Daardoor kunnen ze stappen maken op de rails van het cytoskelet. Motormoleculen zijn koorddansers, met de organellen op hun rug. Die koorddansers lopen over een dynamisch koord. De beweging is een manifestatie van mechanisch werk dat energie kost, in dit geval geleverd door GTP of ATP. De kennis die we hebben over motormoleculen heeft Ron Milligan van het Scripps Instituut in de VS gebruikt voor een animatie die laat zien hoe zo'n molecuul over het cytoskelet loopt.

De organellen bewégen niet alleen over de transportbanen maar de transportbanen en organellen organiseren elkaar en dus hun maatschappij. Zoals de moleculen in de organellen de werknemers zijn van de fabrieken van de cel zijn, zijn motoreiwitten behalve vehikels ook organisatoren, de ceremoniemeesters van het transporttoom. Ze zijn te vergelijken met de mensen van de catering die op de receptie voor drankjes en hapjes zorgen en daardoor bepaalde bewegingen in de mensenstroom veroorzaken. Hoe doen die motoreiwitten dat? Motoreiwitten zijn attractief voor bepaalde moleculen, een aantrekkingskracht die ook uitgaat van een dienblad met gevulde glazen, waardoor handen de glazen pakken.

Niet alleen motoreiwitten zijn aantrekkelijk. Ook andere moleculen in de cel vallen voor elkaar. Het binden van moleculen aan elkaar,

waardoor een reactie in de cel op gang gebracht wordt, is een levensprincipe. Interacties tussen moleculen die wij bestuderen zijn degene die in cellen van vlinderbloemige planten zoals *Medicago truncatula* veroorzaakt worden door de Nod factor, een molecuul dat uitgescheiden wordt door *Rhizobium* bacteriën. Die Nod factor verandert een molecuul van de wortelcel, waardoor een volgend molecuul geactiveerd wordt om weer aan een ander molecuul te binden. Deze signaaltransductie, die promovendus John Esseling onderzoekt activeert onder andere het actinedeel van het transportoom. Wij denken dat, door die activatie van het actinecytoskelet, de wortelhaar om de bacterie gaat krullen, een proces dat we bestuderen samen met de groep van moleculair bioloog Professor Ton Bisseling. Björn Sieberer onderzoekt hoe de microtubuli reageren op die Nod factor. Hij heeft al gevonden dat endoplasmatische microtubuli in wortelharen dynamischer zijn dan corticale en lanceert zo zijn proefschrift.

Ik wil nu ingaan op de aanpak van celbiologisch onderzoek en zal ons werk aan het transportoom tijdens celdeling, celgroei en celwandvorming als voorbeeld gebruiken. De drie belangrijkste aspecten zijn de logica, het experiment en de theorie vastgelegd in wiskundige modellen.

Celbiologisch onderzoek: de logica

Bepalend voor mijn opleiding tot natuurwetenschapper aan de universiteit in Nijmegen was het bijvak Filosofie, dat ik volgde bij Professor van Melsen, onlangs geëerd met een kunstwerk in de Nijmeegse aula. Op de eerste plaats onderwees hij logisch redeneren: als a is gelijk aan b en b is gelijk aan c, dan is a gelijk aan c. Het

belang zit in het is gelijk teken. Te vaak wordt de volgende redenering gebruikt: als a lijkt op b, en b lijkt op c, dan is a gelijk aan c. Een bekende over microtubuli staat in veel leerboeken:

- Als de richting van de corticale microtubuli overeenkomt met de richting van de laatst afgezette cellulosemicrofibrillen
- en, indien we die microtubuli afbreken de cellulosemicrofibrillen meestal in andere richtingen terechtkomen,
- dan oriënteren corticale microtubuli de richting van de cellulosemicrofibrillen.

Er zitten hier twee adders onder het gras: dat is het woordje 'meestal', dus 'niet altijd', en het feit dat hier niet bij staat dat de richting van de celgroei verandert als de microtubuli afgebroken worden. De richting van de microtubuli zou bijvoorbeeld de aanvoer van wandmateriaal kunnen bepalen en daardoor de groeirichting. De verkregen celgeometrie zou dan in tweede instantie bepalend kunnen zijn voor de richting van de cellulosemicrofibrillen.

We kunnen deze controversen oplossen door de richting van de corticale microtubuli en de cellulosemicrofibrillen te bestuderen in niet-groeiende cellen. Dat hebben we gedaan. Wat bleek? De laatst afgezette cellulosemicrofibrillen waren niet evenwijdig aan de corticale microtubuli en als de corticale microtubuli afgebroken werden, veranderde de celwandtextuur niet¹⁾. Dus de hypothese klopt niet in zijn algemeenheid, maar misschien wel voor groeiende cellen. Dat laatste lijkt nu ook nog weerlegd te worden door werk met de *Arabidopsis rsw1* en *mor1* mutanten die in Australië onderzocht worden door de groep van Williamson en Wasteneys²⁾.

Celbiologisch onderzoek: het herhaalbare experiment

Het tweede aspect van natuurwetenschap is de aard van de natuurwetenschappelijke methode. De essentie van materie is, dat, mits er niets verandert, deze zich vandaag hetzelfde gedraagt als gisteren en dat, indien er wel iets verandert in die materie of de omstandigheden ervan, deze zich anders zal gedragen. Daarop berust het wetenschappelijke experiment: herhaalbaarheid. Als ik vandaag een meloen loslaat, valt die meloen naar beneden, morgen gebeurt dat ook, net als twee jaar geleden. De enige manier om herhaalbaarheid te toetsen is kwantificering. Lijkt het resultaat op wat we gisteren zagen, of is het inderdaad hetzelfde? Het gaat in de celbiologie niet meer om wat en waar, de mooie plaatjes, maar om vragen naar hoe veel, hoe groot, hoe zwaar, hoe sterk, in welke richting?

Een voorbeeld van celbiologisch onderzoek waarin kwantificering een aanzet gaf tot inzicht in de functie van een fenomeen, is het werk van Dr. Norbert de Ruijter aan het actine-cytoskelet van wortelharen van wikke³⁾. Groeiende wortelharen hebben achter de top een dicht actine-cytoskelet. Als die wortelharen behandeld worden met de eerder genoemde Nod factor uit *Rhizobium* bacteriën, neemt het aantal actine-filamenten toe. Norbert telde de aantallen bundels van actine-filamenten in snijvlakken dwars op de wortelhaar. In de grafiek zien we dat het aantal filamenten net onder de top toeneemt. Nod factor versterkt binnen drie minuten het transportoom van deze cellen. Uit ons eerder onderzoek⁴⁾ weten we dat dit transportoomdeel betrokken is bij het vervoer van grondstoffen naar de top van de cel, voor de groei daar ter plaatse. Dat eerdere werk van onze groep hoort volgens de recente CWTS-Elzevier studie tot de "hot papers" uit de periode 1997-2000, de 1% meest geciteerde biologische artikelen in de wereld.

De uiterste top van de groeiende wortelhaar heeft geen detecteerbare actine-filamenten. Actinepolymerisatie vanaf een afstand van 1 micrometer van de celtop is recentelijk ook waargenomen in de groep van Tim Mitchison in Harvard in dierlijke cellen⁵⁾. Celbiologie moet kwantitatief zijn.

Celbiologisch onderzoek: de theorievorming in wiskundige modellen

Een derde aspect van natuurwetenschappelijk onderzoek, al toegepast in de Griekse oudheid maar nog steeds actueel, is het verloop in cycli: van Hypothese via Antithese naar een Synthese, die zelf weer een verifieerbare theorie, een hypothese is. Experiment in het laboratorium, data-analyse, nieuwe kennis, theorievorming, berekeningen, voorspellingen, en dan ontwerp en uitvoering van nieuwe experimenten. Nieuwe aspecten van de moderne hypothesegedreven onderzoeksstrategie, zijn de analyse van groepen genen die samen een systeem vormen, zoals het transportoom, gecombineerd met complexe door computers uitgevoerde berekeningen.

We zijn aan het eind gekomen van 400 jaar experimenteel biologisch onderzoek waarin we veel onderzoeksdata konden begrijpen zonder analytische vaardigheden. Uit de systeembioologie komen gigabytes informatie. Anno 2002 moeten Informatica en Wiskunde tot de bagage van iedere bioloog en iedere Wageningse student behoren. Als we wetmatigheden vastgelegd hebben in formules, kunnen we verifieerbare, of beter, falcifieerbare, voorspellingen doen over vervollexperimenten. Zo gaan, juist in de celbiologie, de formules het onderzoek sturen. Ik geef daar een voorbeeld van uit eigen werk.

In een elektronenmicroscopische foto van de textuur van cellulosemicrofibrillen van wortelharen van de paardenstaart is te zien dat die fibrillen hoeken maken met elkaar. Als promovendus heb ik de hoeken tussen al die microfibrillen gemeten. Zonder de computerprogramma's die we nu hebben, moest ik op handen en voeten met de gradenboog over de foto's kruipen die uitvergroet waren tot kamerbreed formaat. Door al die metingen kon ik het geometrische model voor celwandvorming introduceren, met als basis een formule die de richting van elke cellulosemicrofibril beschrijft.

$$\text{Sinus } \alpha = \frac{Nd}{\pi D}$$

In deze formule is α de hoek die elke fibril maakt met de lengterichting van de cel. N is het aantal aanwezige fibrillen, d de afstand tussen de fibrillen in een laag, hoofdletter D de celdiameter en π is de constante 3,14..... Hoe meer fibrillen in een laag, des te kleiner de hoek, des te steiler de microfibrillen in de cel, des te minder buigzaam die celwand. Ik moest nu met een idee komen hoe N zou kunnen variëren. Die vraag kon teruggebracht worden tot de vraag: "hoe regelt de cel het aantal actieve cellulosesynthasen, de complexen, machientjes die de cellulosemicrofibrillen maken?" Als de cel kan regelen waar cellulosesynthasen in de plasmamembraan gebracht worden, of waar bestaande synthasen geactiveerd worden, kan de cel het aantal fibrillen dat op een bepaalde plaats op een bepaald moment gemaakt wordt, N , bepalen. De formule voorspelt dat de juiste celwandtexturen gemaakt worden als er domeinen zijn, gebieden waarin de synthasen in de plasmamembraan gebracht

worden, en ook dat die domeinen bewegen of successievelijk geactiveerd worden⁷⁾.

Hier begint mijn samenwerking met Professor Dr. Bela Mulder van het FOM-instituut voor Atoom en Molecuul Fysica, AMOLF, sinds kort buitengewoon hoogleraar aan Wageningen Universiteit bij onze leerstoelgroep. Door wiskundige berekeningen met als uitgangspunt die formule, werd mijn geometrische model uitgetest op consistentie, robuustheid en adequaatheid. Het geometrische model voor celwandvorming heeft die test buitengewoon goed doorstaan⁸⁾. Ik ga hier niet in op de wiskundige details⁹⁾, want dat is mijn expertise niet en U kunt later dit jaar naar de inaugurale rede van Professor Mulder komen luisteren. Ik wil wel een resultaat laten zien. Als Bela de computer voert met de formule en de juiste parameters kiest, berekent de computer de vier structuren¹⁰⁾, die exact de hoofdtexturen zijn van plantencelwanden: helicoïdaal, gekruisd, helicaal en axiaal.

Het werd tijd om weer laboratoriumexperimenten te gaan doen om te verifiëren of er inderdaad plasmamembraandomeinen zijn waar insertie of activatie van cellulosesynthasen plaatsvindt en of die domeinen opschuiven of successievelijk geactiveerd worden. Dat is het promotieproject van Miriam Akkerman. Ze gebruikt hiervoor wortelharen van *Arabidopsis* en is begonnen met het bestuderen van het gedrag van de Golgi-lichamen die langs de plasmamembraan bewegen. We weten dat de cellulosesynthasen die de cellulosemicrofibrillen maken, de zogenaamde rozetten, actief zijn in de plasmamembraan. De cellulosesynthasen komen in de plasmamembraan doordat de Golgi-blaasjes met de inactieve rozetten via een exocytoseproces incorporeren in de

plasmamembraan. Henk Kieft maakte vriessetsfoto's van zo'n Golgi-lichaam waarvan juist een blaasje fuseert met de plasmamembraan.

Miriam wil weten of er stations zijn waar die Golgi-lichamen stilstaan. De eerste resultaten wijzen daar op. Het gedrag van de Golgi-lichamen kan beschreven worden als "kus and ren" parkeerplaatsen bij stations, zoals je die in Amerika ziet.

Het Golgi-lichaam brengt zijn blaasje naar het station; er is tijd voor een kus en weg is het blaasje met de trein. We zien alleen de Golgi-lichamen en willen in beeld brengen waar en hoe lang en met hoeveel bij elkaar ze stilstaan bij een station. Het volgende deel van het project is het op de kaart zetten van de stations waar die 'kus en ren' activiteiten plaatsvinden, inclusief de moleculen achter de loketten waar de transportbewijzen verkocht worden, en de conducteurs die de kaartjes knippen. Die conducteurs zijn de exocytosemoleculen die controleren of het blaasje wel in de plasmamembraan gebracht mag worden en die een helpende hand geven tijdens het instappen. Hier is dat transportoem weer zo essentieel. Het bepaalt waar de blaasjes met cellulosesynthasen afgeleverd moeten worden, en zorgt ervoor dat die levering plaatsvindt. Als het transportoem op enig punt faalt wat betreft management, organisatie, verpakking, sortering, transport, aflevering, kaartcontrole, of dienstverlening zal de cel niet goed functioneren. Voor wie goed opgelet heeft is het duidelijk dat het mis zal gaan wanneer de Golgi-blaasjes alleen rondjes rijden om de kern.

We moeten natuurlijk ook de celwand kennen van die *Arabidopsis* wortelharen waarin Miriam de cellulosesynthasen bestudeert. Dat is werk van Adriaan van Aelst en Tiny Franssen-Verheijen. Adriaan heeft al laten zien dat er inderdaad secundaire celwand afgezet wordt

in de wortelharen van dit onkruid. Tiny bestudeert hoe die wand eruit ziet. In een doorsnede door de celwand waarin de cellulosemicrofibrillen zichtbaar zijn, zien we dat ze in de primaire wand in alle richtingen liggen en in de secundaire celwand in de lengterichting van de wortelhaar, een axiale textuur.

Celbiologisch onderzoek: de toekomst: Fysica van de cel

De Celbiologie is sterk in ontwikkeling. Het is nu mogelijk om levende cellen te onderzoeken, dankzij geavanceerde microscopen, fluorescente toetsstoffen, digitalisering van de microscopische output en manipulatie van onderdelen van levende cellen. De organellen van een cel kunnen we oppakken en verplaatsen en de krachten die daarbij optreden meten met behulp van een optisch pincet, een laserstraal. Dr. Norbert de Ruijter van onze groep heeft dit gedaan met organellen van een pollenbuis. Een organel kan worden opgepakt en geduwd in het gebied aan de celtop waar het normaal niet komt. Als dat organel losgelaten wordt, beweegt het terug naar de oorspronkelijke plaats. Met dit soort celmanipulatie kunnen we de fysieke eigenschappen van de celinfrastructuur bestuderen. We hopen volgend jaar dergelijke apparatuur in Wageningen te krijgen via een NWO apparatuurfinanciering. Om bij die wetenschappelijke top te blijven horen, hebben we natuurlijk wel de meest moderne apparatuur nodig. Wat betreft microscopie is de ontwikkeling van nieuwe technieken nog maar aan het begin: iedere verandering in licht die veroorzaakt wordt door materie is in principe waar te nemen en te meten.

Die ontwikkeling van nieuwe apparatuur is ook nodig. De wetten van fysica en chemie controleren de respons van het groeiende

organisme op de genetische instructies. De bestudering van de fysische aspecten van celonderdelen is een nog vrijwel onontgonnen gebied. Gelukkig hebben FOM en ALW, de fysica en biologiegeledingen van NWO, de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek, het Fysische Biologie programma opgezet om zulk onderzoek te financieren. Een van deze projecten loopt op onze leerstoelgroep. Dat is het eerder genoemde onderzoek van Dr. Jan Vos, dat gedaan wordt in samenwerking met Professor Dogterom, en Professor Mulder, beiden van FOM instituut AMOLF en met Professor Gadella van de Universiteit van Amsterdam. Voor een tweede project, de studie van de krachten die de cellulosemicrofibrillen uitoefenen tijdens hun vorming *in vitro* hebben we twee vacatures.

Een derde project met fysische aspecten is het promotieonderzoek van Agnieszka Ozdoba, mede mogelijk gemaakt door een financiering van AMOLF. Zij onderzoekt de functie van het transportoom bij de vorming van de nieuwe celwand tijdens de celdeling. Ze zal fluorescente balletjes en blaasjes in cellen injecteren en hun lot in die cel bestuderen. Verzamelen de balletjes zich op de juiste plaats? Zullen de blaasjes met elkaar fuseren? Hangt dat af van hun grootte, hun stijfheid, hun samenstelling, hun inhoud, de motoreiwitten die op hen aangebracht zijn en aan het cytoskelet binden? Agnieszka is begonnen aan een reis, met het transportoom!

Onderwijs in de celbiologie

In Wageningen tintelt het op alle fronten. Het tintelt van ambitie. Ook op het onderwijsfront is de dynamiek niet te stuiten. Het is niet

alleen goed onderzoeken in Wageningen, maar ook goed studeren. Als het onderwijs in een gebied verwaarloosd wordt, wrekt zich dat in het onderzoek, niet alleen aan de universiteiten maar ook aan instituten en in het bedrijfsleven. Door de stormachtige ontwikkelingen in de biologie moeten curricula aangepast worden. Wageningen Universiteit werkt constant aan vernieuwing van het onderwijs. De leerstoelgroep Plantencelbiologie levert daarin een stevige bijdrage. Alle lesstof is in beweging. Alle vakken worden vernieuwd, er komen nieuwe vakken bij, de aandacht verschuift van de anatomie naar de celbiologie. Er is steeds meer professionele begeleiding, excellent contact met en afstemming op de vooropleiding. Vakken worden samen met andere groepen gegeven. Digitale hulpmiddelen van intra- en internet worden benut. Goed onderzoek is de basis voor universitair onderwijs, en goed onderwijs is het fundament voor goed onderzoek.

Toepassing van celbiologisch onderzoek

Toepassing van fundamenteel onderzoek is in Wageningen een heet hangijzer. Goed fundamenteel onderzoek dat nieuwe inzichten verschaft, levert geld op. Dat laat de geschiedenis van wetenschap en technologie van de laatste honderd jaar zien. Toepassing van kennis wordt per definitie voorafgegaan door verwerving ervan. Slecht onderzoek, dat geen nieuwe inzichten oplevert, zal nooit toepassingen opleveren. Het punt is dan ook niet of onderzoek fundamenteel of toepasbaar is, maar of het goed of slecht is. In feite gaat het hete hangijzer over een andere vraag: levert fundamenteel onderzoek op korte termijn geld op? Op welke termijn dat geld binnenkomt, en bij wie, laat zich soms slecht voorspellen, maar Wageningen Universiteit en Research Centrum is in een uitstekende

positie. Universitaire onderzoekers doen fundamenteel onderzoek, DLO medewerkers onderzoeken of nieuwe inzichten toepasbaar zijn en medewerkers van het Praktijkonderzoek maken toepassingen te gelde. Geweldig, om aan zo'n instelling te werken of te studeren met als motto: veilig voedsel in een leefbare wereld!

Dankwoord en slot

Mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren, voordat ik mijn betoog afsluit, wil ik een aantal personen bedanken.

**Leden van de Raad van Bestuur van Wageningen Universiteit,
leden van de Toetsingscommissie Persoonlijke Hoogleraren,
Hooggeleerde Jacobsen, directeur wetenschap van de
Kenniseenheid Plant, beste Bert en Evert,**

Ik dank jullie voor het in mij gestelde vertrouwen.

**Hooggeleerde Sassen, emeritus hoogleraar van de Katholieke
Universiteit Nijmegen, beste André,**

Je gaf me de kans om te promoveren, nadat ik 10 jaar uit de wetenschap was geweest. Ik blijf je dankbaar voor dat vertrouwen. We spraken over "meten is weten" en brachten dat in praktijk.

**Hooggeleerde van den Ende, emeritus hoogleraar
Plantenfysiologie van de Universiteit van Amsterdam, beste
Herman,**

Jij was mijn sponsor op dat cruciale moment na mijn promotie toen je hulp bood bij het verwerven van een EMBO beurs voor een postdoc-positie op het befaamde John Innes Centre in Engeland. Het was een plezier om, als voorbereiding daarop, 2 maanden in jouw

laboratorium te werken, en te ervaren hoe optimaal een groep functioneert als de wetenschappelijke kwaliteit van de leider onbetwist is.

Hooggeleerde Willemse, emeritus hoogleraar Plantkunde van Wageningen Universiteit, beste Michel,

Jij hebt me hier aangesteld en de kans gegeven een eigen onderzoekslijn te ontwikkelen; daarvoor wil ik je danken.

Hooggeleerde van Went, hoogleraar Experimentele Plantenmorphologie en Celbiologie, beste Jacques,

Je was een steun tijdens de reorganisatie van onze leerstoelgroep tot Plantencelbiologie, niet in het minst door mijn enthousiasme af en toe te temperen met de vraag: "wat denk je hiermee te bereiken"? Ik dank je voor die lessen in diplomatie.

Hooggeleerde Bisseling, hoogleraar Moleculaire Biologie van Wageningen Universiteit, beste Ton,

Zoals Herman mijn sponsor was, ben jij mijn maatje. Ik hoop en verwacht onze samenwerking, met nog meer wederzijdse inzet, voort te zetten.

Hooggeleerde Walraven, directeur van FOM instituut AMOLF, beste Jook,

Je hebt me aangesteld als "Adviseur Bio-organisatie" van AMOLF en daarmee mijn regelmatig bezoek aan jouw instituut officieel gemaakt. Die werkbezoeken zijn een groot genoegen. Ik dank je voor jouw grote inzet voor de bevordering van onderzoek van de biologische materie.

**Hooggeleerde Dogterom van AMOLF, en Buitengewoon
hoogleraar aan de Rijksuniversiteit van Leiden, beste Marileen,**

Jouw proefschrift heeft een grote indruk op mij gemaakt en je huidige werk is inspirerend. Ik ben gelukkig met onze samenwerking.

**Hooggeleerde Mulder van AMOLF, en buitengewoon hoogleraar
aan Wageningen Universiteit, beste Bela,**

Ik heb je weten te interesseren voor de plantencel via die ene formule, waar ik het zojuist over had. De vrijdag dat jij naar Wageningen komt, scoort als hoogtepunt van de week.

**Zeergeleerde Schel, van Lammeren, en de Ruijter, Zeer geachte
Kieft, Franssen Verheijen en van Aelst, beste Jan, André,
Norbert, Henk, Tiny en Adriaan,**

Samen verzorgen we als vaste staf het onderwijs in de plantencelbiologie en verwante vakken, en doen onderzoek aan het transportoom. Jan en André, jullie trekken de onderzoekskar die ik duw. Norbert, Henk, Tiny en Adriaan, de technisch/analytische staf van de leerstoelgroep, jullie zorgen ervoor dat het allemaal werkt, en zijn zo de spil van de leerstoelgroep.

**Beste Postdocs, AiO's, OiO's, PhD studenten en
gastmedewerkers, die nu werkzaam zijn op onze leerstoelgroep
of dat in het verleden waren,**

Veel van het onderzoek wordt door jullie uitgevoerd. Jullie uit zien uitgroeien tot onafhankelijke onderzoekers geeft mij de meeste voldoening

Dames en heren studenten,

Jullie zijn onze klanten. Men zegt wel dat studenten planten niet aibaar vinden omdat ze niet bewegen. Hun celorganellen doen dat wel. Dit is de eeuw van de biologie. Voor mij is dit het decennium van de plantencelbiologie. In dit vak is de essentie van leven aan de orde. Je hebt die kennis nodig om nu mee te kunnen praten en straks te beslissen over milieu, voeding, duurzame energieproductie en genetisch gemodificeerde producten.

Lieve John, Cynthia, Aldo en Nivja,

Is er meer in het leven dan het bestuderen van cellen en daarover onderwijzen? John, jij geeft mij die andere kant van het leven. Je bent een baken als het roerig is, een houvast voor bezinning, soms een thuishaven voor feest, maar altijd en vooral een metgezel.

Cynthia, Aldo, Nivja, ik sta hier niet ondanks jullie. Het is jullie voorbeeld dat ik volg. Intens zijn jullie bezig met muzikale composities, zakelijke opdrachten en wetenschappelijke artikelen. Kon ik daar naast gaan zitten spinnen?

Dames en heren,

Ik dank U voor uw aanwezigheid en uw aandacht.

Referenties

1. Emons A.M.C., Derksen J., Sassen M.M.A. 1992. Do microtubules orient plant cell wall microfibrils? *Physiologica Plantarum* 84: 486-493
2. Sugimoto K, Williamson R.E., Wasteneys G.O. 2000. New techniques enable comparative analysis of microtubule orientation, wall texture, and growth rate in intact roots of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 124: 1493-1506
3. De Ruijter N.C.A., Bisseling T., Emons A.M.C. 1999. *Rhizobium* Nod factors induce an increase in subapical fine bundles of actin filaments in *Vicia sativa* root hairs within minutes. *Molecular Plant Microbe Interaction* 12, 839-832
4. Miller D.D., de Ruijter N.C.A., Bisseling T., Emons A.M.C. 1999. The role of actin in root hair morphogenesis: studies with lipochito-oligosaccharides as a growth stimulator and cytochalasin as an actin perturbing drug. *Plant Journal* 17:141-154
5. Watanabe N., Mitchison, T.J. 2002. Single-molecule speckle analysis of actin filament turnover in lamellipodia. *Science* 295, 1083-1086
6. Kitano H. 2002. Systems Biology: a brief overview. *Science* 295, 1662-1664
7. Emons A.M.C. 1994. Winding threads around plant cells: a geometrical model for microfibril deposition. *Plant Cell & Environment* 17, 3-14
8. Emons A.M.C., Mulder B.M. 1998. The making of the architecture of the plant cell wall: how cells exploit geometry. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 95, 7215-7219

9. Mulder B.M., Emons A.M.C. 2001. A dynamical model for plant cell wall architecture formation. *Journal Mathematical Biology* 42, 261-289
10. Emons A.M.C., J.H.N. Schel, B. M. Mulder. 2002. The geometrical model for microfibril deposition and the influence of the cell wall matrix. *Plant Biology* 4, 22-26