

Landbouwniversiteit

redoxenzymen:

'daar zit wat in'

Ontvangen

31 MEI 1996

UB-CARDEX

door prof. dr. N.C.M. Laane

NN02963

**REDOXENZYMEN:
'DAAR ZIT WAT IN'**

door prof.dr. N.C.M. Laane



**Inaugurele rede uitgesproken op 4 april 1996
bij de aanvaarding van het ambt van gewoon
hoogleraar in de Biochemie met bijzondere aandacht
voor de moleculaire enzymologie aan de
Landbouwuniversiteit te Wageningen**

CD-ROM "REDOXENZYMEN: DAAR ZIT WAT IN"

De inaugurele rede is verkrijgbaar op CD-ROM. Middels een slide-show met bewegende beelden en tekst wordt het onderwerp "Redoxenzymen: daar zit wat in" nader uitgewerkt.

Voor een optimaal beeld is een 386 PC of hoger vereist met Windows 3.1 (schermformaat 640 * 480 * 256 en small font).

De kosten bedragen f 25,-.

Voor informatie en bestellingen kunt u terecht bij:

Colja Laane

Vakgroep Biochemie

Landbouwniversiteit Wageningen

Dreijenlaan 3

6703 HA Wageningen

tel: 0317-482868

fax: 0317-484801

e-mail: Colja.Laane@ALG.BC.WAU.NL

REDOXENZYMEN: 'DAAR ZIT WAT IN'

*Mijnheer de rector magnificus, familieleden, vrienden,
medewerkers van de Landbouwniversiteit, studenten
en andere belangstellenden,*

Het woord enzym is afgeleid van de griekse woorden *en*, dat 'in' betekent en *zumè*, dat voor 'zuurdeeg' staat. Het werd in 1867 door de Duitse onderzoeker Wilhelm Kühne geïntroduceerd, die toen reeds constateerde: 'zuurdeeg: daar zit wat in'.

Inmiddels hebben we een aardig beeld van wat enzymen zijn, waar ze voorkomen en bij welke processen ze betrokken zijn. Enzymen, wie kent ze tegenwoordig niet, zijn betrokken bij alle essentiële levensprocessen. Zij vormen de tandwieltjes van de klok, die alle leven op aarde mogelijk maakt; van de kleinste bacterie tot het hoogstontwikkelde dier, dat ook wel mens wordt genoemd.

Zij katalyseren de talloze voor de levensverrichtingen essentiële, chemische reacties in de natuur met een hoge snelheid. Het katalytisch vermogen van deze biologische raspaardjes is enorm: onder optimale omstandigheden verlopen de door enzymen gekatalyseerde reacties doorgaans 10^8 tot 10^{11} maal zo snel als de overeenkomstige niet-enzymatische reactie. Kunt u zich dat voorstellen? D.w.z. dat enzymen in staat zijn een reactie met gemak één miljard keer te versnellen en dat onder huis-, tuin- en keukencondities. Behalve door hun doeltreffendheid worden enzymen vooral gekenmerkt door een grote mate van precisie, ook wel specificiteit genoemd. Dit houdt in dat één enzym slechts een beperkt aantal stoffen, die doorgaans chemisch nauw verwant zijn, kan omzetten. Voor welhaast elke chemische reactie in levende

organismen is derhalve de bemiddeling van een afzonderlijk enzym noodzakelijk. Door een nauwgezette regulatie van de actieve hoeveelheid van elk enzym is de natuur in staat het verloop van elke reactie onder controle te houden, waardoor een strakke coördinatie van alle biologische processen mogelijk wordt. Elk enzym heeft een specifieke taak en alle tandwielletjes tezamen maken het mogelijk dat de biologische klok tikt zoals die op aarde tikt.

Aangezien vrijwel alle biologische processen door enzymen worden gekatalyseerd, worden de fysiologische eigenschappen of het karakter van een levend organisme bepaald door de enzymen die erin aanwezig zijn. Dat een bacterie zich blijft gedragen als een bacterie en nooit als bijvoorbeeld een plant of dier vloeit mede voort uit het feit dat een bacterie een bepaalde verzameling enzymen bezit, die anders is dan die van planten of dieren. In de natuur wordt een dubbeltje niet zo gauw een kwartje. Daarvoor zijn miljoenen jaren nodig; een proces dat evolutie wordt genoemd. Enzymen komen dus voor in alle vormen van leven met ieder huisje zijn muisje.

Bij welke reacties en processen zijn enzymen allemaal betrokken? Enzymen spelen een belangrijke rol bij de opbouw en vermenigvuldiging van levende materie, ook wel groei genoemd, het onderhoud en als de tijd rijp is bij de afbraak; waarmee de levenscyclus rond is.

Het metabole netwerk

Een ingewikkeld, streng gereguleerd en genetisch bepaald netwerk van duizenden biologische reacties

maakt deze cyclus van opbouw, onderhoud en afbraak mogelijk.

Afhankelijk van de omstandigheden en in welke fase van de strijd een organisme zich bevindt worden de tandwieltes en daarmee (deel)processen aan- of uitgezet. De complexiteit van het enzymatische of metabole netwerk is enorm en neemt toe met elke tree op de evolutionaire ladder. Wat u hier ziet is slechts een héél klein stukje van een metabool netwerk, dat in vele organismen voorkomt: de zogenaamde citroenzuurcyclus. Elke pijl staat voor een reactie, die door één enkel specifiek enzym wordt gekatalyseerd.

Kleine foutjes of veranderingen in het functioneren van het metabole netwerk kunnen grote gevolgen hebben. Gevolgen, die zowel positief als negatief kunnen uitpakken. Als negatief worden de ontsporingen ervaringen die leiden tot bijvoorbeeld kanker of andere ongewenste ziekten. Positief zijn over het algemeen veranderingen die leiden tot organismen die beter instaat zijn te overleven. Dergelijke veranderingen vormen de motor van de evolutie. Zonder deze geprogrammeerde en gedoseerde veranderingen zou leven op aarde niet mogelijk zijn. Intern is de mens dus uiterst efficiënt georganiseerd. Hoe zou de mensheid eruit zien indien naar buiten toe dezelfde graad van organisatorische perfectie bereikt kan worden?

Hoeveel verschillende enzymen zijn er wel niet, zult u zich misschien afvragen? De schattingen lopen uiteen, maar een doorsnee micro-organisme, zoals een bacterie bevat al gauw zo'n 1000-2000 verschillende enzymen, die afhankelijk van de omstandigheden aan- of afwezig zijn. Vaak komen enzymen in meerdere kopieën voor, waardoor het totale bestand zo'n

200.000 bedraagt. Hoe zit dat met planten en dieren? In tegenstelling tot bacteriën zijn planten en dieren opgebouwd uit meerdere cellen en zijn de individuele cellen groter dan die van bacteriën. Grofweg bevatten plantaardige en dierlijke cellen twee keer zoveel verschillende enzymen als de ééncellige micro-organismen. Nemen we het aantal kopieën in ogen-schouw dan komen we voor deze hogere organismen op meer dan 500.000 enzymmoleculen per cel. Wederom geldt dat deze enzymen niet allemaal tegelijk actief zijn. Voor groei, bijvoorbeeld, zijn vaak andere enzymen nodig dan voor onderhoud of afbraak.

Als we ons vervolgens realiseren dat bijvoorbeeld een mens uit ongeveer 10^{12} cellen bestaat dan praten we al gauw over 10^{17} tot 10^{18} enzymen per mens. Dat is 1 miljard keer 1 miljard enzymen. Er zitten dus heel wat enzymen in een mens en dan praat ik nog niet eens over de botten, die er ook nog in moeten, het water dat zo'n 70% van onze massa beslaat, alle andere eiwitten, het genetisch materiaal, vetten, koolhydraten, zouten enz. Hier kunnen we de volgende conclusies uit trekken: cellen zitten propvol met biologisch materiaal. Zo vol dat de consistentie te vergelijken valt met dikke erwtensoep. Voorts kan geconcludeerd worden dat cellen heel klein zijn en dat enzymen nog vele malen kleiner moeten zijn. De grootte van enzymen drukken we derhalve niet uit in meters, niet in millimeters, niet in micrometers maar in nanometers, hetgeen overeenkomt met één miljardste meter. Als we letterlijk de enzymen van één mens eens op een rijtje zetten, dan kom ik tot een kralenketen van tenminste 1 miljoen kilometer: 10^{17} enzymen per mens maal een gemiddelde lengte van

10 nm. Dat is ruim 20 keer de omtrek van de aarde!
Ik heb het meerdere malen nagerekend en kan het nog
steeds niet geloven.

Als dit uw voorstellingsvermogen te boven gaat, helpt
de volgende vergelijking wellicht. Stel een doorsnee
enzym heeft de grootte van een voetbal, dan is de
grootte van een willekeurige plantaardige of dierlijke
cel in verhouding zo groot als deze aula. Een aula
gevuld met minstens 500.000 voetballen. 10^{12} aula's
hebben we vervolgens nodig om de grootte van een
mens voor te stellen.

De structuur van enzymen

Het zal duidelijk zijn dat we enzymen niet met het
blote oog kunnen zien. Het onderscheidend vermogen
van zichtbaar licht is bij lange na niet toereikend om
zelfs met een zeer gevoelige microscoop de detail-
structuur van enzymen waar te nemen. Daarvoor zijn
speciale indirecte technieken nodig zoals Röntgen-
diffractie of NMR.

Met behulp van deze technieken zijn inmiddels
honderden structuren van enzymen opgelost. Alle
enzymen zijn eiwitten, die weer zijn opgebouwd uit
één of meerdere ketens van aan elkaar gekoppelde
aminozuren. Elk enzym heeft zo zijn eigen karakteris-
tieke aminozuurvolgorde en bijbehorende unieke
ruimtelijke structuur, waaraan het substraat naadloos
kan binden als een soort sleutel in een slot. Enzymen
vormen echter geen starre sloten zoals wij die kennen,
maar zeer flexibele en plooibare structuren. Het is een
actieve omstrengeling, waarbij het enzym zich als het
ware om het substraat vlijt. E.e.a. gaat gepaard met

subtiële conformatieveranderingen, waardoor lokaal een klimaat wordt geïnduceerd dat het katalytisch proces in gang zet. Het verloop van de reactie wordt voor een belangrijk deel bepaald door de relatieve oriëntatie van de aminozuren t.o.v. elkaar en de om te zetten verbinding. Als u uit de gebruikte woordkeuze opmaakt dat het nogal vaag is hoe enzymen precies werken dan kan ik u niet anders dan gelijk geven. Ondanks alle inspanningen is het nog steeds onduidelijk, zelfs voor de meest simpele reacties, hoe enzymen nu precies op atomaire schaal werken. Zoals u later zult zien vormt het ophelderen van bepaalde reactiemechanismen een belangrijk thema van ons vakgroeponderzoek.

Enzymen worden onderverdeeld in een aantal hoofdgroepen. Zo kennen we de oxidoreductasen, transferasen, hydrolasen, lyasen, isomerasen en ligasen. Elke groep is in staat een bepaald type reactie uit te voeren. De oxidoreductasen, bijvoorbeeld, zijn betrokken bij oxidatie- en reductiereacties, transferasen daarentegen zijn in staat om functionele groepen over te dragen van het ene molecuul naar het andere. Hydrolasen op hun beurt zijn weer uiterst effectieve molecuulsplitsters, enz. enz.

Redoxenzymen

Het vervolg van mijn rede zal zich toespitsen op de oxidoreductasen, daar dit het hoofdthema vormt van het vakgroeponderzoek. Oxidoreductasen worden ook wel redoxenzymen genoemd en naast de bekende eiwitketen bevatten zij iets extra's; namelijk redoxactieve groepen die mede betrokken zijn bij het katalytisch proces.

Enkele redoxactieve groepen zijn metalen, haem verbindingen en de zgn. flavinen. De eerstgenoemden zijn vaak bruin van kleur, de haem-enzymen rood en de flavine-bevattende enzymen geel. Bij redox-enzymen moet u denken aan reacties waarbij elektronen zijn betrokken. Als elektronen worden onttrokken aan een verbinding dan praten we over oxidatie en als elektronen worden toegevoegd aan reductie. Redoxenzymen spelen derhalve een belangrijke rol bij elektronenoverdrachtreacties in cellulaire processen.

Bij elektronenoverdracht denkt u wellicht aan stroom en bij stroom aan energie. Het zal u daarom waarschijnlijk niet verbazen dat redoxenzymen onder andere betrokken zijn bij de energiehuishouding van een cel. De energie, die opgesloten zit in de brandstof voor een cel, wordt mede door redoxenzymen stapsgewijs vrijgemaakt en omgezet in andere chemische vormen van energie, die vervolgens gebruikt wordt voor groei en onderhoud. Net als de motoren, die wij allemaal kennen, wordt een deel van de energie omgezet in warmte en komt er een beetje afval vrij.

Cellen zijn uiterst efficiënt in hun energiehuishouding. Echte hoog rendementsketeltjes zijn het, die kunnen draaien op een energieverval van 1 Volt. Biologische nanotechnologie in optima forma. Een beetje auto heeft al 12 Volt nodig om te kunnen functioneren en het eerste de beste schemerlampje doet het niet met minder dan 220 Volt.

Dat redoxenzymen ook echt stroom kunnen opwekken illustreert de volgende opstelling, die ik zo'n 13 jaar geleden als grapje in elkaar heb gezet. Het betreft een

enzymbatterij gekoppeld aan een horloge. De batterij loopt op suiker. In dit geval op glucose, de brandstof waar ook veel biologische systemen hun energie uit halen. De energie die opgeslagen zit in glucose wordt door het redoxenzym glucose oxidase gedeeltelijk onttrokken. De elektronen die daarbij vrijkomen worden vervolgens in deze opstelling door een draad geleid en het resultaat is stroom en een potentiaalverschil van ongeveer 0.6 Volt. Twee van dergelijke biobatterijtjes aan elkaar gekoppeld leveren zo'n 1.2 Volt, hetgeen voldoende is om het horloge te laten lopen. Helaas heeft het horloge niet lang gelopen. Het enzym bleek namelijk nogal instabiel.

De variëteit in redoxenzymen is enorm en het einde is nog lang niet in zicht. Nog regelmatig worden nieuwe redoxenzymen met nog onbekende redox-actieve groepen ontdekt. De vakgroep heeft op dit gebied een goede naam op te houden. Hoe wonderlijk en ingenieus deze groepen wel niet in elkaar zitten wil ik aan de hand van een aantal voorbeelden schetsen. Daarbij zal ik mij beperken tot een aantal metaal-, haem- en flavine-bevattende eiwitten.

Allereerst wil ik u meenemen in de wonderlijke wereld van de metaal-bevattende eiwitten.

Het Periodiek Systeem

Als leidraad wil ik daarbij het Periodiek Systeem gebruiken. Dit systeem is zonder twijfel het belangrijkste concept in de scheikunde en afgeleide disciplines zoals de biochemie. Het levert een beknopt organisatieschema van de hele scheikunde en het toont prachtig aan dat de elementen geen willekeurige

brokstukken van op zichzelf staande eigenschappen zijn, maar dat zij aan elkaar gerelateerd zijn, tendensen vertonen en bijeen liggen in families. Wilt u hier meer over weten dan verwijs ik u naar het prachtige, zeer goed leesbare boek 'Het koninkrijk der elementen' van schrijver-fysicus Peter Atkins¹⁾.

Niet alle metalen kunnen makkelijk elektronen opnemen of afstaan. Deze, zoals bijvoorbeeld platina, zul je derhalve niet zo gauw aantreffen in redox-enzymen. Metalen die dat wel kunnen of anderzijds nauw betrokken zijn bij redoxreacties liggen als een soort familie bijeen. Ook de elementen die de eiwitketen vormen liggen als een aparte familie bij elkaar. Het zijn vooral de 'sociale' elementen, die we in levende materie tegenkomen. Elementen die gemakkelijk coalities aangaan met hun burens, zoals koolstof, stikstof en zuurstof, die tezamen de ruggegraat van een eiwitketen vormen. De 'asociale' elementen zijn inert of juist te reactief en derhalve niet in staat om complexe met elkaar communicerende netwerken te creëren. Dergelijke elementen vinden we daarom ook voornamelijk terug in dode materie. Als we deze constatering doortrekken naar de macro-wereld en de communicatie tussen levende materie onderling dan zouden we kunnen concluderen dat duurzaam leven alleen mogelijk is, indien de omgangsvormen een sociaal karakter hebben. Een constatering waar bestuurders en organisatie-deskundigen wellicht lering uit kunnen trekken.

Terug naar de enzymen en de sociale metaal-elementen. Magnesium, verpakt in chlorophyl richt zijn oog naar de zon en vangt de zonne-energie op in de eerste stap van een reeks gebeurtenissen die we

fotosynthese noemen¹⁾. Verder komt magnesium vaak voor in combinatie met andere metalen zoals we later zullen zien en is het indirect bij veel biologische processen betrokken.

Het voorkomen van vanadium als redoxactief element in enzymen is pas sinds kort bekend. Dit naar de Scandinavische godin van de schoonheid genoemde element wordt ondermeer in bepaalde zeewierenzymen gevonden, alwaar het betrokken lijkt te zijn bij de afweer tegen ongewenste indringers middels de produktie van hypochloriet: een agressief bleekmiddel.

Het kleurrijke chroom, van het Griekse woord *chroma*, is tot op heden niet aangetroffen als actief element in eiwitten. Dit is op z'n minst verwonderlijk en past eigenlijk niet in de logica die in het Periodiek Systeem ligt opgesloten. De jacht op chroom-bevattende eiwitten gaan we binnenkort openen. Ik ben er van overtuigd dat ze bestaan.

Mangaan, het volgende metaal, is ook betrokken bij het fotosynthetisch proces. Op een nog onbekende manier splits het water in zuurstof door bemiddeling van het magnesium-bevattende chlorophyl.

IJzer is het element dat de mensheid in staat stelde zich te ontworstelen aan het stenen tijdperk. IJzer heeft de meest stabiele kern van alle elementen en als een ster tot haar laatste ademtocht zou kunnen doorbranden, zou zij in een ijzerbal veranderen¹⁾. IJzer heeft een bijzonder sociaal karakter. Het sluit makkelijk coalities met zwavel, waardoor de meest wonderlijke combinaties kunnen ontstaan. Zwavel vormt daarbij ook de schakel met het eiwitgedeelte.

Zo kennen we één, twee, drie en vier ijzer-bevattende eiwitten, die zwavel als partner gebruiken. Logisch doorredenerend zou je vervolgens een vijf ijzer-zwavel structuur verwachten, maar deze heeft zich vooralsnog niet aangediend. Net als bij chroom zie ik geen reden waarom dergelijke 5Fe-5S clusters, eventueel in combinatie met een ander metaal, niet zouden bestaan. Prof. Fred Hagen van de vakgroep heeft nog niet zo lang geleden als eerste met geavanceerde spectroscopische technieken het bestaan van 6Fe-6S clusters zeer aannemelijk gemaakt. De ware gedaante van deze intrigerende supercluster zal hopelijk binnen afzienbare tijd worden onthuld als de Röntgenanalyses van het zogenaamde prismaan eiwit zijn afgerond.

De zeven en acht ijzerclusters vinden we terug in het enzym nitrogenase, dat het inerte stikstofgas uit de lucht om kan zetten in de voor de plant bruikbare stikstofbron ammoniak. Voor het omzetten van één stikstofgasmolecuul zijn maar liefst acht elektronen nodig, die stapsgewijs, waarschijnlijk via de acht ijzer-bevattende clusters, naar de zeven ijzer-bevattende molybdeen cluster gekanaliseerd worden. Dit in detail ongelooflijk ingewikkelde proces wordt in de vakgroep door Dr. Huub Haaker en zijn medewerkers bestudeerd. U kunt zich misschien wel voorstellen dat dergelijke ingewikkelde clusters niet spontaan gevormd worden en dat er een machinerie moet zijn die deze clusters eerst in elkaar zet voordat ze ingebouwd kunnen worden in het uiteindelijk eiwit. Dat blijkt inderdaad het geval. Verschillende eiwitten zijn inmiddels geïdentificeerd, die bij de op- en inbouw van clusters in het nitrogenase complex betrokken zijn. Dr. Walter van Dongen en mede-

werkers van de vakgroep zijn betrokken bij het in kaart brengen van deze ingewikkelde machinerie.

Zijn er nog grotere, complexere ijzer-zwavel clusters zult u zich misschien afvragen?

De tijd zal het leren. Het zal me verbazen als ze er niet zijn.

Combinaties van meerdere soorten metaalelementen is ook mogelijk. Genoemd is al de combinatie van molybdeen en ijzer in nitrogenase. Nikkel en ijzer gaan ook goed samen, zoals zeer recent is aangetoond voor een bepaald type hydrogenase. Dit enzym katalyseert een op papier uiterst simpele redoxreactie: de reductie van protonen tot waterstofgas of, afhankelijk van de omstandigheden, de omgekeerde reactie. De elektronen worden via een aantal Fe-S clusters naar het nikkel-bevattende actieve centrum gedirigeerd, alwaar protonen tot waterstofgas worden gereduceerd. Een erg complex systeem voor eigenlijk een simpele reactie. Nu begrijpt u misschien mijn eerdere opmerking dat we nog steeds niet, ondanks alle inspanningen, begrijpen hoe enzymen precies werken. Waarom zit dit hydrogenase zo in elkaar en niet anders?

Het sociale element ijzer kan ook op een andere wijze worden verpakt en wel in de ringvormige structuur haem, dat afgeleid is van het Griekse woord voor bloed, *haima*.

Haem-eiwitten spelen een rol bij het transporteren van zuurstof in bijvoorbeeld bloed en zijn betrokken bij allerlei elektronen- en zuurstofoverdragende reacties. IJzer verpakt in Fe-S clusters voert doorgaans reductiereacties uit, terwijl haem-ijzer de voorkeur

heeft voor oxidatiereacties. Een mooi voorbeeld is het eiwit cytochroom *c*, dat in vele organismen elektronen transporteert. Door een deel van de eiwitketen weg te halen wordt dit eiwit plotseling katalytisch actief en is in staat om allerlei interessante oxidatiereacties uit te voeren. Dit fenomeen illustreert heel duidelijk dat de eiwitketen voor een belangrijk deel de functie bepaald. Het ontrafelen van het werkingsmechanisme en het voorspellen van haem-gekatalyseerde reacties m.b.v. computerberekeningen vormt een belangrijk thema van de vakgroep, dat door de werkgroep van Dr. Ivonne Rietjens wordt uitgevoerd.

Hoe fraai het spel der metalen is in eiwitten wil ik nogmaals bespreken aan de hand van het enzym cytochroom *c* oxidase. Diverse haem's en metalen zoals zink, magnesium en koper participeren in de reductie van zuurstof naar water; een reactie betrokken bij de ademhaling en de energiehuishouding van een cel. Wederom heeft de natuur een complex systeem ontwikkeld voor een betrekkelijk eenvoudige reactie. Ook hier weer de vraag waarom toch?

Één metaal waarvan we allemaal weten dat het elektronen kan geleiden is koper. In ieder huis zijn meerdere kilo's in draadvorm verwerkt om onze elektrische apparatuur aan te sturen. Gelijk ijzer kan koper in meervoud in eiwitten voorkomen.

Het volgende metaal is zink; volgens schrijver-chemicus Primo Levi een saai metaal, dat zelf niet redoxactief is in levende materie maar wel bij redoxreacties is betrokken²⁾. We zien het element zink o.a. terug in het enzym alcohol dehydrogenase, dat

betrokken is bij de verwerking van alcohol in ons lichaam.

Een ander element dat mij in grote mate intrigeert, al was het alleen maar vanwege de associatie met warme zandstranden is silicium, dat ten zuiden van koolstof ligt in de buurt van de eiwitketenvormende familie. Net als koolstof is silicium, zij het in mindere mate, in staat om lange ketens van moleculen te vormen die nodig zijn in elk proces dat zo ingewikkeld is als leven, maar het heeft voor zover bekend nog geen eigen leven ontwikkeld. Het zou echter best wel eens zo kunnen zijn dat silicium in dit opzicht zijn kansen rustig afwacht. Terwijl het belangrijkste produkt van koolstof -het levende organisme- er miljarden jaren over heeft gedaan om mechanismen te ontwerpen voor het doorgeven en opslaan van informatie, is silicium tot op zekere hoogte sinds kort in de vorm van computers tot hetzelfde in staat. Het is niet ondenkbaar dat de ontwikkelingen, die eerst door koolstof zijn volbracht, op termijn overgenomen worden door silicium. Op langere termijn heeft silicium zeker mogelijkheden, want zijn stofwisseling en vermenigvuldiging lijken minder ongecoördineerd te zijn als die van koolstof¹⁾.

Dat koolstof en silicium goed samen gaan in de natuur, bewijst het bestaan van bepaalde soorten plankton, waarvan de huid uit fraaie silica netwerken is opgebouwd. Voor leven is nog steeds koolstof nodig, maar voor hoelang? Misschien hebben deze goudgele sieraadjes uit de zee al een stukje metabool netwerk op basis van silicium ontwikkeld. Ik zou het graag willen onderzoeken.

De afzonderlijke bijdrage van enzymen en dus ook die van redoxenzymen in het totale metabole netwerk is beperkt. Zoals reeds eerder is gezegd katalyseert elk enzym slechts één stap van de vele duizenden reacties, die tezamen nodig zijn om de cellulaire motor op gang te houden. Niet het individu maar het collectief maakt dat het klokje tikt zoals het tikt.

Een belangrijke andere redoxactieve groep zijn de flavinen. Net als de haemgroep zijn de flavine-bevattende eiwitten betrokken bij allerlei elektronenoverdrachts- en oxidatiereacties met dien verstande dat ze een iets milder karakter lijken te hebben dan haem.

Een flavine-bevattend eiwit dat reeds een lange historie kent binnen de vakgroep is flavodoxine. Dit eiwit is ondermeer betrokken bij de overdracht van elektronen naar het eerder genoemde nitrogenase. Het flavine heeft geen metalen nodig om te kunnen functioneren. In de geoxideerde toestand is het flavine geel gekleurd. De flavinegroep kan één of twee elektronen opnemen. Dit gaat gepaard met een kleursverandering van blauw naar bijna kleurloos en met structurele veranderingen van zowel de flavinegroep als het omringende eiwit. Structurele veranderingen zien we niet alleen bij flavodoxine, maar spelen een rol bij alle eiwitten met of zonder redoxgroep. Eiwitten kunnen als het ware ademen. Het bestuderen van de dynamiek van interne bewegingen tussen eiwit, redoxgroep, substraat en produkt in relatie tot het katalytisch proces vormt een belangrijk element van het vakgroeponderzoek dat door Dr. Ton Visser en medewerkers wordt gedragen. Met geavanceerde spectroscopische technieken wordt

met name de dynamiek van flavine-bevattende eiwitten bestudeerd, alsmede de interactie tussen verschillende eiwitten in de cellulaire erwtensoep.

Eiwitketens zijn misschien te vergelijken met elastiekjes, maar dan wel met zeer bijzondere elastiekjes, die vanuit de ongevouwen toestand terug kunnen springen naar hun oorspronkelijke conformatie. Wat we inmiddels weten is dat deze eigenschap opgesloten ligt in de aminozuurvolgorde van de eiwitketen. Hoe dit vouwings- en ongevouwingsproces precies in elkaar steekt is nog grotendeels onbekend en wordt door Dr. Carlo van Mierlo en zijn medewerkster aan de hand van flavodoxine bestudeerd. Een belangrijk hulpmiddel hierbij is NMR. NMR is sowieso een veel gebruikte techniek in de vakgroep. Naast structureel onderzoek aan eiwitten is het een prachtige methode om enzymgekatalyseerde reacties te volgen. Beide aspecten worden door Dr. Jacques Vervoort gedragen.

De rol van de eiwitketen in de katalyse wordt slechts ten dele begrepen. Kleine veranderingen in de structuur en samenstelling van de eiwitketen hebben vaak een dramatisch effect op het katalytisch proces. De evolutie levert maatwerk. Flexibel maatwerk op sub-nanometer schaal, dat maar moeilijk is na te bootsen. Hoe lastig dat is blijkt o.a. uit het werk van Dr. Riet Hilhorst en medewerkster, die katalytisch actieve flavine-bevattende eiwitten op basis van antilichamen proberen te creëren.

De kracht van enzymen ligt mede opgesloten in hun dynamiek. De met Röntgenanalyse of NMR verkregen structuren leveren slechts een momentopname op van

een interactieve film waarvan de afloop nog in nevelen is gehuld. Hier ligt een enorme uitdaging voor de vakgroep.

Een prachtig voorbeeld van een zeer specifieke oxidatiereactie met een flavine-bevattend enzym is para-hydroxybenzoesuur hydroxylase. In een multistap reactie wordt het substraat para-hydroxybenzoesuur selectief op de 3-positie van de aromatische ring geoxideerd. Daarvoor is zowel een oxidator, in dit geval zuurstof, als een biologisch reductiemiddel, NADPH, nodig. Dit enzym slaat als het ware drie vliegen in één klap. Een katalytisch hoogstandje waarin Dr. Willem van Berkel en medewerkers hun tanden in hebben gezet.

Het kan nog ingewikkelder. E.e.a. wil ik bespreken aan de hand van een enzymcomplex waarin 3 verschillende enzymen, elk in meervoud aanwezig, met elkaar communiceren. Het betreft het pyruvaat dehydrogenase complex dat door Dr. Aart de Kok in kaart is gebracht. Dit enzymcomplex vinden we terug in de meeste organismen alwaar het een essentiële schakel vormt in de vorming van energie uit suikers. Het tussenproduct van het eerste enzym uit het complex wordt door het tweede enzym omgezet tot het uiteindelijke product. Het derde flavine-bevattende enzym zorgt er voor dat de andere twee enzymen weer terug kunnen keren naar de begintoestand, zodat de reactie opnieuw kan beginnen. Vernuft op nanometer schaal, die zijn gelijke in de macrowereld niet kent.

Reductie en oxidatie de yin en yang van het bio-elektronische netwerk in de natuur zijn onlosmakelijk

met elkaar verbonden. Hydrogenase en nitrogenase zijn voorbeelden van reductieve enzymen die aan de linkerkant van het 1 Volt-potentiaalspectrum opereren. Het genoemde cytochroom *c* oxidase daarentegen is functioneel in het oxidatieve rechterdeel van het schema. Het samenspel tussen de redoxgroepen en de eiwitketen bepaald in welk gebied ze operationeel zijn. Ieder enzym, iedere redoxgroep heeft zijn plek en tezamen houden ze de biologische motor van groei, onderhoud en afbraak in stand. Redoxenzymen: 'daar zit wat in'.

Overzicht van het vakgroeponderzoek

Ik wil mijn oratie afronden met het geven van een overzicht van de huidige en toekomstige vakgroep-activiteiten. Naast de thema's metaal/zwavel katalyse, haem katalyse en flavine katalyse, is een vierde thema toegevoegd onder de noemer: signaal transductie.

In de eerste drie thema's wordt voornamelijk het werkingsmechanisme van individuele enzymen bestudeerd. Het vierde thema richt zich meer op de onderlinge interactie tussen eiwitten en hun omgeving. Hoe biologische signalen van het ene eiwit naar het andere eiwit worden doorgegeven. Het begrijpen van degelijke signaaltransductie systemen, niet alleen op cel niveau, maar ook tussen cellen en organismen, vormt volgens mij dé onderzoeksuitdaging van de volgende eeuw.

Een breed scala van expertisen en technieken is gedurende het bestaan van de vakgroep opgebouwd en maakt het mogelijk om de succesvolle lijn onderling en in samenwerking met anderen voort te zetten en

waar nodig te versterken. De enzymologische expertise draagt er o.a. toe bij dat er voldoende materiaal van goede kwaliteit voorhanden is om de relatie tussen eiwitstructuur en functie met spectroscopische en elektrochemische technieken te bestuderen. Eiwit-engineering maakt het ondermeer mogelijk om subtiele veranderingen aan te brengen in de eiwitketen, waardoor inzicht verkregen kan worden in de rol van specifieke aminozuren in het katalytisch proces. QSAR staat voor 'kwantitatieve structuur-activiteitsrelatie' en is ondermeer een nieuwe, veelbelovende benadering om m.b.v. computer-berekeningen het reactiepad van enzymgekatalyseerde reacties te voorspellen op basis van de reactiviteit van het substraat en de reactieve groep in het eiwit.

Deze prachtige mix van fundamenteel-gerichte expertisen en technieken vormt mijns inziens een ideale basis voor aansluiting met meer toepassingsgericht onderzoek. Ik zie het als een uitdaging om deze brug te slaan zonder afbreuk te doen aan het noodzakelijke fundamentele karakter van het vakgroeponderzoek, want het is en blijft een taak van de universiteit om fundamenteel onderzoek te doen. Er is namelijk geen goed alternatief. Ik streef daarbij naar een mix van zeker 70% fundamenteel en hooguit 30% toepassingsgericht onderzoek.

De huidige omzet van industriële enzymen bedraagt zo'n f 2 miljard per jaar en groeit nog steeds met ongeveer 10% per jaar. Het betreft voornamelijk hydrolasen, die op grote schaal worden toegepast in de wasmiddelen-, papier- en voedingsmiddelen-industrie. Zij vormen de eerste generatie enzymen. Ik ben er van overtuigd dat de tweede generatie

industriële enzymen zal bestaan uit redoxenzymen, die nu op zeer bescheiden schaal in voedingsmiddelen worden toegepast. De toepassingen voor redoxenzymen liggen voor het oprapen. Dit geldt vooral voor de niet-cofactor afhankelijke oxidatieve enzymen. Denk bijvoorbeeld aan milde bleeksystemen voor de wasmiddelen- en papierindustrie, het verbeteren van de textuur, smaak en houdbaarheid van voedingsmiddelen, alsmede het selectief uitvoeren van biotransformaties t.b.v. de fijnchemicaliënindustrie. Huis-, tuin- en keukenreacties uitvoeren met redoxenzymen: 'daar zit wat in'.

'Zoekt en gij zult vinden' is het huidige parool van met name microbiologen. De natuur heeft ze ergens op aarde al ontwikkeld en de technieken om enzymen op de gewenste schaal te produceren en eventueel aan te passen aan hun nieuwe omgeving zijn bekend. 'Bereken en gij zult vinden' lijkt het parool van de toekomst. De computers zijn ook hun opmars in de biochemische wereld begonnen. Silicium slaat reeds toe in de door koolstof gedomineerde wereld van biochemici. De traditionele *in vitro* en *in vivo* aanpak zal steeds meer invloed ondervinden van de *in silico* benaderingen.

De eerste aanzetten richting toegepast onderzoek zijn reeds gedaan. De betrekkelijk eenvoudig waarmee e.e.a. in korte tijd gerealiseerd kon worden in alle vier de thema's van het vakgroeponderzoek spreekt boekdelen en belooft veel voor de toekomst. Toch is er enige reden tot ongerustheid gezien de smalle basis van financieringsmogelijkheden voor zowel fundamenteel als toepassingsgericht onderzoek aan redoxenzymen. Het aantal vaatjes waaruit getapt kan worden neemt af

en de huidige inspanningen in Nederland staan in geen verhouding met het onderzoek aan hydrolasen. In mijn ogen heeft het onderzoek in Nederland aan redoxenzymen pokon nodig wil het werkelijk bijtijds de belofte waar kunnen maken die het in zich heeft. De basis is aanwezig.

Één initiatief wil ik nog speciaal vermelden. Het betreft een gezamenlijk initiatief van een aantal vakgroepen in Wageningen en Leiden om de infrastructuur op het gebied van de microspectroscopie voor met name biotechnologische en biomedische doeleinden te bundelen en te versterken. Dit 'state-of-the-art' Microspectroscopisch Centrum biedt de mogelijkheid voor gebruikers uit de academische wereld, instituten en industrieën om biomoleculaire interacties o.a. tussen eiwitten, koolhydraten, lipiden, genetisch materiaal en metaboliëten met geavanceerde microspectroscopische technieken te bestuderen. Denk daarbij niet alleen aan biomoleculaire interacties in een cel, of tussen cellen en organismen, maar ook aan interacties tussen componenten in allerlei consumentengoederen. Een aanvraag voor subsidie is recent ingediend en de kans op honorering wordt hoog ingeschat.

Fundamenteel- en toepassingsgericht onderzoek, een glijdende schaal, een natuurlijke balans, de yin en yang van het toekomstige vakgroepbeleid in voor- en tegenspoed. Deze mix zal leiden tot een beter begrip van het werkingsmechanismen van redoxenzymen, tot het ontdekken van nieuwe enzymen en redoxactieve groepen, tot inzicht in het samenspel der enzymen in metabole netwerken, tot het voorspellen en sturen van

reactiepaden en tot een woud van nieuwe toepassingsmogelijkheden. De vakgroep is er klaar voor.

Een ander aspect van mijn nieuwe taak is onderwijs. Na tien jaar onthouding is het weer een genoegen om college te mogen geven. Tezamen met onderzoek vormt onderwijs de yin en yang van de universitaire wereld. Ik hoop dat dit altijd zo zal blijven en dat het opsplitsen van onderzoek en onderwijs in scholen niet zal leiden tot ontkoppeling en kwaliteitsverlies. Goed onderwijs en goed onderzoek gaan hand in hand en zijn onlosmakelijk met elkaar verbonden.

Slot

Mijnheer de rector, dames en heren,

Aan het einde van mijn oratie zou ik enkele woorden van dank willen uitspreken.

Hooggeleerde Veeger, beste Cees,

Ik herinner me onze eerste ontmoeting nog goed. Vanuit Groningen kwam ik op sollicitatiebezoek voor een promotieplaats op het gebied van de stikstof-fixatie. Ik kwam te laat, omdat ik me niet realiseerde dat het station Ede-Wageningen nog acht kilometer van Wageningen verwijderd lag. Je kamer stond blauw van de rook, ik hoefde weinig te zeggen en werd snel aangenomen. Achteraf begreep ik waarom. Na al die Amsterdammers werd het eens tijd voor een Groninger; een prachtig voorbeeld van carrière-planning. Je hebt veel voor mij betekend. Het promotie-onderzoek liep voorspoedig, je gaf me de kans om me verder te ontwikkelen in Berkeley bij

prof. Calvin en daarna bood je mij een vaste positie aan bij de vakgroep. Ook in de tijd dat ik bij Unilever werkte hadden we nog regelmatig contact. Zelfs bij mijn terugkeer naar Wageningen was je betrokken. Als een rode draad loop je door mijn carrière heen en ik vind het een eer om je op te mogen volgen. Meerdere yin's en yang's heb ik al genoemd: reductie en oxidatie, fundamenteel- en toegepast onderzoek, onderzoek en onderwijs. Wat dacht u van deze: Cees en ik?

Dames en heren medewerkers van de vakgroep Biochemie,

Velen van jullie kende ik al uit mijn eerste Wageningse tijdperk. Aan kracht hebben jullie niets ingeboet. Jullie vormen de motor van de vakgroep, die mij zo na aan het hart ligt. Ik ben ervan overtuigd dat we gezamenlijk, zelfs in deze tijd van korte termijngerichte bezuinigingen, de brandstoffen zullen vinden om de biochemische motor in Wageningen niet alleen op gang te houden, maar ook om het aantal PK's te verhogen.

Dames en heren studenten,

Biochemie is een bijzonder mooi vak, waar jullie verschillende kanten mee op kunnen. Een breed scala van afstudeerprojecten ligt bij ons klaar van fundamenteel tot toepassingsgericht onderzoek. Met enige trots kan gezegd worden dat afgestudeerden bij ons tot nu toe vrijwel zonder uitzondering een passende baan hebben kunnen vinden. We zullen er alles aan doen om deze traditie hoog te houden.

Beste Egil, Evert en Elles,

Jullie zijn de *in silico* experts die me enorm hebben geholpen bij de technische totstandkoming van deze rede. Zonder jullie hulp was ik niet verder gekomen dan de op redoxchemie en koolstof gebaseerde dia's.

Beste familieleden en vrienden,

Ik hoop dat ik iets over de schoonheid van enzymen en mijn vakgebied heb kunnen overbrengen.

Mijn bijzondere dank gaat uit naar mijn ouders voor de mogelijkheden die ze mij gegeven hebben om te studeren en me verder te ontplooien. Ik ben blij dat jullie hier beiden in goede gezondheid getuige van kunnen zijn.

Een speciaal woord wil ik richten tot mijn schoonvader. Al meer dan negentig jaar bent u zeer begaan met het wel en wee van de landbouw. Vanuit een andere invalshoek hoop ik deze familietraditie voort te kunnen zetten.

Anneke, Marit, Susan en Ingrid tezamen vormen wij de belangrijkste yin en yang die ik vandaag heb genoemd. Jullie scheppen voor een groot deel mijn macrowereld en zorgen er voor dat ik me niet te veel laat leiden door de nanowereld waarover ik vandaag heb gesproken. Jullie zijn het antwoord op de vraag waar nog veel meer in zit dan redoxenzymen.

Mijnheer de rector, dames en heren,

Ik dank u voor uw aandacht.

Referenties

- 1. Peter Atkins (1995). Het koninkrijk der elementen. Uitgeverij Contact, Amsterdam/Antwerpen.**
- 2. Primo Levi (1985). The periodic table. Sphere Books Ltd, London.**
- 3. Stephen Lippard en Jeremy Berg (1994). Principals of bioinorganic chemistry. University Science Books, Mill Valley, USA.**
- 4. Donald Voet en Judith G. Voet (1995). Biochemistry. John Wiley & Sons, Inc, USA.**