

Op 19 oktober 1973 werd te Amsterdam door de Vereniging voor Celbiologie en de Vereniging voor Histochemie en Cytochemie, in samenwerking met de Biologische Raad van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, het symposium 'Ontwikkelingen in de Celbiologie' gehouden.

Het was mogelijk deze uitgave samen te stellen door gebruik te maken van de teksten van de voordrachten die op dit symposium werden uitgesproken.

celbiologie

Redactie: P. van Duijn

W. Th. Daems

C. J. H. van den Broek

R. J. P. Aalpol (Pudoc)

D. van der Mei (Biologische Raad)



Wageningen – 1974

Centrum voor Landbouwpublikaties en Landbouwdocumentatie

6-10-53 722

BIBLIOTHEEK
DER
LANDBOUWHOGESCHOOL
WAGENINGEN

ISBN 90 220 0531 3

Copyright: Pudoc, Centrum voor Landbouwpublikaties en Land-
bouwdocumentatie, Wageningen

Op de omslag: Een plasmacel (Uit Lentz, 1971)

Druk: H. Veenman & Zonen B.V., Wageningen

Inhoud

Voorwoord

Prof. Dr. P. J. Gaillard <i>Laboratorium voor Celbiologie en Histologie der Rijksuniversiteit te Leiden</i>	7
---	---

Kaarttekening van de moderne celbiologie

Prof. Dr. W. A. de Voogd van der Straaten <i>Anatomisch Instituut, Faculteit der Diergeneeskunde der Rijksuniversiteit te Utrecht</i>	9
---	---

Prokaryoten en eukaryoten, structuur en organisatie

Prof. Dr. J. James <i>Histologisch Laboratorium, Universiteit van Amsterdam</i>	38
---	----

Samenspel van genoom en cytoplasma

Prof. Dr. D. Bootsma <i>Afdeling Celbiologie en Genetica, Faculteit der Geneeskunde, Erasmus Universiteit te Rotterdam</i>	63
--	----

Interacties tussen virus en cel

Dr. J. C. H. de Man <i>Pathologisch Laboratorium der Rijksuniversiteit te Leiden</i>	86
--	----

Secretie van groot-moleculaire stoffen

Dr. M. F. Kramer <i>Laboratorium voor Histologie en Celbiologie der Rijksuniversiteit te Utrecht</i>	114
--	-----

Opnameprocessen en grensvlakken

Prof. Dr. W. Th. Daems <i>Laboratorium voor Electronenmicroscopie, Rijksuniversiteit te Leiden</i>	148
--	-----

Informatieoverdracht

Dr. J. F. Jongkind *Afdeling Celbiologie en Genetica, Faculteit
der Geneeskunde, Erasmus Universiteit te Rotterdam* 178

Cyclisch-AMP als schakel en hormoon

Dr. Th. M. Konijn *Afdeling Celbiologie en Morfogenese, Zoö-
logisch Laboratorium der Rijksuniversiteit te Leiden*. 199

Celbiologie in het onderwijs

Dr. C. J. H. van den Broek *Laboratorium voor Histologie en
Celbiologie, Faculteit der Geneeskunde, Rijksuniversiteit te
Utrecht* 220

Glossarium 239

Literatuur 250

Register 260

Voorwoord

P. J. GAILLARD

Het is een boeiende opgave om een symposium te organiseren over celbiologie en daarbij bijzondere aandacht te vragen voor enkele gebieden die zich in de laatste jaren enorm hebben verbreed en verdiept.

De voordrachten die in deze uitgave zijn gebundeld, behandelen enerzijds problemen die betrekking hebben op de cel als informatie-verwerkend systeem en anderzijds op de verhouding tussen de cel en zijn milieu.

Hierdoor vestigt men vooral de aandacht op het dynamische karakter van levende cellen. Anders uitgedrukt is het zo dat de gedragingen van elke cel op elk moment van zijn bestaan het resultaat zijn van hetgeen erfelijk als mogelijkheden is medegegeven en hetgeen zijn milieu, d.w.z. de micro-klimatologische omstandigheden, hem op dat moment toestaan of dwingen te volbrengen!

Didactisch wordt vaak onderscheid gemaakt tussen de algemene en de speciële celbiologie. Daarbij bepaalt de algemene celbiologie zich tot de vormen en functies die alle cellen gemeen hebben, terwijl de speciële celbiologie zich richt op datgene waarin cellen van verschillende organismen, van verschillende organen en van verschillende weefsels zich onderscheiden.

Duidelijk dient echter gesteld te worden dat er eigenlijk géén cel in de zin van de algemene celbiologie bestaat en het dus onjuist en derhalve misleidend kan zijn om te spreken van 'de cel' of van 'de cel en zijn milieu'.

Tegen deze achtergrond meen ik ons onderwerp het beste te kunnen inleiden aan de hand van een drietal celtypen.

Ik wil dit doen met behulp van een filmische analyse, verricht door onze lector in de celbiologie en histologie dr. J. P. Scherft uit de periode waarin hij belangstelling had voor de bewegingspatronen van in lymfeklieren voorkomende celtypen. Voor dit doel werden stukjes lymfklier ontnomen aan albinoratten en gebracht in een voedingsbodem. Korte

tijd later zag hij dat vele cellen in of langs de voedingsbodem uitzwermden. Hierbij bleek dat de lymfocyten zich kenmerken door een gepolariseerde beweging. Zij hebben een frontale pool waarmee zij zich met betrekkelijk grote snelheid over een vrij wijd gebied bewegen. Aan de andere zijde van de cel bevindt zich een staartje dat in gewone preparaten zelden of nooit wordt waargenomen en dat toch recentelijk immunologisch van groot belang is gebleken. Lymfocyten delen zich nooit, maar delingen worden, zoals te verwachten is, wel waargenomen bij lymfoblasten.

De zogenaamde macrofagen gedragen zich heel anders. Ze zijn groter, meestal trager en in beginsel multipolair. Elk deel van het celoppervlak kan bij wijze van spreken als motor functioneren. Daardoor komen deze cellen in de regel niet erg ver van hun plaats. Ze zoeken bovendien gaarne een grensvlak waarop zij zich dan uitspreiden en tot grote platte cellen worden met flagellerende membranen aan de zij-kanten. Macrophagen delen zich niet. Onder bepaalde omstandigheden tonen ze wel sterke pinocytose (het naar binnen slaan van vocht in vacuoles). Onder andere omstandigheden blijken ze te fagocyteren.

Het derde celtype is de reticulair bindweefselcel. Dit celtype bleek bij voorkeur te migreren in georganiseerd verband. Dit komt omdat ze op de plaatsen waar ze elkaar naderen geen bewegende celoppervlakte bezitten. Ze kenmerken zich namelijk door wat men noemt het verschijnsel van de 'contactremming'. Overigens lopen ze relatief langzaam en bezadigd en altijd langs grensvlakken. Ze onderbreken echter hun slakkengang vrij frequent voor het ondergaan van een mitotische deling.

Met deze voorbeelden meen ik te mogen volstaan. Ze waren bedoeld om te laten zien dat de drie celtypen in dezelfde voedingsbodem in staat waren hun *eigen* identiteit te bewaren conform de *erfelijk* bepaalde expressiemogelijkheden. Het milieu van de cel kan echter ook zodanig worden gewijzigd dat de uitdrukkingsmogelijkheden worden beperkt of zelfs essentieel worden gewijzigd tengevolge van een interactie met het genoom.

Dit is maar één van de vele aspecten van de moderne celbiologie; toch hoop met het voorgaande voldoende belangstelling te hebben gewekt voor hetgeen volgt.

Kaarttekening van de moderne celbiologie

W. A. DE VOOGD VAN DER STRAATEN

Inleiding

Wie een gebied binnentrekt, kan behoefte aan een kaart hebben. Daarbij staat reeds tevoren vast, dat een kaart niet hetzelfde kan zijn als een geminiaturiseerde afbeelding; een kaart ontleent een groot deel van haar bruikbaarheid aan wat is weggelaten. Ook zijn er kaarten in soorten, afhankelijk van het doel van de kaart.

Het doel van dit hoofdstuk is vooral de manier van denken en de fundamentele problematiek aan te stippen. Aan historische achtergronden en aan details zal daarbij weinig aandacht geschonken worden.

Het was de bedoeling van dit symposium om vooral de functies van de cel in haar variaties op supra-moleculair niveau te belichten. Over de moleculaire processen in cellen kwam in deze reeks reeds eerder een symposiumverslag uit: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie (1966). Men kan dit boek als een aanvulling beschouwen.

Het is ongetwijfeld een hoofdtrek van het moderne celbiologische denken, om in het moleculaire vlak de laatste verklaringsgronden te zoeken. Zelfs kan men een levende cel opvatten als een geordende dynamische moleculaire samenleving, waarin samenspel en tegenspel hun plaats hebben en regulaties zich voltrekken. Het moet echter duidelijk zijn, dat deze hoge waardering voor het moleculaire gebeuren niet mag leiden tot een verslapping van de aandacht voor de hogere organisatieniveau's in cellen. Integendeel, het is juist op deze hogere niveau's, dat het 'spel der molekulen' resulteert in functioneren in biologische zin. In dit verband mag een eenvoudige lijst van afmetingen zeker niet ontbreken. Er is niet alleen verband tussen de afmeting en de middelen (bijvoorbeeld lichtmicroscop, elektronenmicroscop, enz.) waarmee een structuur van bepaalde afmetingen in onderzoek wordt genomen, maar er is óók een verband tussen afmeting en functionele mogelijkheid van een structuur. Een mitochondrion is 10^3 – 10^4 keer zo groot als

Afmeting van verschillende objecten, respectievelijk niveaus.

domein blote oog	$\geq 100 \mu\text{m}$
domein lichtmicroscop	$0,2-100 \mu\text{m}$
domein elektronenmicroscop	$1-200 \text{ nm}$
eukaryotische cellen	$5-100 \mu\text{m}$
prokaryotische cellen	$0,5-5 \mu\text{m}$
chloroplasten	$2-10 \mu\text{m}$
mitochondriën	$0,5-5 \mu\text{m}$
ribosomen	20 nm
dikte biomembranen	$\pm 8 \text{ nm}$
hemocyanine-molekuul	12 nm
mond- en klauwzeer virus	10 nm
ei-albumine	4 nm
aminozuur-molekuul	$0,5 \text{ nm}$

$1 \text{ mm} = 10^3 \mu = 10^3 \mu\text{m} = 10^6 \text{ nm} = 10^7 \text{ \AA}$ (zie ook glossarium)

een aminozuur-molekuul en bezit daardoor meer functionele mogelijkheden.

Het supramoleculaire niveau laat zich naar afmeting en functie nader indelen: molekuul-aggregaten zoals biomembranen of spoeldraden $\rightarrow$ celorganellen zoals de celkern, chloroplasten, mitochondriën, lysosomen, enz. $\rightarrow$ de cel in haar totaliteit $\rightarrow$ samenlevingsverbanden van cellen. De laatste categorie omvat weer een klimmende reeks: weefsels $\rightarrow$ organen $\rightarrow$ orgaansystemen $\rightarrow$ organisme. Men zou kunnen denken, dat de supracellulaire niveau's irrelevant zijn voor ons onderwerp. Echter een belangrijk stuk celbiologische interesse is thans juist gericht op de cellulaire interacties in de widest zin van het woord.

Men voelt thans ook de behoefte om prokaryoten en eukaryoten (een zeer fundamentele tweedeling in de biologie) in een evolutionair kader naast en tegenover elkaar te plaatsen. Zo is het van betekenis, dat het 20e symposium van de Society for General Microbiology was gewijd aan: Organization and control in prokaryotic and eukaryotic cells. Met name Stanier (1970) geeft hier onder de verenigende titel 'Aspects of the biology of cells' een diepgravende uiteenzetting inzake de evolutie van beide celtypen.

Onder cytologie verstaan wij nu de algemene celleer, vooral met betrekking tot de eukaryoten. Hieronder valt stellig de cytogenetica; óók horen beschouwingen inzake veroudering van cellen in dit gebied thuis. De termen celbiologie en celfysiologie worden vaak door elkaar ge-

bruikt. In beide gevallen gaat het om de verrichtingsleer tegen een structurele achtergrond.

Reeds werd opgemerkt, dat de moderne celbioloog gaarne ook prokaryoten in zijn beschouwingen over de verrichtingen van de cel betrekt. Ook zal in concreto het moleculaire aspect zelden of nooit kunnen ontbreken, in het bijzonder niet wanneer het gaat om de genetische informatieverwerking of de bioënergetische aspecten. Wel zal hem voor ogen staan, dat wie dóór blijft vragen, zal eindigen bij de fysica van de elementaire deeltjes.

De volgende 'opsomming van facetten' biedt een redelijk uitgangspunt voor ons betoog. Deze opsomming geeft aan, waar thans in de celbiologie de aandacht ligt. Men zou kunnen spreken van een definitie van 'de' cel, in het bijzonder de eukaryoot. Men kan een cel zien als een :

- geëvolueerde,
- gestructureerde, i.h.b. gecompartmentaliseerde,
- geprogrammeerde en informatie-verwerkende, muteerbare,
- gereguleerd stofwisselende en energie-transformerende,
- aan milieu-invloeden onderworpen en het milieu-beïnvloedende moleculaire 'machine' met
- vaak, doch niet altijd, het vermogen tot deling (mitose respectievelijk meiose).

Genoemde facetten zijn stuk voor stuk op te vatten als labels, gehecht aan bepaalde velden van fundamentele kennis. Helaas is er nog lang geen sprake van een keurig mozaïek, waarin deze velden aan elkaar passen. Per veld is de fundamentele kennis tot stand gekomen mede dank zij de ontwikkeling van meer of minder geraffineerde methoden van onderzoek. Het tekenen van de relatie tussen methode en fundamentele kennis behoort in belangrijke mate tot de kaarttekening; dit punt is didactisch zelfs zo belangrijk, dat wij hiermee zullen beginnen in de volgende paragraaf.

Na een aantal algemene opmerkingen over de relatie tussen methode en algemene kennis zal een en ander worden toegelicht aan een welomschreven voorbeeld: de betekenis van de spoeldraden voor de anafase van de mitose. Vervolgens zal de gegeven opsomming van facetten nader worden uitgewerkt, overigens zonder strikt op de volgorde te letten.

Inzake de evolutie van cellen worden enige woorden gewijd aan de vroegste ontwikkeling en aan het belang van dit inzicht voor het celbiologische denken.

Hierna bespreken wij de functionele morfologie van de eukaryotische cel, waarbij de begrippen functionele 'onderbouw' en functionele 'bovenbouw' worden ontwikkeld. Een en ander brengt ons tot de compartimentalisatie van de cel, waarbij uiteraard de rol van biomembranen ter sprake komt. Een bespreking van het 'verkeer' tussen de cellulaire compartimenten voert ons tot het belangrijke verschijnsel van de membraanfusie. Daarna zal worden uiteengezet hoe de gedachtingang over concrete levende cellen waarin zich gelijktijdig een veelheid aan gekoppelde processen afspeelt, zou kunnen vastlopen in het beperkte integratievermogen van de denkende mens.

In een poging om in ruwe trekken een zeker totaalbeeld te geven, zal worden uitgegaan van de wisselwerking tussen cel en celmilieu. In dit kader komt de werking van hormonen op cellen onder meer aan de orde.

Dit is tevens een inleiding tot de problematiek van de cellulaire informatieverwerking en hiermede samenhangend tot de problematiek van de celdifferentiatie.

Cellulaire energietransformaties worden speciaal toegelicht aan de spiercel. Hierbij wordt nogmaals gepoogd om duidelijk te maken hoe belangrijk de rol van cellulaire eiwitten in het leven van de cel is: zij maken de dienst uit. Overigens houdt deze opmerking gevaar tot misverstand in. Hierarchisch staan de nucleïnezuuren hoger; zonder nucleïnezuur géén eiwitten. Men denke aan de relatie tussen wetgevende en uitvoerende macht.

Tenslotte wordt verduidelijkt wat in het bijzonder door een docent in dit geval onder kaartlezen zou kunnen worden verstaan.

Methode en verwerving van fundamentele kennis

Wanneer gevraagd wordt naar het methodologisch 'arsenaal' van de celbioloog, kan het antwoord uiterst eenvoudig zijn: alles wat kan bijdragen tot een verdieping van het inzicht in de functies van cellen.

Een geestig voorbeeld uit de oude doos is het aanbieden van langwerpige ijzerdeeltjes aan fagocyterende cellen. Na opname van deze ijzerdeeltjes kan men 'spelen' met magnetische velden, die wisselen in intensiteit en/of richting. Op deze wijze krijgt men informatie, die betrekking heeft op de colloïdchemische constellatie van het cytoplasma. Met name meent men te kunnen concluderen, dat het cytoplasma als een elastische vloeistof beschouwd mag worden. Een ander voor-

beeld betreft het observeren van de Brownse beweging van celinsluit-sels; ook hier zijn conclusies mogelijk inzake de aggregaattoestand van het cytoplasma.

Hoewel er géén afgesloten lijst van celbiologische methoden is te maken – de celbioloog ontwikkelt of leent wat hij gebruiken kan – staan uiteraard de 'kijkinstrumenten' centraal. Voor wat het licht-microscop betreft, moet daarbij in het bijzonder gedacht worden aan de fasecontrastmicroscopie en de polarisatiemicroscopie. De fasecontrastmicroscop stelt ons in staat om aan levende cellen veel details waar te nemen. Dit biedt niet slechts de mogelijkheid om cellulaire ver-richtingen haarscherp op de filmband vast te leggen, maar het fase-contrastbeeld kan ook te hulp geroepen worden als 'arbitr'. Niet zel-den komt namelijk de vraag naar voren of een bepaalde microscopische structuur tijdens het leven existeert, respectievelijk in die vorm bestaat.

Een voorbeeld, dat ons in de volgende paragraaf nog bezig zal hou-den betreft de delingsspoel. Het is lang een strijdpunt geweest of de delingsspoel als zodanig bestaat, danwel als een door de fixatie ont-staan kunstprodukt opgevat zou moeten worden. (Ook de elektronen-microscopische beelden kunnen ons niet van deze twijfel verlossen, gegeven de veelheid aan technische vóórbewerkingen.) Het fasecon-trastbeeld toont ons echter wel degelijk een spoelvormige structuur. Een soortgelijk argument kan (historisch gezien zelfs eerder) ontleend worden aan de polarisatiemicroscopie. Hier leert het beeld ons boven-dien, dat er in de spoeldraden een bepaalde ordening bestaat. Het is juist deze ordening die dubbelbreking veroorzaakt.

Op basis van het verlangen om te komen tot een inzicht hoe stoffen in de cel zijn gelokaliseerd, zijn methoden ontwikkeld zoals de (enzym) cytochemie en de autoradiografie. Bij de (enzym)cytochemie stuurt men aan op de vorming van gekleurde, ter plaatse vastgelegde verbin-dingen; bij de autoradiografie lokaliseert men tevoren geïncorporeerde radionucliden door middel van een fotografische emulsie, die is aan-gebracht op het preparaat. Na fotografische ontwikkeling van deze emulsie vinden wij een verzameling zilverkorrels boven de radioactieve loci.

Bij de genoemde methoden spelen twee fundamentele problemen:

- 1 hoe exact kan men een bepaalde molekuulsoort lokaliseren en
- 2 met welke graad van precisie kunnen wij kwantitatieve uitspraken doen?

Punt 2 is tevens weer het vertrekpunt voor een nieuwe reeks van

methoden van onderzoek, waaronder zelfs computeranalyse. Hierbij wordt het beeld in een door een computer gestuurde microscoop systematisch afgetast. De aldus verkregen kwantitatieve gegevens worden weer door een computer verwerkt en tenslotte uitgetypt op zodanige wijze, dat men hoeveelheid en plaats gelijktijdig kan aflezen.

Onder de lokaliserende microscopische technieken hoort zeker ook de fluorescentiemicroscopie thuis. Onder invloed van bepaalde ingestuurde lichtsoorten gaan bepaalde objecten fluoresceren, d.w.z. licht van een lager trillingsgetal emitteren. Deze opzet kan bijzonder vruchtbaar zijn bij het gebruik van fluorescerende antilichamen, gericht tegen bepaalde cellulaire eiwitten. Na hechting van het antilichaam aan het in de cel aanwezige antigeen – een uiterst specifiek gebeuren – kan men geringe hoeveelheden van het eiwit lokaliseren. De moeilijkheid is hier om voldoende van het betrokken eiwit, bijvoorbeeld eiwit uit de delingsspoel in zuivere vorm, in handen te krijgen om vervolgens in een tussengeslachteld proefdier de vorming van het benodigde antilichaam op gang te brengen. Vóór het gebruik zal dit antilichaam van een fluorescerende label voorzien moeten worden, zonder daarbij geïnactiveerd te worden.

De elektronenmicroscopie, oorspronkelijk primair gericht op een groter oplossend vermogen bij zuiver structuuronderzoek, kent thans een aantal technieken met eveneens als doel (enzym)cytochemische en autoradiografische lokalisatie.

Een geheel andere benadering komt uit de biochemische hoek: cellen worden gefragmenteerd, de bestanddelen vervolgens gesepareerd, meestal door (ultra)centrifugatie. Tenslotte volgt een kwantitatieve analyse.

Het is nodig ook enige woorden te wijden aan wat men samenvat onder de naam 'weefselkweek', waarbij onderscheid gemaakt moet worden tussen celkweek, weefselkweek en orgaankweek, beter organotypische kweek. Het bijzondere ligt hier zeker niet primair in het technische, maar in het fundamentele uitgangspunt, hoewel de technische problematiek zeker niet onderschat mag worden. Het fundamentele uitgangspunt is als volgt: een geïsoleerd biologisch systeem (cel, stukje weefsel of stukje orgaan), onttrokken als het is aan allerhande regelsystemen, komt, juist dank zij dit isolement, beter in aanmerking voor een analyse van de eigen potenties.

Een misplaatste vraag is daarbij of de kweeksituatie wel geheel vergelijkbaar is met de situatie in vivo. Het antwoord is zonder meer ont-

kennend. Meestal zal de milieuconditie slechts een povere afschaduwing zijn van de oorspronkelijke situatie: vaat- en zenuwvoorziening zijn uitgevallen. Dit is echter niet het punt. Het gaat om de vraag wat deze cel, dit weefsel, respectievelijk dit stukje orgaan in isolement aan verichtingen kan opbrengen, onder zorgvuldig gekozen experimentele condities.

Voorbeeld van het verband tussen methode en kennisverwerving

Een goede wijze om het verband tussen methode en verwerving van fundamentele kennis in kaart te brengen is de beschrijving van een concreet stuk onderzoek. Wij kiezen daartoe de bestudering van de betekenis van de spoeldraden voor de anafase van de mitose.

Zoals bekend gaan in de anafase de chromatiden uiteen, startend vanuit de metafaseplaat (equatorvlak). In de voorafgaande metafase hebben de chromosomen, elk bestaande uit twee chromatiden, hun plaats gevonden in het equatorvlak en aanhechting verkregen met een aantal microtubuli van de delingsspoel.

Door de elektronenmicroscoop ziet men deze microtubuli als holle buizen met een diameter van 15–22 nm en een wanddikte van 4–6 nm; de maten variëren enigszins, afhankelijk van het gebruikte fixatief en het inbedmiddel. Nadere studie leert, dat de wand is opgebouwd uit 13 in de lengterichting lopende filamenten. Afkoeling of confrontatie met colchicine tijdens de deling blijkt een reversibele desorganisatie van de spoel te veroorzaken, d.w.z. herstel treedt snel op nadat de desorganiserende invloed is weggenomen. Op grond van dit effect laat colchicine zich ondermeer gebruiken als 'metafase-stopper', met de bedoeling om (onder kweekcondities) een groot aantal cellen vast te leggen in de metafase. Een dergelijke behandeling is een noodzakelijke voorwaarde tot chromosoomonderzoek (vorm, grootte en aantal).

Juist bij de bespreking van het verband tussen methode en kennis krijgt dit verschijnsel een bijzondere betekenis: het colchicine-effect is uiteraard een sterk argument ten gunste van de realiteit van de delingsspoel en van de betekenis van de spoel voor de kerndeling. Nog een ander argument komt uit de hoek van de centrifugatietechniek: als men de cel plaatst in een centrifugaalveld, kan de spoel worden verplaatst. Dit kan leiden tot een verandering van het vlak van deling.

Wegen tot nader onderzoek kwamen in zicht door de mogelijkheid

om de spoel te isoleren zonder voorafgaande fixatie, d.w.z. zonder een ingreep die geacht kan worden artefacten op te roepen. Mazia (1961) toonde aan, op basis van de veronderstelling dat de bouweenheden van de microtubuli bijeen gehouden worden ondermeer door zwavelbruggen, dat dithiodiglycol ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{S-SCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) voortreffelijk werkt als een 'stabilisator' bij de isolatie van het mitotische apparaat. Hiermee was de weg geopend tot een verdere analyse, met name tot een karakterisering, van de spoelmaterie.

Onderzoek van Borisy & Taylor (1967) en Stephens (1967) leert, dat de spoel is opgebouwd uit eiwitten, waarin ondermeer fracties bestaande uit deeltjes van 6 respectievelijk 22 Svedberg-eenheden onderscheiden kunnen worden. Deze getallen slaan op de sedimenteerbaarheid in een centrifugaal veld. De sedimenteerbaarheid wordt bepaald door de soortelijke massa en de vorm van de deeltjes. Werkend met radio-actief (met tritium gemerkt) colchicine blijken voorts de 6-S-deeltjes een opvallend colchicine-bindend vermogen te bezitten. Een en ander heeft geleid tot de veronderstelling, dat deze macromolekulen opgevat mogen worden als fundamentele bouweenheden van de microtubuli. De betekenis van de 22-S-deeltjes is niet geheel duidelijk. Mogelijk gaat het om aggregaten van 6-S-deeltjes. Het is echter óók mogelijk dat zij afkomstig zijn uit de materie die de tubuli omgeeft. Opvallend is, dat zij géén colchicine binden.

Door Mazia en Went (zie Wolfe, 1972) is nu de mogelijkheid uitgebuit om tegen spoel eiwit gericht antilichaam bij het onderzoek in te schakelen. Daartoe werd geïsoleerd spoelmateriaal, afkomstig van zeeëgel-embryo's, ingespoten bij een konijn. Een noodzakelijke voorwaarde tot het slagen van een dergelijke onderneming is uiteraard, dat men uitgaat van gezuiverd ongedenatureerd eiwit. Confrontatie van een extract van niet-delende zeeëgelcellen met antilichaam leert, dat in de interfase, d.w.z. in de cel die niet in deling verkeert, reeds spoelmateriaal aanwezig is: het extract bindt antilichaam.

Samenvattend kunnen we stellen, dat er in het cytoplasma een voorraad bouwstenen aanwezig is. De microtubuli ontstaan door polymerisatie van macromolekulen vanuit deze voorraad.

Deze opvatting roept vragen op omtrent de regulatie van dit proces en de ordenende factoren die nodig zijn voor de opbouw van een 'welgerichte' spoel. Wij laten deze vragen rusten om over te gaan op de betekenis van de spoel voor de anafase van de mitose.

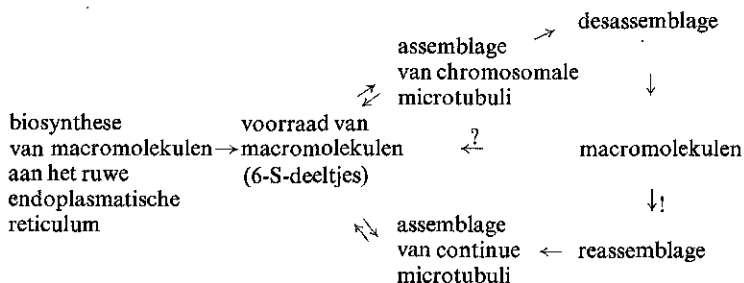
Van oudsher onderscheidt men twee soorten spoeldraden; chromo-

somale draden, lopend van een der polen naar het centromeer en continue draden, gaande van pool tot pool. Tijdens de anafase treedt verkorting van de chromosomale draden op; hierdoor worden de chromatiden uiteen getrokken. Meestal treedt daarnaast een verlenging op van de continue draden, waardoor de polen zelf uiteengaan. Dit is slechts een algemeen schema, waarop vele variaties voorkomen. In sommige plantecellen blijft de spoelverlenging achterwege. Ook zijn gevallen bekend waarbij juist de verkorting van de chromosomale draden ontbreekt en de verlenging van de continue draden geheel aansprakelijk lijkt voor het uiteengaan van de chromatiden. Ook kent men variaties in de mate van synchronie. Tenslotte kan men zelfs kunstmatig een ontkoppeling oproepen door confrontatie met chloraalhydraat (0,08%) tijdens de anafase; hierdoor wordt de spoelverlenging verlamd, de verkorting van de chromosomale draden gaat echter door. Belangrijker nog dan alle voorafgaande gegevens is het gegeven dat de spoeldraden tijdens de anafase niet van dikte veranderen. Bij contractie van de chromosomale draden en rek van de continue draden zou men stellig anders moeten verwachten.

Een belangrijke poging om deze verschijnselen te verklaren is gedaan Inoué & Sato (1967). In het kader van hun zogenaamde desassemblage-reassemblage hypothese berust de verkorting van de chromosomale microtubuli op een depolymerisatie, beter gezegd, desassemblage nabij de polen. De vrijkomende macromolekulen zouden kunnen verdwijnen in de algemene voorraad; zij zouden echter ook toegevoegd kunnen worden aan de continue microtubuli, met als gevolg een spoelverlenging; hier is dus sprake van reassemblage ter hoogte van de polen. Men zou dan kunnen zeggen: wat van de chromosomale tubuli wordt afgebroken, wordt toegevoegd aan de continue tubuli.

Een tweetal gegevens kan deze hypothese ondersteunen. In de eerste plaats blijkt colchicine in uiterst lage concentratie de anafase-beweging te bevorderen. Men zou kunnen aannemen, dat het proces nu gesmeerd verloopt, doordat de 6-S-deeltjes in losser verband zitten (bij een hogere colchicine-concentratie immers vallen de microtubuli zelfs uiteen). In de tweede plaats stellen Inoué en Sato (zie Wolfe, 1972), dat juist in het gebied van de polen een verhoogde ATPase-activiteit bestaat. Overigens wordt de aard van deze activiteit door hen niet duidelijk gekarakteriseerd en ook niet voldoende ingepast in de energetica van het totale gebeuren.

Voorbijgaand aan enkele uiterst belangrijke kwesties, zoals de organisatie van de polen, de aanhechting van de microtubuli aan de centromeren en de energetica van de anafase laat het voorgaande zich in het volgende hypothetische schema samenvatten:



Deze paragraaf was bedoeld om, in het kader van onze kaarttekening, opgehangen aan een willekeurig stuk celbiologische problematiek, de relatie tussen methode en 'conceptuele worsteling' duidelijk te maken. Slechts de celbioloog in actie kan ons leren wat celbiologie is. De aandacht zij gevestigd op een tweetal leerboeken, Wolfe (1972) en Yost (1972), die geheel vanuit deze overtuiging zijn geschreven.

Cellulaire evolutie

Reeds eerder werd opgemerkt dat de verdeling van cellen in prokaryoten en eukaryoten een der meest fundamentele is uit de celbiologie; het hoofdstuk van James zal ondermeer gewijd zijn aan deze materie. Het is de bedoeling om in deze paragraaf enige fundamentele problemen aan te stippen, die letterlijk en figuurlijk hieraan voorafgaan. Voor uitgebreide gegevens wordt verwezen naar Fox & Dose (1972), Kaplan (1972) en Rutten (1971).

In verhandelingen over het ontstaan en de evolutie van het leven worden chronologisch de volgende fasen onderscheiden: chemische evolutie van organische molekulen, vorming van precellulaire aggregaten, protobionten, eobionten, en prokaryoten en eukaryoten (bij eukaryoten is ondermeer sprake van een kern in de zin van een circumscript compartiment). Daarbij komt als belangrijkste vraag aan de orde of (respectievelijk hoe) de eukaryoten zich ontwikkeld hebben uit de prokaryoten. In dit verband komen de volgende mogelijkheden

naar voren: (1) prokaryoten en eukaryoten hebben zich geheel onafhankelijk van elkaar ontwikkeld; (2) er is sprake van een gemeenschappelijke stamvader; (3) eukaryoten hebben zich ontwikkeld uit prokaryoten. Theoretisch, maar ongeloofwaardig, is er nog de mogelijkheid, dat prokaryoten zouden zijn op te vatten als 'onttakelde' eukaryoten. Uitkomsten van sedimentologisch onderzoek alsmede gezond verstand schakelen deze mogelijkheid uit.

Wij kunnen ons nu afvragen in hoeverre dergelijke bespiegelingen van belang zijn voor het moderne celbiologische denken. Voor wat betreft de prokaryoten en eukaryoten luidt het antwoord als volgt: de eukaryoot is nauwelijks te begrijpen, zonder een of andere evolutionaire relatie met de prokaryoot aan te nemen. Dit betreft vooral het genetisch apparaat van de eukaryotische cel, dat verdeeld is over een aantal betrekkelijk onafhankelijk van elkaar opererende organellen, zoals mitochondrieën, chloroplasten, ciliën en natuurlijk de kern. Elk van deze organellen bevat informatiedragend DNA; de replicatie geschiedt per organel.

Een opvatting die thans meer en meer veld wint, houdt in dat de eukaryoot ontstaan zou zijn uit prokaryoten in die zin, dat een grotere predatoire (prooi-jagende) anaerobe prokaryotische cel een kleinere prokaryotische cel als symbiont geïncorporeerd zou hebben. Stanier (1970) veronderstelt dan ook, dat de ontwikkeling van het vermogen tot fagocytose bij prokaryoten een belangrijke stap is geweest op weg naar de eukaryoot.

Het belang van biogenetische bespiegelingen kan echter nog algemener gesteld worden; het evoluerende primitieve leven kon ontstaan bij de gratie van een aantal circumscripate condities van het aardoppervlak en de primitieve atmosfeer. Bij voortbestaan zouden deze condities het 'ontwaakte' leven in deze vorm vermoedelijk op den duur weer vernietigd hebben, respectievelijk een geheel andere richting hebben doen inslaan. De ontwikkeling van de organismen zelf echter induceerde veranderingen in de uitgangscondities. Deze veranderingen van aardoppervlak en atmosfeer hadden omgekeerd een ingrijpende invloed op de verdere evolutie.

In het bijzonder geldt dit met betrekking tot de samenstelling van de atmosfeer, die veranderde van reducerend in oxyderend, zoals af te lezen valt uit onderzoek van de gesteenten. Zo verschijnen sulfaten, ontstaan door atmosferische oxydatie van sulfiden, in afzettingen die circa 10^9 jaar geleden gevormd zijn. Ook de verhouding $\text{FeO}:\text{Fe}_2\text{O}_3$

in bepaalde gesteenten geeft aanwijzingen in dezelfde richting.

Samenvattend geeft het volgende overzicht een opsomming van enkele belangrijke punten, waaronder de opkomst van de moderne atmosfeer als gevolg van fotosynthetische activiteit. Het verschijnen van zuurstof in de atmosfeer, aldus de veronderstelling, maakte een evolutionaire 'explosie' mogelijk.

Tijd vanaf heden in 10^9 jaar	Atmosfeer	Biologische organisatie en activiteit	
0	21% O_2 2% O_2	metazoa	
1		eukaryoten	
2	0,2% O_2		
	$CO_2 + N_2$		
3		prokaryoten	aerobe ademhaling aerobe fotosynthese
	$H_2O + CH_4 + NH_3 + H_2$		anaerobe fotosynthese
4		precellulaire aggregaten	CO_2 assimilatie

Functionele morfologie van de eukaryotische cel

Functionele morfologie houdt zich bezig met het verband tussen structuur en functie. In principe is dit begrip van toepassing over het gehele traject van de macroscopische anatomie tot en met het moleculaire niveau. De volgende alinea's behandelen vooral het ultrastructurele niveau van de cel, met hier en daar een uitstapje naar het moleculaire.

De figuren 1 en 2 zijn ontleend aan Lentz (1971), een atlas die op te vatten is als een complement van Fawcett (1966). Lentz presenteert tekeningen van functioneel zeer uiteenlopende celtypen, waarbij het accent ligt op het karakteristieke van de ultrastructurele organisatie. Hiermee wordt bereikt, dat de lezer zowel oog krijgt voor de 'functionele onderbouw', d.w.z. de basale organisatie principes, alsook leert zien, wat het functioneel morfologische eigen 'gezicht' is van een bepaald celttype; men zou kunnen spreken van de 'functionele bovenbouw', d.w.z. de specifieke organisatie-principes.

Figuur 1 betreft een cel die gericht is op de aanmaak en afgifte van

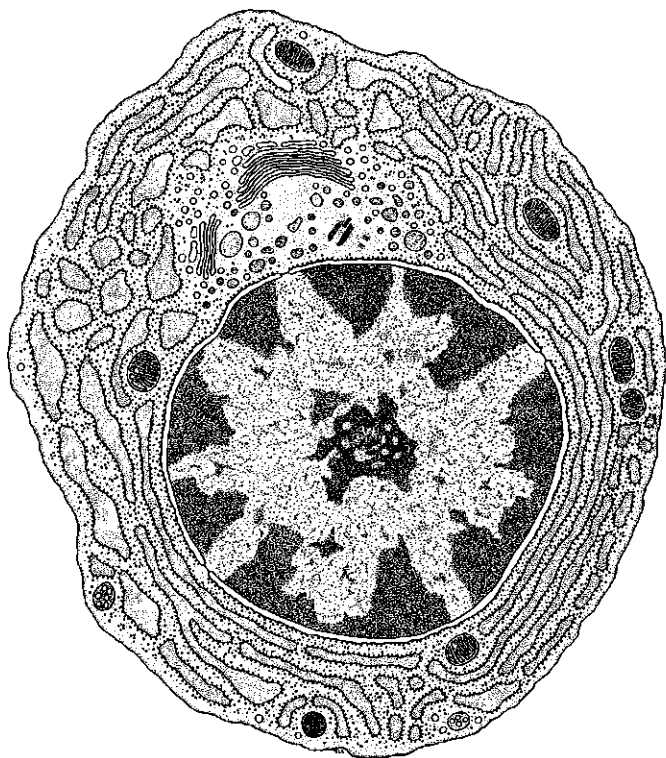


Fig. 1. Een plasmacel. (Uit Lentz, 1971.)

antilichaam (tegen antigeen gerichte eiwitten). In het bijzonder valt op het uitgebreide ruwe endoplasmatische reticulum, wijzend op een intensieve biosynthese van eiwit. In figuur 2 is daarentegen een cel weergegeven met een sterk ontwikkeld glad endoplasmatisch reticulum; deze interstitiële cel is vooral belast met de biosynthese en afgifte van steroïd hormoon (testosteron). Beide cellen exporteren; de aard van het product is echter geheel verschillend.

De kern van de plasmacel toont een duidelijke nucleolus, bestaande uit een nucleolonema (opengewerkt) en een amorf gedeelte. Het chromatine is vooral randstandig geplaatst, als het ware tegen het binnenblad van de dubbelbladige, met poriën doorschoten kernmembraan.

Het buitenblad is aan de buitenzijde bezet met ribosomen en past als zodanig geheel in het beeld van het ruwe endoplasmatische reticulum.

Direct boven de kern ziet men twee loodrecht op elkaarstaande centriolen met enige aanduiding van een substructuur. Hieromheen liggen enkele blaasjes. Vervolgens stuiten wij op een tweetal dictyosomen, tesamen vormend het Golgi-apparaat: een systeem van opeengestapelde, platte, door membraan omgeven ruimten met vele kleine blaasjes langs de flanken. Het meest opvallende is het ruwe endoplasmatische reticulum. Ook hier gaat het om door een membraan omgeven ruimten; aan de cytoplasmatische zijde zijn de membranen bezet met ribosomen. In feite is hieraan het woord ruw ontleend. Ook een respectabel aantal vrije ribosomen is ingetekend. De tekening laat tenslotte nog enkele mitochondriën zien met hun cristae, d.w.z. naar het interieur geplooid binnenmembraan.

Het ruwe endoplasmatische reticulum is bij sterk secretoire cellen bij uitstek een plaats van eiwitsynthese. Hier wordt het betreffende antilichaam gemaakt, zij het ook in incomplete vorm. Ogenblikkelijk na de biosynthese van een nog niet geheel compleet eiwitmolekuul 'verdwijnt' dit molekuul in de cisternen van het reticulum; met behulp van immunocytochemische technieken gelukt het om de eiwitmolekulen hier te betrappen. Een verdere bewerking vindt plaats in het Golgi-apparaat. Het complete antilichaam wordt niet opgeslagen maar direct afgegeven aan het celmilieu. Met name bij de exocriene pancreascel is er ook sprake van eiwitsynthese en afgifte; hier echter is er duidelijk sprake van tussentijdse opslag (zymogeenkorrels).

De interstitiële cellen van de testis (cellen van Leydig) zijn uiteraard ook in het bezit van een complete basisorganisatie. De tekening laat in dit opzicht echter ernstig verstek gaan, bijvoorbeeld nucleoli en centriolen zijn niet ingetekend. Wat wij vooralszien is dat de verhouding ruw/glad endoplasmatisch reticulum volledig is omgedraaid in het voordeel van het laatste. Uit de wijze waarop de aansnijding heeft plaatsgevonden, blijkt voorts dat bij het gladde endoplasmatische reticulum niet zozeer sprake is van een systeem van 'platte zakken', maar veel meer van een tubuleus labirint. In de tekening zijn lipiddruppels aangegeven; voorts is het aantal mitochondriën in de cel groot. Men neemt aan, dat een voorprodukt van het testosteron (pregnenolon) in de mitochondriën gevormd wordt uit cholesterol. Hier vervullen de mitochondriën dus (tenminste) twee rollen: de aanmaak van ATP en de vorming van pregnenolon.

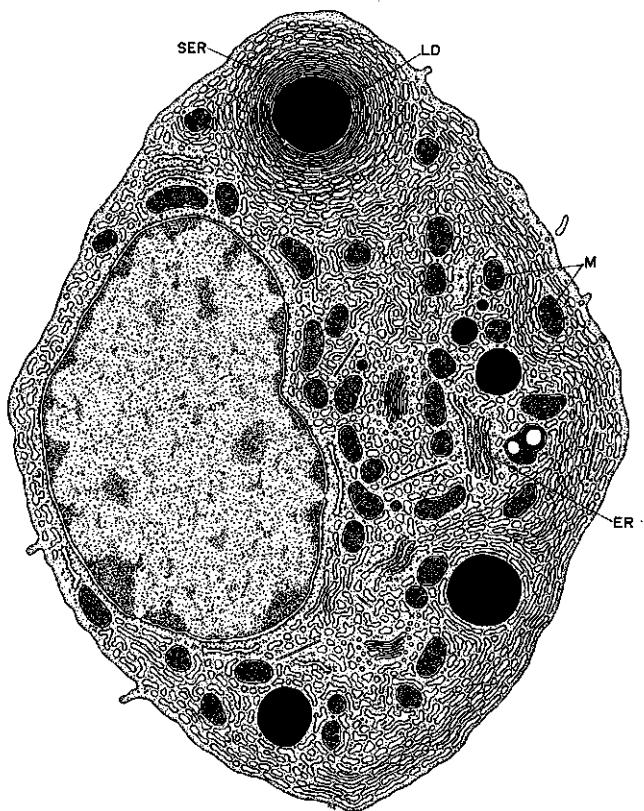


Fig. 2. Een interstitiële cel van de testis. (Uit Lentz, 1971.)

Enzymcytochemisch onderzoek kan enig antwoord op de vraag geven waar en hoe (via welke tussenstappen) testosteron in deze cellen wordt gesynthetiseerd. Hierbij moet worden aangetekend, dat het gladde endoplasmatische reticulum in het algemeen meerdere functionele aangezichten heeft. Zo is bekend, dat levercellen na toediening van barbituraat een uitbreiding ondergaan van het gladde endoplasmatische reticulum. Een en ander heeft te maken met het vermogen van de levercel om vergiften te neutraliseren. Ook is er een functionele betrekking tussen dit membraansysteem en de koolhydraatstofwisseling.

Cellulaire compartimentalisatie

In het kader van onze kaarttekening wil ik nu enkele fundamentele zaken nader belichten. Allereerst is er sprake van een verregaande cellulaire compartimentalisatie; een aantal fasenscheidingen, waardoor de cel verdeeld wordt in een aantal 'apparaten'. Hiervoor verantwoordelijk zijn biomembranen, waaronder de plasmamembraan, de dubbelbladige kernmembraan, de membranen van het endoplasmatisch reticulum, het Golgi-apparaat, de mitochondriën, de lysosomen, enz. Ook de membranen van de chloroplasten mogen niet ongenoemd blijven. Het gaat niet slechts om een zekere huishoudelijke ordening, waarin men keuken en toilet nu eenmaal bij voorkeur niet combineert, maar om een noodzakelijke voorwaarde, waarmee het functioneren staat of valt. Dit geldt voor de cel als geheel, maar óók voor de organellen als zodanig, bijvoorbeeld de chloroplasten of de mitochondriën. Het functioneren wordt eerst mogelijk, dank zij de fasenscheiding en dank zij de bijzondere eigenschappen van die scheidende biomembranen. Een oud beeld, dat het overigens nog altijd doet, betreft de accu: het gaat niet slechts om loodplaten in zwavelzuur. Essentieel voor de oplaadbaarheid en het stroomleverend vermogen is de compartimentalisatie. Met betrekking tot deze problematiek verwijs ik naar Linskens (1966). Het verband tussen ordening en functie wordt hier tot op het moleculaire niveau breed behandeld.

Tegen deze achtergrond laat zich voorzien, dat men het begrip biomembraan niet generaliserend mag gebruiken. Het is zelfs zeer de vraag of men van 'de' membraanstructuur mag spreken (Wallach, 1972). Niet alleen zijn er variaties in samenstelling van duidelijk functionele betekenis, maar de wijze en de aard van de ordening der componenten is aan variaties onderhevig. In het kader van de membraanfusies zal nader op een en ander worden ingegaan. Lettend op biomembranen, opgevat als compartimentsgrenzen, moeten wij vooral denken aan de volgende aspecten (zie ook Policard, 1970):

- mechanische eigenschappen
- gereguleerde passieve, respectievelijk actieve doorlaatbaarheid voor molekulen en ionen, hiermee samenhangend de elektrische eigenschappen,
- directe betrokkenheid bij stofwisselingsprocessen,
- vermogen tot specifieke fusie.

Op het derde en vierde punt willen wij allereerst nader ingaan. Van

de directe betrokkenheid van biomembranen bij specifieke stofwisselingsprocessen hebben wij twee voorbeelden gezien; het ruwe en het gladde endoplasmatische reticulum. Ook zijn terloops aangestipt de chloroplasten (fotosynthese) en de mitochondriën (o.a. ATP-generatie). In al deze gevallen gaat het om een stuk functionele morfologie waarbij de betrokken biomembranen een rol spelen die veel méér inhoudt dan die van begrenzer.

Nu komt de vraag naar voren of bepaalde processen volstrekt ondenkbaar zijn buiten de structuren zoals wij die zojuist hebben leren kennen. Het antwoord is beslist ontkennend. De prokaryoot bijvoorbeeld is niet in het bezit van een ruw endoplasmatisch reticulum, maar synthetiseert uiteraard wel eiwitten. Sterker nog: mitochondriën en chloroplasten hebben een stuk eigen eiwitsynthese. Een deel van de hiertoe benodigde genetische informatie resideert in deze organellen zelf, maar van een endoplasmatisch reticulum is natuurlijk geen sprake.

Een en ander laat de volgende belangrijke conclusie toe: bepaalde afgebakende moleculaire processen kunnen zich voltrekken binnen uiteenlopende structurele opstellingen. Natuurlijk blijft dan toch de vraag over, wat voor gemeenschappelijks aan die verschillende opstellingen ten grondslag ligt.

Membraanfusie

Het vermogen tot specifieke membraanfusie mag in deze kaarttekening beslist niet gemist worden. Daarbij ligt het accent op het woord specifiek. Membraanfusie in algemene zin is een allesbehalve zeldzame gebeurtenis. Bij fagocytose en pinocytose ('eten en drinken' van cellen) sluit bijvoorbeeld de plasmamembraan zich in zichzelf; hierdoor wordt een vacuole met een stuk omhulde buitenwereld naar het celinterieur afgesnoerd. Omgekeerd kan een cel de inhoud van een vacuole naar buiten werken, zonder ook maar een seconde lek te zijn, door versmelting van deze vacuole met de plasmamembraan. Een en ander zou de gedachte kunnen doen ontstaan, dat hier niet méér aan de hand is dan wat zich afspeelt bij het afsnoeren, respectievelijk samenvloeien van zeepbellen. In een bepaald opzicht is deze vergelijking zelfs verhelderend. Ze gaat echter niet op, wanneer wij het verschijnsel fusie van biomembranen nader bestuderen (zie De Voogd van der Straaten, 1972). Wij onderscheiden:

- lokale fusie van de plasmamembraan met zichzelf,

- fusie van de plasmamembraan van twee of meer cellen,
- fusie binnen de cel, 'intercompartimentaal verkeer'.

De eerste categorie werd reeds aangeduid. Het is van belang om te vermelden, dat onder meer vetzuren en alcoholen met korte ketens bevorderend kunnen werken. Men kan dit verklaren, door aan te nemen, dat dergelijke molekulen in de plasmamembraan worden ingevoegd en de samenhang binnen de membraan verzwakken. Hierdoor zouden moleculaire herschikkingen gemakkelijker verlopen.

Fusies waarbij het komt tot de versmelting van cellen zijn althans in de natuur relatief zeldzaam. Het is waarschijnlijk, dat de zogenaamde glycocalix, een laag van glucoproteïden die het buitenoppervlak van veel cellen bedekt en een rol speelt bij het stoftransport door het celoppervlak, beperkend werkt op de mogelijkheid tot fusie.

Onder celweek-condities wordt nogal eens spontane fusie waargenomen. Door kunstgrepen, zoals de toevoeging van (geïnactiveerd) Sendai-virus en in mindere mate door toevoeging van membraan-labiliserende agentia, kan men celfusie forceren. Op deze mogelijkheid is een nieuwe richting van cytogenetisch onderzoek opgebouwd (zie Harris, 1970 en Ephrussi, 1973). Verwezen zij ook naar het hoofdstuk van Bootsma.

Het belangrijkste punt vormen de specifieke membraanfusies binnen de cel. Deze fusies vormen o.a. de basis van een stuk verkeer tussen sommige compartimenten van de cel. Door Kramer zal hierop dieper worden ingegaan. Het is ook juist hier, dat de vergelijking met eenvoudige grensvlakverschijnselen, zoals de samenvloeiing van zeepbellen, niet opgaat. Wij denken bijvoorbeeld aan de secreetkorrels in pancreascellen. Dit secreet is verpakt in membraan en zal in het celmilieu worden uitgestort via een fusie van de secreetkorrel met de plasmamembraan. De secreetkorrels zijn zelf ontstaan door afsnoering van het Golgi-apparaat. Secreetkorrels zelf kunnen samenvloeien maar van een fusie met bijvoorbeeld het endoplasmatisch reticulum, het Golgi-apparaat of met lysosomen is in het algemeen geen sprake. De enige weg is de weg naar buiten. Blijkbaar bestaan er herkenningsrelaties, waardoor het verkeer duidelijk het karakter van éénrichtingsverkeer krijgt. Hierdoor wordt als het ware een dimensie toegevoegd aan de intracellulaire ordening.

Over het wezen van de membraanfusie is nog niet veel met zekerheid bekend, vooral niet met betrekking tot de specificiteit. Het meeste wat zich zeggen laat, komt neer op een wederkerige doordringing van ge-

labiliseerde membranen, waarvan de bestanddelen losjes samenhangen in een wellicht veranderde structurele relatie. Na deze penetratie is het niet langer mogelijk de bestanddelen (eiwitten en lipiden) aan een bepaalde membraan toe te wijzen. Op de een of andere wijze vindt vervolgens een herordening plaats, resulterend in een herstel van continuïteit. Inmiddels echter zijn de grenzen verlegd, d.w.z. fusie heeft plaats gevonden. Omtrent dit buitengewoon belangwekkende onderwerp uit de celbiologie blijven de volgende fundamentele vragen vooralsnog open:

- Wat zijn de labiliserende omstandigheden die aan de natuurlijke fusies ten grondslag liggen? Hoe grijpen ze aan?
- Welke factoren bepalen de specificiteit?
- Waardoor en hoe komt de reorganisatie na wederkerige penetratie op gang?

De levende cel

In de inleiding hebben wij een aantal facetten opgesomd, die men in hun onderlinge samenhang, zou kunnen houden voor de hoofdbestanddelen van het celbiologische denken van vandaag. Wij willen nu enige inleidende opmerkingen maken met betrekking tot de cel als een

- gereguleerde stofwisselende en energie transformerende,
- geprogrammeerde en informatie verwerkende, muteerbare,
- aan milieu invloeden onderworpen en het milieu beïnvloedende moleculaire 'machine',
- met (niet altijd) het vermogen tot deling.

Het gaat hier dus juist om de dynamische aspecten, d.w.z. om de levende cel, die in een voortdurend veranderende toestand verkeert. Bestudering van een dergelijk complex dynamisch systeem gaat gepaard met een fundamentele moeilijkheid. (1) In de levende cel lopen op geordende wijze een niet gering aantal processen naast en door elkaar. Van causaal analytisch standpunt kan men zeggen, dat vele causale ketens via vertakkingen onderling samenhangen en ook in zichzelf terugbuigen. Juist hierdoor ontstaat een gereguleerde eenheid met een grote mate van zelfbestuur. Tegen deze achtergrond heeft de onderscheiding van facetten iets geforceerds en kunstmatigs. (2) Deze kunstmatigheid betekent echter niet, dat het aanwijzen van facetten een zinloze onderneming is; deze facetten hebben zichzelf aangediend in het proces van kennisverwerving, afhankelijk van de richting waar de

aandacht al of niet toevallig heenging. (3) Dit neemt niet weg, dat deze facetering vroeg of laat weggewerkt moet worden in het kader van een 'totaliteitsbeschouwing'.

De vraag komt nu op of een term als 'totaliteitsbeschouwing' niet thuis hoort in het arsenaal van een filosoof, die ons toch niet leren kan hoe een cel werkt. Zelfs, met alle gegevens op tafel, kunnen wij een voorlopige limiet vinden in het beperkte integratie-vermogen van het menselijk denken: hoe alle gegevens te combineren? Wat hebben wij in deze te verstaan onder 'begrijpen'?

Het laat zich nu voorzien, dat wij in toenemende mate steun moeten gaan zoeken bij de computer. In samenhang hiermee zullen de termen inzicht en begrip dan wellicht een accentverschuiving ondergaan. Ontdaan van alle praktische problematiek komt deze mogelijkheid tot benadering hierop neer: een complex van op observatie gebaseerde veronderstellingen kan worden getoetst op de simuleerbaarheid per computer. Aan de computer wordt gevraagd of het veronderstelde netwerk van betrekkingen zou kunnen kloppen met wat de natuur te zien geeft. Zo ja, dan krijgt het veronderstelde netwerk de kracht van begrip. Indien niet, dan zullen de veronderstellingen gewijzigd moeten worden op basis van de computeruitkomsten.

Cel en celmilieu

Na deze vóórbeschouwing zal het duidelijk zijn, dat zoiets als een totaliteitsbeschouwing voorlopig nog ver achter de horizon ligt. In een voornamelijk didactische poging om het 'onmogelijke' toch enigszins mogelijk te maken gaan wij nu in algemene zin uit van het celmilieu. In dit milieu treffen wij stoffen aan, die

- van elders zijn aangevoerd,
- door de cel als afval zijn afgegeven aan het milieu,
- door de cel zijn afgegeven als sécreet (bijvoorbeeld een hormoon) of
- door de cel zijn afgegeven en vastgelegd (bijvoorbeeld kraakbeenmatrix, ook de glycocalix).

Het gaat in eerste instantie om de eerstgenoemde categorie, en wel in het bijzonder om zuurstof, water, ionen, 'brandstof' (bijvoorbeeld glucose), 'bouwstof' (bijvoorbeeld aminozuren) en een aantal 'co-factoren', benodigd voor de functie van het cellulaire enzymapparaat. Bovendien kunnen wij van elders aangevoerde stoffen aantreffen, die met betrekking tot die cel een bepaalde 'signaalwaarde' bezitten, zoals

hormonen. Een eerste vraag is nu: hoe passeren deze stoffen de plasmamembraan om in de stofwisselingsmachine te kunnen worden opgenomen? Daarbij moet overigens direct worden opgemerkt dat een aantal signaal-stoffen de membraan in het geheel niet passeert maar aangrijpt op receptoren die in het celoppervlak zetelen.

Afgezien nu van hormonen (waarvan sommige wel degelijk het celoppervlak passeren en in het celinterieur aangrijpen) passeren stoffen de plasmamembraan:

- door vrije diffusie,
- door vergemakkelijkte diffusie,
- door uitwisselingsdiffusie of
- door actief transport.

Belangrijker dan een gedetailleerde explicatie van deze termen is de aanduiding van een tweetal kernvragen: (1) is er bij de passage van een bepaalde stof een transportsysteem in het geding en zo ja, (2) wie betaalt de transportenergie? Het denkbeeld van transportsystemen, ongeacht de moleculaire voorstelling die men zich hiervan maakt, is nauw verbonden met zogenaamde competitieverschijnselen: stof S, die lijkt op stof S', werkt de passage van S' tegen en omgekeerd. De meest voor de hand liggende verklaring is wel deze: het transportsysteem, in gedachte gereduceerd tot een soort draaideur, maakt het begrijpelijk dat ruimtes bezet met S niet in staat zijn om S' door te sluisen. Met andere woorden, S loopt het 'carrier-mediated' transport van S' voor de voeten.

De reductie van een dergelijk transportsysteem tot een draaideur lijkt een wetenschappelijke (moleculair-biologische) euveldaad, de explicatieve betekenis wordt er echter nauwelijks door verminderd. Nog anders gezegd: andere soorten verklaringen geven tot heden weinig méér inzicht.

De tweede kernvraag luidt: door welke processen wordt de transportenergie gedekt? In principe zijn hier twee mogelijkheden: (1) de energie is afkomstig van de kinetische energie van het doortredende molecuul zelf (model: draaideur café zonder portier); (2) het transportsysteem draait op een, door de cel zelf gegenereerde, energierijke fosfaatester zoals ATP (adenosinetrifosfaat). Indicatief voor dit zogenaamde actieve transport is de stagnatie die optreedt onder omstandigheden, die de vorming van ATP hinderen, zoals vergiftiging met CO, KCN of dinitrophenol. Bij de vrije diffusie is in het geheel geen carriersysteem in het spel, in tegenstelling tot de situatie bij de vergemakke-

lijkte diffusie en het actieve transport. Alleen in het laatste geval wordt de carrier door de cel zelf gedreven; het benodigde ATP wordt voornamelijk gevormd door de mitochondriën. De uitwisselingsdiffusie laten wij onbesproken.

Deze summiere beschouwing biedt de gelegenheid om nogmaals in te gaan op het netwerk-karakter van levensprocessen: bepaalde 'brandstoffen' en bepaalde 'bouwstoffen' kunnen de cel slechts binnen komen via carriersystemen, d.w.z. via afgebakende, tot de membraan behorende moleculaire structuren. Opbouw en onderhoud van deze structuren vóóronderstellen reeds de permeatie van bouw materiaal; terwijl actief transport van 'brandstof', d.w.z. energie leverende molekulen, ATP kan vergen. Dit vóóronderstelt reeds de aanwezigheid van 'brandstof'.

Veel duidelijker nog komt het 'netwerk-karakter' naar voren bij een overigens uiterst oppervlakkige beschouwing van de intermediaire stofwisseling. Opbouw- en afbraakprocessen zijn op vele punten gekoppeld. Katabole processen (afbraak) leveren niet alleen energie (ATP) maar ook intermediairen, benodigd voor anabole processen (opbouw). Omgekeerd zijn de katabolisch en anabolisch werkende enzymen het resultaat van een stuk anabolisme. Uiteraard bevinden wij ons op het gebied van de biochemie, waar thans bovenal de nadruk wordt gelegd op de regulatie van die processen (zie bijvoorbeeld Lehninger, 1970). Die reguleerbaarheid vóóronderstelt nu juist een dergelijke samenhang van processen tot een netwerk.

Een bijzondere vorm van 'milieu' vinden wij in de 'tight junctions', dat zijn welomschreven contactplaatsen tussen de plasmamembranen van epitheelcellen. In eerste instantie heeft men wel gedacht aan een afzegelende hechtfunctie, die de epitheelcellen zou helpen bijeenhouden tot een gesloten weefselverband. De tight junctions vormen een onderdeel van een groter geheel: het 'junctional complex'. Gaandeweg echter blijken deze structuren ook betekenis te hebben voor stoffelijk transport (vooral ionen) tussen buurcellen. Men spreekt thans zelfs van cel-communicatie en bedoelt daarmee te zeggen, dat buurcellen via tight junctions een zekere mate van (meetbaar) 'elektrisch' contact kunnen onderhouden. Uiteraard zijn ook synapsen op te vatten als een bijzondere vorm van milieu; zie hiervoor het hoofdstuk van Jongkind.

Hormonen en cellen

Reeds werd melding gemaakt van signaalstoffen, zoals hormonen of impuls-overdragende stoffen die aangrijpen vanuit het celmilieu op receptoren van de plasmamembraan. In een aantal gevallen is het voorstelbaar, dat de werking op moleculair niveau primair bestaat uit een verandering van de doorgankelijkheid van de membraan voor bepaalde stoffen, zoals ionen. Het fysiologisch effect zou dan een gevolg kunnen zijn van de secundaire veranderingen in het inwendig milieu van de cel.

Binnen het kader van deze simpele causale keten doemen reeds enige fundamentele vragen op: (1) wat maakt deze cel gevoelig voor dat hormoon? (2) Gegeven de gevoeligheid, wat is de oorzaak dat deze doelwitcel op zodanige wijze reageert op de confrontatie met die signaalstof?

Een bijzonder geval van deze problematiek vinden wij daar, waar cyclisch 3,5-AMP (kortweg cAMP) de rol speelt van tweede boodschapper. Van een aantal hormonen, zoals adrenaline, glucagon, ACTH, luteïniserend hormoon, enz. is bekend, dat zij in hun doelwitcellen een concentratieverhoging van cAMP induceren. Er is althans in een aantal gevallen aanleiding om dit cAMP verantwoordelijk te stellen voor het uiteindelijke hormoon-effect: het 'binnensmokkelen' van cAMP (in de vorm van de di-boterzuren ester) respectievelijk het aanbieden van stoffen die de afbraak van cAMP in de cel remmen (bijvoorbeeld coffeine), kan leiden tot een imitatie van de fysiologische hormoonwerking respectievelijk het hormoon-effect versterken.

De lijst van fundamentele vragen krijgt nu deze gedaante:

(1) wat maakt deze cel gevoelig voor dat hormoon? (2) hoe kunnen verschillende soorten cellen eenzelfde boodschapper tussenschakelen en dan toch komen tot een celspecifiek antwoord?

Hoewel wij moeten veronderstellen, dat in deze verschillende doelwitcellen cAMP op eenzelfde wijze wordt gegenereerd (het betreffende hormoon activeert het enzym adenylcyclase; adenylcyclase katalyseert de vorming van cAMP uit ATP), hoeft dit nog niet te betekenen dat de hormoonreceptoren van verschillende celtypen identiek zijn. Er kan zeer wel een sleutel-slot-relatie bestaan tussen hormoon en receptor.

Wat betreft het tweede probleem, gaat weer het begrip 'functionele bovenbouw' spelen: de verschillende soorten doelwitcellen verschillen juist op het stuk van die functionele bovenbouw. Daardoor reageren ze dan ook totaal verschillend op een stijgende intracellulaire concentra-

tie van cAMP in hun cytoplasma (dit wordt uitvoerig behandeld in het hoofdstuk van Konijn).

Ook met betrekking tot de signaalstoffen die de celmembraan wel passeren om vervolgens in het celinterieur aan te grijpen, bestaan uiteraard fundamentele problemen. Men kan bijvoorbeeld denken aan de geslachtshormonen die op de celkern zouden aangrijpen. Aangaande het aangrijpingspunt van oestrogene hormonen op subcellulair niveau werd o.a. door De Voogd van der Straaten (1971) in kritische zin nader ingegaan. Een behandeling van het totale probleemveld is o.a. gegeven door Clegg (1969).

Bij de overweging of een hormoon op processen in de kern aangrijpt, wijzen de volgende punten in een bepaalde richting, maar missen bewijskracht: (1) een snel optredende, sterke lokalisatie van toegediend, gelabeld hormoon in de kern. (2) Een snel optredende toename van de ribonucleïnezuursynthese in de kern. (3) Toename van specifieke boodschapper-nucleinezuren in het cytoplasma. (4) Het verschijnen van nieuwe soorten eiwit in het cytoplasma. (5) Achterwege blijven van het hormoneffect bij aanwezigheid van stoffen, die indirect de eiwitsynthese remmen, bijvoorbeeld actinomycine D. Van actinomycine D is bekend, dat het de RNA-synthese, dat wil zeggen de transcriptie, remt. Helaas echter behoeft het aangrijpingspunt van het hormoon niet samen te vallen met de plaats van hoogste concentratie. Voorts kan de toepassing van remmende stoffen de cellulaire organisatie eenvoudig totaal ontwrichten. Zo blijft een bewijsvoering vaak een moeilijke zaak, waaruit men zich het beste redden kan door het begrip aangrijpingspunt ruimer te stellen, te weten: dat gedeelte van de cellulaire organisatie waar, in de loop van de tijd, de eerste karakteristieke veranderingen merkbaar worden.

Informatieverwerking

De voorgaande beschouwingen hebben ons eigenlijk al ongemerkt gebracht tot het facet van de informatieverwerking en de programmering, respectievelijk differentiatie van de cel. Men kan een hormoonwerking opvatten als een stuk informatieverwerking: specifiek signaal → ontvangst door een specifieke organisatie → specifiek antwoord. Hierbij wordt zagezegd het signaal 'gedecodeerd' door de ontvanger en omgezet in een passende reactie. De verleiding bestaat nu om twee soorten informatieverwerking scherp te scheiden: genetische en niet-genetische.

De eerste twijfel aan de scherpte van deze tweedeling komt al op bij de overweging, dat sommige hormonen waarschijnlijk direct op het genoom aangrijpen (zoals reeds werd behandeld). Belangrijker is echter een overweging die ons tot in het hart van de moleculaire genetica brengt: de genetische informatie, neergelegd in het DNA, slaat op de assemblage van bepaalde aminozuren tot bepaalde eiwitten, al of niet van enzymkarakter, via boodschapper-ribonucleïnezuren. Het gaat hier om het bekende bifasische proces: transcriptie $\rightarrow$ translatie. Voorbijgaand aan de details van dit proces (zie Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966) is voor het verdere betoog slechts het volgende van belang: de genetische code slaat principieel op de cellulaire eiwitten; deze zijn het die (hoewel hiërarchisch onder de nucleïnezuren geplaatst) de gang van de lopende zaken bepalen. Dit wil niet zeggen, dat aan het cellulaire bedrijf geen stoffen van andere geaardheid te pas komen, maar het wil onderstrepen, dat een bepaalde cel is, wat haar eiwitten haar 'toestaan' te doen, dank zij haar enzymeiwitten en haar structuureiwitten.

Tegen deze achtergrond verliest de tweedeling genetische en niet-genetische informatieverwerking veel aan scherpte, immers elke vorm van niet-genetische informatieverwerking vóóronderstelt een organisatie, die opgezet is conform bepaalde 'directieven', vervat in het genoom. Hoogstens blijft in het woordgebruik een zekere praktische betekenis over: niet-genetische informatieverwerking betekent dan, dat het genoom er niet op directe wijze aan te pas komt. Indirect komt het er altijd aan te pas.

Het meercellige organisme, ontwikkeld uit een zygote, bevat cellen van een uiteenlopende functionele bovenbouw. De diversificatie (differentiatie) die hieraan ten grondslag ligt, heeft stellig direct met het genoom te maken. De vraag echter is: hoe?

Van oudsher heeft het delingsmechanisme, vooral de zorgvuldige distributie van chromatiden over dochtercellen, waarschijnlijk gemaakt, dat bij elke mitose de informatie die in de kern ligt opgeslagen compleet wordt doorgegeven aan de volgende celgeneratie. Experimentele kerntransplantatie, d.w.z. het transplanteren van kernen afkomstig uit reeds gedifferentieerde cellen in ontkernde eicellen (padden en kikkers), geeft sterke steun aan deze opvatting. In een aantal gevallen blijkt de geïmplanteerde kern in staat te zijn om de ontwikkeling tot een compleet organisme te dirigeren; zelfs indien deze kern afkomstig is van een zenuwcel, een cel die normaliter niet meer deelt ('post-mitoti-

sche' cel).

Laten wij ons verder beperken tot de informatie in de kern. Naar het model van de denkbeelden van Jacob en Monod met betrekking tot de repressie- en inductieverschijnselen bij prokaryoten (zoals *Escherichia coli*) zou men althans in eerste instantie bij de differentiatie van eukaryoten in een analoge richting kunnen denken. De nazaten van de zygote hebben welliswaar alle een identiek genoom, maar zij maken een verschillend 'gebruik' van dit genoom. Indien differentiatie berust op een verschillend gebruik van het genoom zou men zuiver formeel kunnen onderscheiden:

- genen, die in alle cellen actief zijn ('onderbouw'),
- genen, die in sommige cellen actief zijn, afhankelijk van het celtype ('bovenbouw'),
- genen, die in geen enkele cel actief zijn ('silent genes'); zij komen nergens aan het werk.

Recente onderzoeken hebben nu aan het licht gebracht, dat bepaalde genen in veelvoud voorkomen; er is dus sprake van genetische redundantie, d.w.z. herhaling. Maar wat is hun functie? Het zou het eenvoudigste zijn, om bij de redundante genen te denken aan de 'klaarblijkelijke' noodzaak om, indien nodig, acuut grote hoeveelheden boodschapper-ribonucleïnezuur (mRNA) te kunnen afleveren. De betekenis kan echter ook een andere zijn! Hierop gaan wij thans nader in.

Zoals uit het tweede hoofdstuk zal blijken, doen wij er goed aan prokaryoten en eukaryoten niet te vlot onder één noemer te brengen. Dit geldt reeds voor de leeftrant: de prokaryoot is primair ingesteld op vermenigvuldiging. De genetische regulaties zijn hierop gericht; onder wisselende milieu-omstandigheden moet de vermenigvuldiging doorgang kunnen vinden. Dit geldt slechts ten dele voor de eukaryotische cel; althans voor zover deze deel uitmaakt van een meercellig organisme (met een stabiel intern milieu) speelt nu stabilisatie van de differentiatie-toestand een minstens even belangrijke rol (Ursprung, 1968).

Voorts zijn de chromosomen (het stuk genoom dat resideert in de kern) aanzienlijk gecompliceerder dan de enkelvoudige naakte DNA-draad van de prokaryoot en in de mitochondriën en chloroplasten. Zij zijn niet alleen gecompliceerder van bouw, maar hierdoor ook rijker aan functionele mogelijkheden. Te denken valt bijvoorbeeld aan het vermogen tot gedeeltelijke of zelfs algehele heterochromatisatie, d.w.z. inrolling en verdichting tot een sterk gecondenseerd lichaam. Wat wij bijvoorbeeld in de metafase zien, zijn gecondenseerde chromosomen,

die op dat moment dan ook praktisch inactief zijn als bron van genetische informatie. In de kernen van vrouwelijke zoogdieren is voorts één der X-chromosomen geheel heterochromatisch; van cel tot cel kan dit het ene ofwel het andere X-chromosoom zijn. Wat wij tenslotte met de lichtmicroscopie zien in een interfase-kern zijn voornamelijk geheterochromatiseerde gedeelten van chromosomen. De uitgespreide (euchromatische) stukken blijven onzichtbaar (meer hier over in het hoofdstuk van James).

De reversibele wisselingen in condensatiegraad zouden beschouwd kunnen worden als een stuk cytogenetische 'grofregeling'. Reeds tegen deze achtergrond rijst serieuze twijfel aan de onverkorte toepasbaarheid van de regulatie-schema's van Jacob en Monod. Die twijfel neemt nog toe, wanneer wij bedenken, dat de diploïde eukaryoot een menigte genen bevat, die verdeeld zijn over vele chromosomen. In deze situatie betekent regulatie het synchroon 'aanzetten' respectievelijk 'uitschakelen' van een aantal verspreide genen. Zo kwamen bijvoorbeeld Britten en Davidson in 1969 (zie Wolfe, 1972) tot een concept waarin een zogenaamd 'sensor-gen' door een signaal kan worden bespeeld. Dit sensor-gen zou dan weer aanzettend of remmend werken op een zogenaamd 'integrator-gen'. Volgens Britten en Davidson zouden nu vooral de integrator-genen thuishoren in de klasse van redundante genen. Tenslotte zouden de integrator-genen door middel van ribonucleïnezuur als activator in kunnen werken op 'receptor-genen'. Vanaf dit punt gaat hun concept sterk lijken op het beeld van Jacob-Monod.

Uiteraard gaat het niet om naamgeving, voorlopig zelfs niet om de opbouw en de geloofwaardigheid van deze voorstelling. Bovenal is aan de orde het inzicht, dat de genetische informatieverwerking bij de eukaryoot qua complexiteit van een andere orde is dan de informatieverwerking bij de prokaryoot. Qua 'bediening' dringt zich de vergelijking op tussen een Boeing en een Fokker Spin. Beide kunnen vliegen, maar let op het dashboard en op de functionele mogelijkheden.

Samenvattend kan men in de cytogenetische sfeer de volgende probleemvelden aanwijzen:

- de implicaties van het bezit van meerdere chromosomen in paren homologen,
- betekenis en consequenties van haploïdie, diploïdie en polyploïdie,
- de chromosomale functionele morfologie,
- de implicaties van de verdeling van het genofoor over meerdere cellulaire organellen zoals kern, mitochondriën en chloroplasten,

- nucleocytoplasmatische relaties.

Het laatste punt vraagt om enkele afzonderlijke opmerkingen. Met name brengt dit punt ons terug naar wat in een eerdere paragraaf werd opgemerkt aangaande het verband tussen fusietechniek en de verwerving van fundamentele cytogenetische kennis: somatische hybridisatie. Daarbij leggen wij het accent op de genetische informatie in de celkern, onder volledige veronachtzaming van de informatie, neergelegd in de mitochondriën en eventueel de chloroplasten.

Al of niet conform de voorstellingen van Britten en Davidson te spreken van het 'aanzetten' respectievelijk 'uitschakelen' van genen is één zaak. Het is echter een andere zaak om zinvolle dingen te zeggen over de signaalwisseling tussen cytoplasma en kern. Ons beperkend tot de eerste experimenten van Harris (1970) blijkt, dat de genetisch inactieve kernen van vogelerythrocyten (kip) kunnen 'ontwaken' na fusie van de erythrocyt met bijvoorbeeld een HeLa-cel. De erythrocytenkern verliest haar gecondenseerde uiterlijk, o.a. door wateropname. Na enige tijd blijkt ze toegevoegd 'gelabeld' uridine te kunnen incorporeren ten bewijze van een op gang komende synthese van ribonucleïnezuur. Nog later worden kippe-antigenen aangetroffen aan het oppervlak van het fusieproduct; de kern heeft dus de biosynthese van bepaalde specifieke kippe-eiwitten gedirigeerd. Dit gebeuren kan gezien worden als een extreem voorbeeld van genetische regulatie: een geheel inactief genoom wordt (althans ten dele) gereactiveerd door een cytoplasmatisch signaal, waarvan aard en werkwijze overigens nauwelijks bekend zijn. Voor zover dit soort experimenten rijp zijn voor generalisaties, blijkt hier dat de kern wél alle benodigde informatie bevat, maar daarom nog niet baas in eigen cytoplasma is. Men kan dit ook zo omschrijven: de kern bepaalt wat kan, het cytoplasma echter bepaalt wat gebeurt, binnen de grenzen van de in het genoom vervatte mogelijkheden.

De cel als energietransformator

Schijnbaar vergeten resteert ons het facet: de cel als 'energietransformator'. Allereerst zij met nadruk vastgesteld dat de meeste cellulaire processen gepaard gaan met een energietransformatie of zelfs als zodanig als een energietransformatie moeten worden gezien. Wij nemen tot voorbeeld de contractie van de skeletspiervezel, waarbij ter hoogte van de A-schijven, actinedraden tussen de myosinedraden worden in-

geschoven. Hierdoor versmallen de H-zones en de I-schijven. De opheldering van dit gebeuren is nog steeds een historisch hoogtepunt van ultrastructureel onderzoek. Het contractieproces kan men energetisch omschrijven als een transformatie van chemische (ATP) in mechanische energie. Aangezien het rendement van deze transformatie aanzienlijk beneden de 100% ligt, komt ook warmte vrij. Bij het rillen bij afkoeling is deze transformatie zelfs van primaire betekenis.

De prikkeloverdracht door middel van een signaalstof aan de motorische eindplaat induceert een depolarisatie van het sarcolemma, die tenslotte doorgrijpt tot in de membraan van het zogenaamde longitudinale sarcoplasmatische (endoplasmatische) reticulum. Hierdoor komen acuut Ca-ionen vrij in het sarcoplasma tussen de actiné- en myosinedraden. Deze instroming is een noodzakelijke voorwaarde tot het contractiegebeuren. Bij de verslapping zullen deze Ca-ionen weer in hun compartiment teruggepompt moeten worden, met andere woorden, ook hier is weer sprake van een energietransformatie.

Wanneer we de spiervezel opvatten als een energietransformator bij uitstek is het goed nogmaals te bedenken, dat een bepaalde cel is, wat haar eiwitten haar toestaan te doen. In dit geval gaat het om actine, myosine, myoglobine, de specifieke membraaneiwitten, de componenten van de calciumpomp en niet te vergeten alle enzymen die betrokken zijn bij de ATP-generatie, die hier zo centraal staat.

Kaartlezen

Het voorafgaande betoog pretendeerde niet méér te zijn, dan een hulpmiddel ter algemene orientatie; de kaart wordt dan overbodig zodra de gezochte doelen in concreto zijn gevonden. Daarnaast kan men echter ook aan anderen doelen aanwijzen, die men zelf zeer wel kent. Kaartlezen in deze tweede betekenis is uiteraard van speciaal belang voor docenten. Het gaat hier om een complex van vragen: waarom, wanneer, vanuit welk vertrekpunt, hoe en hoe diepgaand kan en moet celbiologie gedoceerd worden. Het is stellig een gelukkige greep van de organisatoren van dit symposium geweest om deze problematiek in handen van een afzonderlijke spreker (Van den Broek) te leggen.

Prokaryoten en eukaryoten, structuur en organisatie

J. JAMES

Historische inleiding

Ontdekking van de cel

De visie, die men thans heeft op het begrip cel heeft een lange voor- geschiedenis; het is uiteraard niet mogelijk om in deze publikatie over nieuwe ontwikkelingen in de celbiologie deze gehele ontwikkelings- gang, uitstekend samengevat door Hughes (1959), te vervolgen. Enkele ruwe hoofdlijnen zijn in zoverre van belang dat juist hierdoor het mo- derne celbegrip iets meer reliëf krijgt tegen de achtergrond van inmid- dels verouderde opvattingen.

Het lijkt geen twijfel, dat het woord cel teruggaat naar een zeer be- paalde ontdekking van de 'curator of experiments' van de Royal Society te Londen, Robert Hooke. De 'cellulae' (een term, mogelijk geïnspireerd door de rijen cellen in kloostergangen) die hij beschreef in zijn boek 'Micrographia' uit 1665 had hij waargenomen in verschillen- de vormen van plantaardige weefsels, zoals stengels en kurk, waarvan hij dunne plakjes had onderzocht. Wat hij met zijn betrekkelijk primi- tief, maar wel samengesteld (dus uit objectief en oculair opgebouwde) microscoop waarnam, was naar de huidige opvatting niet meer dan het skelet van de tussen de plantecellen gelegen regelmatig geordende cellu- lose-wanden. Onze landgenoot Van Leeuwenhoek had in dezelfde periode eigenlijk al veel geavanceerdere ontdekkingen gedaan over dierlijke cellen, hun vorm, beweging, enz., waarbij hij (zoals bij de rode bloedcellen van de zalm) ook zelfs een kern had waargenomen. Hij noemde zijn 'diertjens' en 'globulen' echter geen cellen, en het 'vlekje' in de bloedcel van de zalm geen kern; dat hij een rechtstreeks verband met de bevindingen van Hooke zou hebben gezien, blijkt niet uit enig dokument. Veel van zijn waarnemingen bleven tot ver in de 19e eeuw als geïsoleerde curiosa geboekstaafd, zonder dat de 'officiële' weten-

schap (immers Van Leeuwenhoek was een geheel op zichzelf werkende autodidact) deze vermocht in te passen in de verspreide gegevens die over de bouw van levende organismen bekend waren. Zijn ontdekkingen van groene wieren in de Berkelse plassen en bacteriën in putwater en de mondholte zijn eigenlijk pas in deze eeuw logisch ingevoegd in het geheel van de wereld van de cellen; het ware zeker niet overdreven – los van nationaal chauvinisme – om Van Leeuwenhoek alsnog uit te roepen tot de ontdekker van de cel in zijn twee voornaamste verschijningsvormen (prokaryoten en eukaryoten). Hooke, die vele van de brieven van Van Leeuwenhoek aan de Royal Society kende en hem zeer bewonderde, zou de laatste geweest zijn om hiertegen bezwaren aan te tekenen, daar hij zich vooral zag als experimentator met mechanische apparaten en de microscopie maar een van zijn vele bezigheden was.

Het vinden van het gemeenschappelijke moment in Hooke's en Van Leeuwenhoek's ontdekkingen, en de geleidelijke groei van het besef van de alomtegenwoordigheid van de cellulaire organisatie in de levende natuur zijn inmiddels processen geweest die meer dan 150 jaar hebben geduurd. Een eerste ruwe kristallisatie van deze denkbeelden ontstond rond de periode 1830–1840. De in die periode als 'celleer' of 'celtheorie' gegroeide opvattingen worden doorgaans, slechts ten dele terecht (vergelijk Hughes, 1959), gekoppeld aan de namen van de botanicus Schleiden en de zoöloog-fysioloog Theodor Schwann. In het bijzonder het werk van de laatste auteur, culminerend in een in 1839 verschenen boek over gemeenschappelijke elementen in de bouw van dieren en planten maakte veel indruk, vooral daar het hier ging om op experimenteel werk gegronde opvattingen, hetgeen in die tijd geenszins vanzelf sprak.

Van een enigermate scherpe omgrenzing van het celbegrip kon in die periode nog geen sprake zijn en de vreemdste opvattingen deden opgang – ook bij Schwann – omtrent de vorming van cellen. Zo zou in een 'cytoblasteem' (een soort celvrije grondsubstantie die door elke microscopist in die tijd vlot als zodanig kon worden herkend) door een proces dat exogenie werd genoemd, eerst een kern ontstaan, die dan weer een cytoplasma om zich heen zou vormen. Hiernaast zou door een evenzeer bizar proces dat endogenie werd genoemd, een cel in een andere cel kunnen ontstaan, uitgroeien en vervolgens vrijkomen. Men moet zich bij deze curieuze theorieën wel realiseren dat in diezelfde periode Pasteur nog felle strijd had te voeren – ondanks onomstotelijk feiten-

materiaal – tegen de aanhangers van de spontane generatie, een voorstelling die enige verwantschap vertoont met de gedachtenwereld van vrije celvorming door exogenie. Het is vooral Rudolf Virchow geweest die – overigens pas in een latere periode van zijn leven, hij geloofde eerst heilig in vrije celvorming – de consequentie heeft aanvaard van de inzichten die in de tweede helft van de 19e eeuw begonnen te groeien, o.a. over cellulaire aspecten van de embryonale ontwikkeling. Zijn kernachtig motto 'omnis cellula e cellula' in 1855 voor het eerst geuit in een artikel over cellulaire pathologie in het door hem opgerichte 'Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie', gaf duidelijk de richting aan voor een vruchtbare verdere ontwikkeling van de denkbeelden over de vorming van cellen. Ook al had Virchow – vooral door zijn grote wetenschappelijke gezag dat toen van meer betekenis was dan controleerbaar feitenmateriaal – een nieuwe ontwikkeling weten te forceren, een grote kloof scheidt de inzichten uit de tweede helft van de vorige eeuw van het moderne celbegrip. Verschillende onderzoekers uit die periode verdiepten zich steeds meer in cellen, doch verloren daarbij het organisme als een door cellen georganiseerd geheel uit het oog. Haeckel vergeleek in de jaren 1870–1880 het meercellige organisme met een maatschappij waarin de burgers hun taken onderling hadden verdeeld – hier en daar duiken in dit verband analogieën van de denkbeelden van Karl Marx op – terwijl andere auteurs uit die periode zelfs zo ver gingen dat zij Darwin's 'survival of the fittest' – een andere nieuwigheid – ook van toepassing verklaarden voor de cellen in een organisme. De voorstelling van een dergelijke extreme individualiteit van de cellen bleek echter niet met de feiten in overeenstemming en bracht onderzoekers als de protozoöloog Dobell er in het begin van deze eeuw zelfs toe, de celtheorie in zijn geheel af te wijzen. Het is typerend dat deze kritiek kwam van de kant van een onderzoeker die zich juist met de eencelligen bezighield; immers, door een meercellig en een eencellig organisme te vergelijken, blijkt de onhoudbaarheid van het beschouwen van een meercellig organisme als een complex van afzonderlijke eencellige organismen. Deze laatste uiterste consequentie van de klassieke celleer, zoals o.a. door Weissmann rond de eeuwwisseling wel is aangehangen, werd een keerpunt, waarbij het organisme geleidelijk meer centraal kwam te staan. Van de cel als 'bouwsteen van het organisme' – de standaard-uitdrukking van een vorige generatie – werd de cel tot een eenheid van organisatie, een eenheid van stabiliteit, doch daarmee niet de eenheid van leven. Een omschrijving van

het celbegrip kan derhalve een beschrijvend karakter dragen en behoeft zich niet in een definitie van het leven te verliezen, waaraan zoveel celtheorieën zijn ondergegaan.

Celbegrip

De oudste definitie van een cel, gegeven door de botanicus Schultze in 1861, luidt: 'Eine Zelle ist ein Klumpchen Protoplasma in dessen Innern ein Kern liegt'. Aan deze basisdefinitie en alle hiervan in de honderd jaren er na gemaakte geperfectioneerde versies, kleeft echter het bezwaar dat begrippen als 'protoplasma' of 'kern' op hun beurt ook weer gedefinieerd zouden moeten worden. Daarbij is het begrip kern, ook als men dit meer algemeen tracht te beschrijven als kernmaterie, om redenen die verderop nog ter sprake zullen komen, niet eenvoudig in algemene zin te omschrijven, terwijl als men het kernbegrip meer moleculair-biologisch tracht te benaderen en de nucleïnezuuren in het geding brengt, de moeilijkheden bij de definiëring van de cel eerder toenamen.

Er is veel voor te zeggen om de benadering van het celbegrip van Paul (1965) te volgen, waarbij de cel meer vanuit functioneel oogpunt wordt gedefinieerd. Men zou in deze zin een cel dan kunnen omschrijven als 'de kleinste organisatie-eenheid van enig levend organisme die in staat is tot meer langdurig onafhankelijk bestaan en vervanging van zijn eigen substantie, mits in een geschikte omgeving'. Er is bij alle cellen een membraan aanwezig; deze in de definitie opnemen heeft geen zin, daar de aanwezigheid van een membraan een structuur niet tot cel maakt, indien deze niet reeds beantwoordde aan de zojuist genoemde functionele criteria. Daarbij zijn er in de nieuwere tijd waarnemingen gepubliceerd die er op wijzen dat bepaalde, niet onder deze definitie vallende structuren (bacteriofagen) door membraan-achtige vormsels kunnen worden omgeven.

Het is al geruime tijd bekend dat er onmiskenbare cellen zijn (rode bloedcellen bij zoogdieren, lensvezels bij vele vertebraten, zeefcellen bij planten) die geen kern, volgens welke omschrijving dan ook, bezitten; het is evenzeer al lang bekend dat al deze cellen een dergelijke structuur in een vroegere fase van hun ontwikkeling hebben bezeten. Het is met de opkomst van de moleculaire biologie, moleculaire cytologie of hoe men deze nieuwe onderzoeksrichtingen ook wil aanduiden, duidelijk geworden dat deze cellen na verlies van hun kern het vermogen om ei-

witsynthese in hun cytoplasma in gang te zetten, zijn kwijtgeraakt. Anderzijds is komen vast te staan dat de tot circa 1950 als kernloos te boek staande bacteria en andere kleine elementen die volgens de in het voorafgaande gegeven definitie duidelijk als cellen zijn aan te merken, dit belangrijke vermogen tot zelfstandige synthese van eiwitten (en daarmee van enzymen) wel bezitten. De verschillen en overeenkomsten, die aan deze feiten ten grondslag liggen, zullen in de volgende paragraaf nader worden gezien.

Virus en cel

Een geheel aparte situatie doet zich voor ten aanzien van het virus, een element dat pas bij de opkomst van de elektronenmicroscopie als waarneembaar object is ontstegen aan zijn welhaast middeleeuwse benaming (virus betekent smetstof). Een virusdeeltje of *virion* kan – al naar gelang het type – een zeer verschillende vorm hebben: hexagonaal, langgerekt, rond of meer hoekig. Ook de grote virusdeeltjes (zoals die van het pokken-virus of van bepaalde bacteriofagen met een doorsnede van een fractie van een μm) komen nooit in het domein van het licht-microscop. Essentieel bevat een virus steeds één van beide nucleïne-zuren, DNA of RNA, nooit beide, terwijl een eiwitmantel met een min of meer gecompliceerde structuur het geheel omringt. De grootste virusdeeltjes evenaren de kleinste cellen (bijvoorbeeld bepaalde mycoplasmata) in grootte; er behoeft zelfs geen wezenlijk verschil te zijn in de hoeveelheden DNA waarin de erfelijke eigenschappen zijn gecodeerd bij grote virussen en de kleinste cellen. De reden waarom in de reeds eerder verworpen klassieke definitie van de cel het begrip 'kern' niet zonder meer kan worden vervangen door 'nucleïnezuur' of een andere omschrijving, is nu juist gelegen in het feit dat aan de hand van functionele criteria in dit tussengebied een scherp onderscheid kan worden gemaakt tussen cel – groot of klein – en viruspartikel. Het virion is namelijk niet in staat tot zelfstandig bestaan, daar het de enzymen niet zelf maken kan die noodzakelijk zijn voor eiwit- en nucleïnezuursynthese, alsmede de enzymen voor de productie van ATP of anderen energie-rijke verbindingen. In het midden latend of men een virus levend wil noemen (Kluyver sprak hier van "s levens nevels"), het virus is geen cel en als obligate parasiet is het voor zijn vermenigvuldiging aangewezen op een levende cel: na er in te zijn binnengedrongen, induceert het virus de cel tot het produceren van de voor de voortplanting

van het virus noodzakelijke enzymen, die door inschakeling van het eiwitsynthese-apparaat van de gastheer actief worden. In het hoofdstuk van De Man wordt op de interrelatie virus-gastheer in detail ingegaan. Het is echter thans voldoende duidelijk waarom het virus, dat geen cel is in de betekenis die hier wordt gebruikt, verder niet wordt besproken in dit hoofdstuk.

Prokaryoten en eukaryoten: eenheid en verscheidenheid

In figuur 1 en 2 zijn naast elkaar afgebeeld twee prototypen van cellen met een sterk verschillende orde van grootte, doch (naar-vooral ook uit de elektronenmicroscopische afbeeldingen blijkt) eveneens een geheel ander organisatiepatroon. Het gaat hier om twee representanten van de enige werkelijke fundamentele algemene indeling van cellen, die er valt te maken: *prokaryote* en *eukaryote* cellen. De classificatie en benaming stamt van de bacterioloog Stanier (1941). De verschillen, die bij deze afbeeldingen in het oog springen, kunnen worden aangevuld met een reeks van andere, niet direct aan dit ene voorbeeld af te lezen verschillen, die in tabel 1 iets verderop in deze paragraaf zullen worden samengevat.

De naam prokaryoot suggereert dat het hier zou gaan om een voorstadium, een primitieve vorm van de eukaryote cel met zijn complexe kern-apparaat. Er is in de laatste tijd echter van verschillende zijden gewezen op het feit dat men de term primitief hier met reserve moet hanteren; de prokaryoten zijn uiterst gespecialiseerde organismen, die tengevolge van hun kleine volume (en derhalve gunstige oppervlak-inhoud-relatie) een zeer snel verlopende stofwisseling kunnen hebben en zich via een enorme groeisnelheid aan allerlei omstandigheden kunnen aanpassen. Wellicht is de term primair hier beter op zijn plaats dan primitief. Anderzijds is in dit verband wel op te merken dat er argumenten van velerlei aard zijn die er voor pleiten dat in de evolutie de prokaryoten zijn voorafgegaan aan de eukaryoten. Merkwaardig is echter dat, waar in het algemeen allerlei aanwijzingen bestaan voor een evolutie via mutaties die slechts discrete eenheden van het genoom betreffen ('single-step mutations'), er weinig of geen tussentrappen zijn aan te wijzen tussen de prokaryoten enerzijds en de eukaryoten anderzijds (Margulis, 1970). Deze kloof loopt dóór het klassieke taxonomische systeem heen; zo zijn er prokaryotische blauwgroene algen en kernhoudende algen, waartussen geen overgangsstadia bestaan.

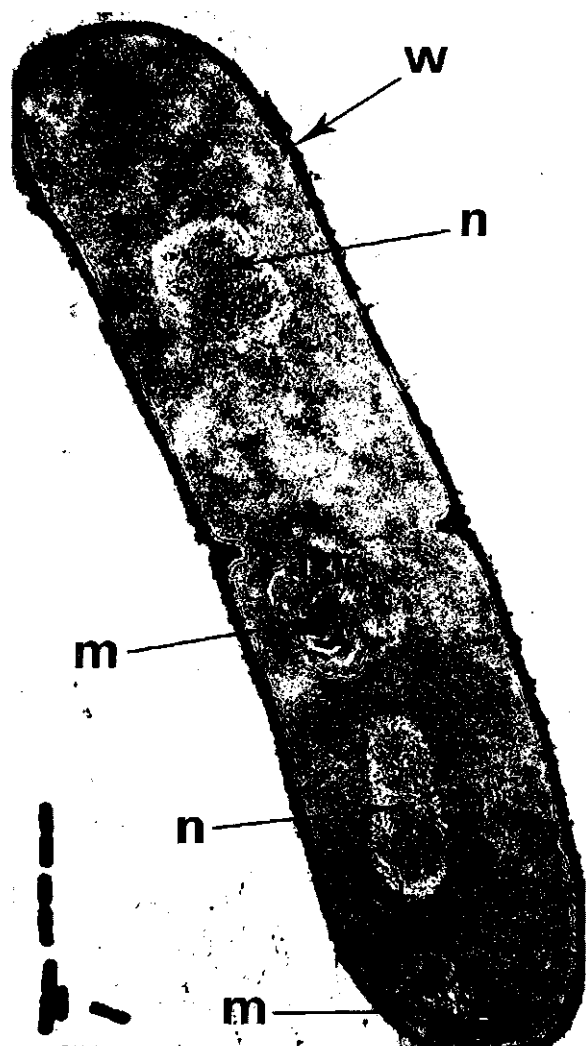


Fig. 1. Elektronenmicroscopische opname van een lengtedoorsnede van een exemplaar van *Bacillus subtilis* met nucleoid (*n*), mesosoom (*m*) en celwand (*w*). De bacterie toont de eerste tekenen van een doorsnoeringsproces, vergroting 35.000 $\times$. (Opname W. van Herson.) Links-onder: lichtmicroscopische opname van exemplaren van *Bacillus subtilis* uit een culture; Gram-preparaat. Vergroting 1600 $\times$.

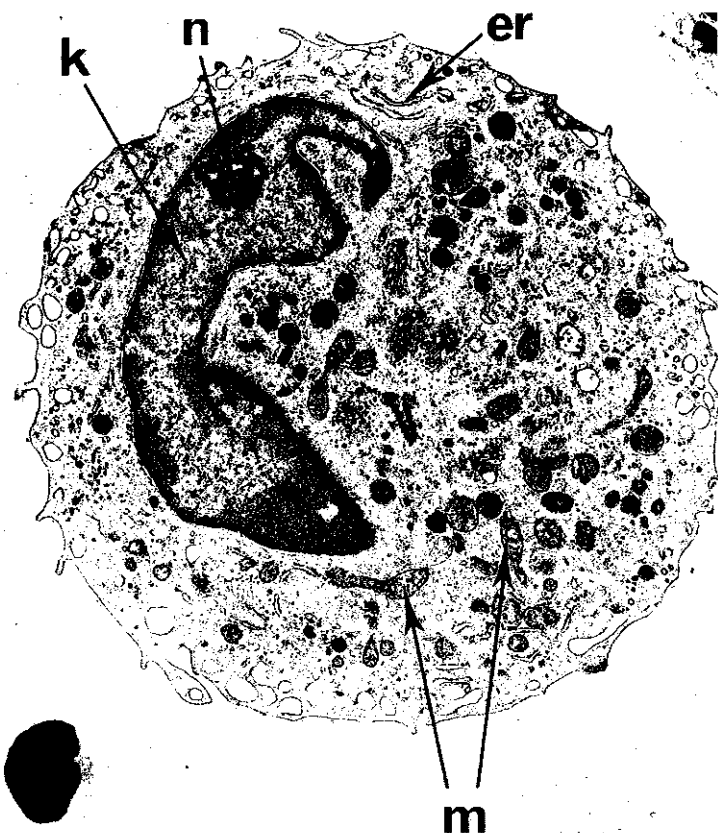


Fig. 2. Elektronenmicroscopische opname van een coupe van een buikholte-fagocyt bij de cavia met kern (k) (de pijl wijst in het euchromatine), mitochondria (m), granulair endoplasmatisch reticulum (er), en talrijke andere organellen in het cytoplasma, 8500 $\times$. Links-onder: lichtmicroscopische opname van een dergelijke cel. Vergroting 1600 $\times$.

N.B. Verhouding van de grootte van de bacterie (fig. 1) en de fagocyt (fig. 2) is alleen af te leiden uit de lichtmicroscopische opnamen links-onder, die bij gelijke vergroting zijn afgedrukt.

Tabel 1. Overzicht van de belangrijkste verschillen tussen prokaryoten en eukaryoten.

Prokaryoten

A Kleine, steeds als afzonderlijke eenheden bestaande cellen, welke na een deling onderling geen functionele relatie blijven onderhouden. Grootste doorsnede in de orde van 0,5–5 μm .

B Nucleoïd = genofoor, als draager van de erfelijke informatie; dit sterk gevouwen draadvormige element (waarbij het in coupes geheel onmogelijk is uit te maken of het om meerdere dooreengekronkelde filamenten gaat, of om één zeer lang element) bestaat uit 'naakt' DNA. Het gaat hier steeds om een dubbelstrengs DNA-molekuul dat, wanneer het vrijkomt bij lysis van de cel, vrijwel steeds uit een cirkelvormig molekuul blijkt te bestaan. Het nucleoïd wordt niet door een membraan van het overige gedeelte van de cel gescheiden.

C Continue synthese van DNA gedurende de celcyclus. Deling van het cellichaam door directe doorsnoering; er treden geen centriolen of microtubuli op bij het verdelen van het verdubbelde genetische materiaal over beide prospectieve dochtercellen.

Eukaryoten

Grotere cellen (orde van grootte 5–50 μm doorsnede) welke tot een groter meercellig organisme kunnen uitgroeien doordat de cellen van een zygote na de klieving blijven en functionele relaties onderhouden, dan wel na deling van de zygote van elkaar loslaten en zo als afzonderlijke eenheden blijven bestaan (bijzondere vorm van deze 'eencelligen': kolonie-vormende soorten).

Nucleus of kern, bestaande uit een aantal afzonderlijke eenheden als dragers van de erfelijke informatie, chromosomen, die naast DNA een groter aandeel eiwitten bevatten. Deze chromosomen worden gevormd door draadvormige filamenten, die geheel of gedeeltelijk in gestrekte (interfase), dan wel sterk getordeerde toestand (bij deling) kunnen verkeren. De kern wordt door een dubbele lipoproteïdmembraan van het cytoplasma afgesloten. In de kern verder als regel ontwikkeling van nucleoli, gespecialiseerde chromosoomgebieden, ter plaatse waarvan de synthese van essentiële bestanddelen van de ribosomen is geconcentreerd.

DNA-synthese gedurende een circumscribed deel van de celcyclus (S-fase); gecompliceerd delingsproces, mitose, waarbij zich tijdelijk uit speciale eeiwitten microtubuli vormen welke, al dan niet uitgaande van centriolen, de spoelfiguur vormen die een rol speelt bij het delingsproces. Deling van het cellichaam (= cytokinesis) door insnoering (meeste dierlijke cellen), dan wel schotvorming (meeste plantaardige cellen).

D Strikt anaerobe (gedood door zuurstof) vormen, naast facultatief anaerobe, microaerofiel-aerobe (geëringde behoefte aan O_2) en totaal aerobe vormen.

E Enorme variatie in de metabole patronen van de verschillende representanten van de groep; enzymen voor de oxydatie van organische molekulen vooral aan de celmembraan gebonden. Geen mitochondria, misschien ten dele als zodanig op te vatten derivaten van de oppervlakte-membraan (mesosomen).

F Eiwitsynthese vindt plaats op ribosomen die sedimenteren bij 70S en geïnactiveerd worden door de antibiotica chloramfenicol, streptomycine en tetracycline.

G Geringe ontwikkeling van intracytoplasmatische organellen met membraanstructuur; extracellulaire vertering en opname van kleinmoleculaire stoffen rechtstreeks uit de omgeving.

H Indien voorzien van flagellen, gaat het om zeer dunne (12–20 nm) eenheden, die 3–12 nm lang kunnen zijn, soms tot lichtmicroscopisch waarneembare bundels verenigd.

I Typische vertegenwoordigers
Alle eubacteria, blauwgroene algen en 'lagere' fungi (streptomyceten, mycobacteria); alle vormen van spirocheten, myxobacteria, mycoplasmata en de rickettsiae.

In alle vormen aerobe stofwisseling; waar anaeroob duidelijk secundaire modificaties van oorspronkelijk aerob patroon.

Meer uniforme stofwisselingspatronen, in het bijzonder bij de oxydatie van organische molekulen; enzymen bij deze processen betrokken voor een belangrijk gedeelte in mitochondria gelokaliseerd en wel voornamelijk in de membranen van deze organellen.

Eiwitsynthese op ribosomen die sedimenteren bij 80 S en ongevoelig zijn voor chloramfenicol, streptomycine en tetracycline.

Sterke compartimentalisatie (zie het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten) omvat al het volgende: uitgebreide ontwikkeling van kernmembraan, endoplasmatisch reticulum, Golgi-complex, enz.; voorts het verteringsapparaat, namelijk het systeem van de lysosomen, dat van buiten opgenomen macromoleculaire stoffen kan afbreken evenals delen van het eigen cytoplasma en organellen (zie het hoofdstuk van Daems).

Indien flagel(len) (zweepharen)-of kinocilia (trilharen) aanwezig; zijn dit vrij dikke (200–309 nm), complex gebouwde organellen met een geëordende substructuur, uit microtubuli bestaand ('9 + 2') met wisselende accessoire structuren.

Typische vertegenwoordigers
Alle metazoa (sponzen, coelenteraten, brachiopoden, anneliden, gastropoden, echinodermen, vissen, zoogdieren, enz.); alle 'hogere' algen (zeewier, diatomeën, dinoflagellaten, enz.), alle 'hogere' fungi (paddestoelen, gisten, enz.); alle groene planten, alle protozoa.

De verschillen tussen prokaryoten en eukaryoten zijn zo fundamenteel, dat alle cellen zonder dat daarover veel discussie behoeft te bestaan, bij één van beide categorieën kunnen worden ingedeeld. Deze situatie is derhalve een andere dan bijvoorbeeld bij de indeling in dieren en planten die (in het bijzonder voor wat de niet-cellig georganiseerde organismen betreft) nogal eens tot verschillen van mening heeft geleid, al is men hier althans op papier uitgekomen. Wat de bij dit laatste onderscheid zo belangrijke eigenschap van de fotosynthese betreft, deze speelt bij het onderscheid prokaryoten-eukaryoten geen rol, daar fotosynthese zowel bij prokaryoten als eukaryoten kan voorkomen. Bij prokaryoten die fotosynthetisch zijn, zijn de enzymen voor dit proces aan de celmembraan gebonden; bij fotosynthetische eukaryoten zijn deze enzymcomplexen 'verpakt' in door membraancomplexen opgebouwde en door een membraan omgeven gespecialiseerde organellen, plastiden.

Nucleoïd en kern

Gezien de beperkte ruimte moet een verdere bespreking van alle in tabel 1 genoemde systemen en mechanismen achterwege blijven. Afgezien van het feit dat een dergelijke bespreking, met de onmisbare moleculair-biologische en biochemische achtergronden, ver buiten het kader van dit hoofdstuk zou vallen, komen verschillende van deze principes nog elders in dit boek aan de orde. Hier zal thans alleen worden ingegaan op nieuwe ontwikkelingen op het gebied van de celbiologische aspecten van het sturende apparaat bij uitstek, de celkern en zijn tegenhanger bij de prokaryoten en hetgeen hiermee direkt samenhangt. De genetische aspecten worden in het hoofdstuk van Bootsma behandeld.

Prokaryoten

Een kenmerkend verschil tussen cellen – prokaryoten dan wel eukaryoten – enerzijds en de niet-cellige virussen anderzijds is, zoals reeds vermeld, dat virussen óf DNA óf RNA bevatten; cellen echter bevatten beide, waarbij het RNA door zogenaamde transcriptie uit het DNA is gevormd. De genetische informatie in het DNA of RNA van een virus kan, zoals reeds eerder vermeld, niet door het virus zelf tot expressie worden gebracht; dit is de oorzaak van zijn obligaat parasitisme.

Bij een bacterie – als typisch voorbeeld van een prokaryotisch organisme – is het genetische apparaat een langgerekte structuur, die als het sterk gevouwen *nucleoïd* in de cel ligt. Uit een coupe, zoals in figuur 1 is afgebeeld, valt over de ruimtelijke relatie van de doorengedraaide filamenteuze structuren die het nucleoïd opbouwen, weinig op te maken. Bij analyse na isolatie uit de bacteriële cel, waarbij het nucleoïd zich ontplooit, blijkt het hier te gaan om één langgerekt filament, dat uit dubbelstrengs DNA bestaat, met hier en daar kleine hoeveelheden eiwit. De lengte van dit filament, dat kan worden beschouwd als één langgerekt molecuul, is bij het veel onderzochte nucleoïd van *Escherichia coli* van de orde van $1000\ \mu\text{m}$ (1 mm), de dikte in de orde van enige duizenden van een μm ; hierbij moet worden bedacht dat het cellichaam van een exemplaar van *E. coli* circa 3 bij $0,8\ \mu\text{m}$ meet. Van deze elementen zijn er vaak, gezien de continue replicatie, twee of drie in een cel aanwezig, tot evenzovele nucleoïden samengebald (zie ook fig. 1). Enig rekenwerk leert dat dit zeer lange molecuul enige miljoenen paren van organische basen bevat, door de volgorde waarvan de code van de erfelijke eigenschappen wordt bepaald (vergelijk: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966). De genetische informatie die potentieel hierin besloten zou kunnen liggen is zo groot, dat algemeen wordt aangenomen dat alleen al hierom een grote mate van repetitieve informatie in dit genoom moet bestaan; de kans op het optreden van mutaties zou anders te groot zijn. Zelfs de groep van de kleinste prokaryoten, de pleuropneumonia-achtige organismen (meestal afgekort als PPLO), waarvan de kleinste soorten op de grens liggen van hetgeen met het lichtmicroscop kan worden waargenomen ($0,2\text{--}0,3\ \mu\text{m}$) en die hiermee in de grootte-orde van de grootste virussen zijn gelegen, hebben nog een DNA van 500.000 base-paren.

Bacteria, blauwgroene algen en PPLO-organismen zijn in staat eiwitten (en dus enzymen) te vormen, zoals die nodig zijn voor bijvoorbeeld de replicatie van het DNA, of voor de vorming van energie-rijke verbindingen. Het is in principe mogelijk al deze organismen te kweken op synthetische voedingsbodems, waarbij onder gunstige omstandigheden een zeer snelle groei kan optreden, in het geval van *E. coli* met een verdubbelingstijd van 15–30 minuten. Een uitstekend overzicht over de cyclus van celvermeerdering bij verschillende prokaryoten wordt gegeven door Mitchison (1971). De eiwitten worden gesynthetiseerd op ribosomen, die als regel vrij zijn gelegen in het cytoplasma; een PPLO-organisme bezit er enkele honderden, een bacterie tot tienduizenden.

Deze ribosomen, die wellicht iets kleiner zijn dan die welke bij de eukaryoten meestal worden gevonden, zijn met enige in wisselende mate voorkomende membraanprofielen (zoals met de functie voor de fotosynthese samenhangend), alsmede zogenaamde mesosomen (complexe vormsels die door instulping van de plasmamembraan ontstaan en mogelijk onder meer van betekenis zijn als een concentratieplaats voor enzymen van de ademhalingsketen, zie fig. 1), representanten van de zogenaamde organellen met gespecialiseerde functie, zoals deze bij alle eukaryoten in grote aantallen en gevarieerdheid in het cytoplasma voorkomen. Naast mesosomen kunnen in het cytoplasma van prokaryoten soms ook nog door membranen begrensde blaasjes of meer complexe membraan-configuraties voorkomen die bijvoorbeeld met stikstofbinding of fotosynthese in verband zijn te brengen; de situatie blijft echter een andere dan bij de eukaryoten, waar de aanwezigheid van de als afzonderlijke compartimenten te beschouwen karakteristiek gebouwde organeltypen het celbeeld zozeer domineert. Lysosomen of enig ander apparaat voor intracellulaire vertering ontbreken geheel bij de prokaryoten; opnameprocessen als fagocytose en pinocytose komen niet voor. In de gehele fysiologie van de prokaryote cel speelt de plasmamembraan – vaak omgeven door een voor een belangrijk gedeelte uit polysacchariden opgebouwde celwand in enigerlei vorm – een voorname rol, ook bij de deling en zelfs bij de replicatie van het DNA-molekuul. Het is mogelijk dat bij het laatstgenoemde proces het filament van het nucleïd zich beweegt langs een aan de celmembraan, of het hiervan afgeleide mesosoom, gebonden enzymcomplex dat voor de replicatie noodzakelijk is. Hoewel het mechanisme van de deling bij prokaryoten in het algemeen, zelfs bij de in zoveel andere opzichten goed bekende bacteria, nog allerm minst opgehelderd is, kan in het algemeen worden gesteld dat na replicatie het nucleïd zich deelt, gevolgd door een insnoering van het cellichaam die lijkt uit te gaan van de celmembraan (fig. 1). Ribosomen en andere celbestanddelen worden zo min of meer passief over de dochtercellen verspreid.

Eukaryoten

Het opvallende van het delingsmechanisme par excellence bij eukaryoten, de *mitose*, is de grote complexiteit van dit proces, waarover Mazia (1961) eens treffend heeft opgemerkt, dat een beschrijving meer weg had van het libretto van een Italiaanse opera dan van een bladzijde uit

Euclides. Het lijkt thans wel zeker, dat deze complexiteit samenhangt met het feit dat hier een uiterst precieze splitsing en verdeling moet plaatsvinden van een tevoren verdubbeld genoom, dat niet alleen een omvang heeft van een andere orde van grootte dan bij prokaryoten wordt gevonden (voorbeeld: DNA-hoeveelheid in *E. coli* 2×10^9 Dalton-eenheden van massa, tegen bijvoorbeeld 5×10^{12} bij zoogdieren), doch dat bovendien over een groot aantal afzonderlijke elementen is verspreid. Deze elementen, de chromosomen zoals deze tijdens de deling kunnen worden waargenomen, zijn al zeer lang bekend (zij werden als zodanig ten doop gehouden door Waldeyer in 1888); hierover zijn in de laatste 10 jaar echter aanzienlijk meer gegevens bekend geworden dan in de voorafgaande 75 jaar.

Evenals dit bij prokaryoten het geval is, bestaat het eukaryote chromosoom uit een langgerekt filament of *elementaire fibril* dat echter in dit geval een doorsnede heeft van 15–20 nm en een lengte tot meer dan 500 nm (afhankelijk van de grootte van het individuele chromosoom). De doorsnede is dus veel groter dan de enkele nm van het draadvormige genofoor bij prokaryoten. Deze dikte-verschillen zijn in het verleden wel verklaard door aan te nemen dat bij eukaryoten meerdere dubbelstrengs DNA-molekulen naast elkaar zouden verlopen in de elementaire fibril tegen maar één bij de prokaryoten, waar inderdaad de dikte van de genofoor-fibril en die van het DNA-molekuul in eenzelfde orde van grootte liggen. In de laatste tijd zijn er echter steeds sterkere aanwijzingen dat elke chromosoomfibril bij de eukaryoten slechts één zeer lang DNA-dubbelmolekuul bevat, in een superspiraal gelegen met een doorsnede van omstreeks 10 nm en een afstand tussen de windingen van 12 nm (fig. 3). Aanwijzingen voor een dergelijke ligging van het DNA in de elementaire fibril zijn verzameld met behulp van de röntgendiffractie, dezelfde techniek als door Watson en Crick 20 jaar geleden succesvol werd toegepast om de wenteltrapstructuur van het dubbelstrengs-DNA te ontrafelen (zie Watson, 1968). Voor het bestaan van slechts één zeer lang DNA-molekuul per elementaire fibril en derhalve per chromosoom pleiten allerlei indirecte argumenten, die hier niet verder kunnen worden besproken (zie Callan, 1972 en Comings, 1972).

De elementaire fibril wordt verder voor een belangrijk gedeelte (omstreeks 60–75%) samengesteld uit eiwitten waarmee het DNA tot een complex is verbonden en bevat voorts een wisselende hoeveelheid RNA. De eiwitten kunnen worden onderscheiden in basische eiwitten,

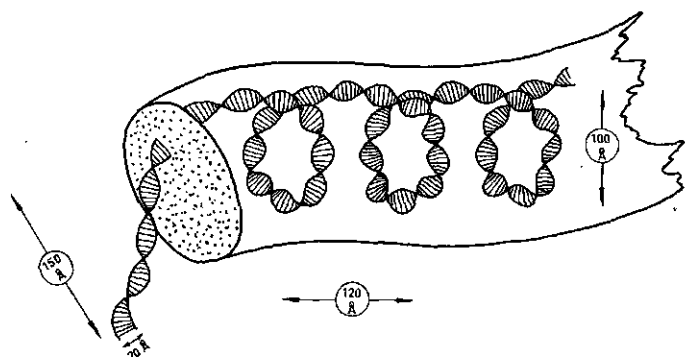


Fig. 3. Sterk vereenvoudigd schema van de waarschijnlijke positie van het dubbelstrengs DNA-molekuul (de dubbele helix) in de chromosoomfibril van het eukaryotische chromosoom.

die vrijwel steeds tot de groep van de *histonen* behoren en die in ongeveer gelijke hoeveelheden als het DNA voorkomen, en een tweede groep minder scherp te karakteriseren eiwitten met zure eigenschappen, doorgaans als *nonhiston-eiwitten* aangeduid, die in meer wisselende hoeveelheden (doch zelden in een even grote kwantiteit als de histonen) kunnen voorkomen. Beide eiwitten spelen vrij zeker enigerlei rol bij de regulatie van de activiteit van de genen, waarbij de histonen, die niet gen-specifiek of weefsel-specifiek zijn, mogelijk een betekenis hebben bij het onderhouden van de spiraaltoestand van het DNA. De nonhiston-eiwitten tonen een zeer grote polymorfie; zij zijn mogelijk wel niet gelijkmatig over de fibril verdeeld. Details van deze interactie vormen een actuele problematiek in het moleculair-cytologisch onderzoek. Het model van figuur 3 geldt waarschijnlijk voor alle chromosomen van eukaryoten; bij de prokaryoten, die de chromosoom-eiwitten missen, vervalt deze mogelijkheid tot gen-regulatie d.m.v. eiwit-afdekking; zodat ook hier weer een scherpe scheidingslijn valt te trekken tussen prokaryoten en eukaryoten.

Het chromatine (de term, die eigenlijk niet meer inhoudt dan 'kleurbare substantie', stamt van Flemming uit 1882) bestaat uit het kluwen, gevormd door het totaal van alle temidden van de karyolymfe onherkenbaar dooreengelegen chromosoomfibrillen in het kerncompartiment bij eukaryoten in de interfase-periode tussen de delingen (fig. 4). Het kan worden onderscheiden in gebieden waar de fibrillen

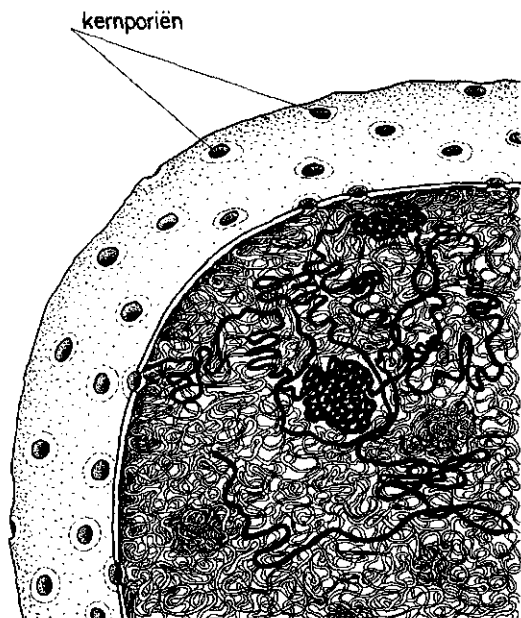


Fig. 4. Voorstelling van de ruimtelijke ligging van de elementaire fibril van één chromosoom met twee heterochromatische gebieden in een interfase-kern bij een eukaryotische cel. Let op de aanhechting bij de annulus van een kernporie.

vrij los dooreen zijn gelegen in het diffuse *euchromatine*, naast gebieden waar de fibrillen (van een of meer chromosomen bijeen) dicht ineen zijn getordeerd tot het compacte *heterochromatine*. Deze laatste toestand kan tijdelijk van aard zijn, dan wel blijvend voor een bepaald chromosoom of chromosoomdeel. Een bekend voorbeeld van laatstgenoemde situatie is het lichaampje van Barr, ontdekt door de Canadese histoloog Barr in 1949 in celkernen van zoogdieren, dat gevormd wordt door één van beide X-chromosomen in totaal heterochromatische toestand. Euchromatine en heterochromatine verschillen ook biochemisch in enkele opzichten, zoals in de eiwitsamenstelling; men neemt aan dat de genetische activiteit (de transcriptie van gedeelten uit het DNA-molekuul in mRNA) zich vooral in het euchromatine afspeelt, terwijl het heterochromatine zich juist door een geringe genetische activiteit kenmerkt. Hier ligt mogelijk een belangrijke factor bij de de genetische regulatie in de eukaryotische cel (bijvoorbeeld bij het

zojuist genoemde X-chromosoom bij zoogdieren waar steeds bij één van beide de genetische activiteit wordt geblokkeerd). Het verschil euchromatine – heterochromatine is kenmerkend voor de eukaryoten; er is geen analoon van bekend in het genofoor bij prokaryoten.

Delingsmechanisme bij eukaryoten

Een *mitose* wordt steeds voorafgegaan door een bij de meeste meer-cellige dieren en planten naar tijdsduur vrij constante synthesefase of S-fase (meestal 6–9 uur) die weer door een enige uren durende G_2 -fase wordt gescheiden van de ten opzichte van de gehele generatiecyclus vrij kort durende ($1-1\frac{1}{2}$ uur) eigenlijke deling; dit gehele verloop is specifiek voor de eukaryoten (fig. 5). Tijdens de S-fase wordt het DNA-molekuul verdubbeld volgens het principe van de semi-conservatieve replicatie (waarbij op elk van de beide helften van het dubbelstrengs DNA-molekuul een nieuwe molekuulhelft wordt gesynthetiseerd; zie Ontwikkelingen in de moleculaire biologie (1966). Gelijktijdig worden nieuwe histon-eiwitten aan de chromosoomfibril, die pas in de G_2 -fase zal worden gesplitst, toegevoegd. Deze G_2 -fase, waarin de fibril als geheel met zijn eiwitmantel wordt gesplitst, is ook specifiek voor de mitose bij eukaryoten; het naakte DNA bij prokaryoten is na de S-fase immers al direct tot deling gereed. Het staat thans wel vast, dat de synthese van histonen, evenals van de andere chromosoom-eiwitten, buiten de kern plaatsvindt en dat deze eiwitten secundair naar de chromosoomfibrillen worden vervoerd, overigens in een periode waarin de

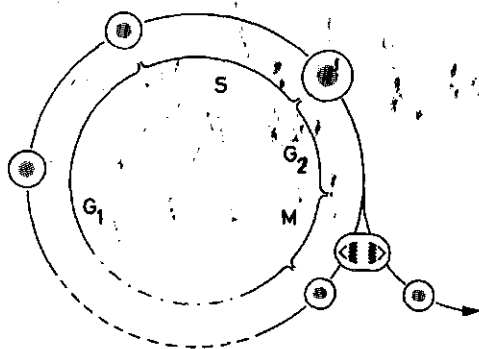


Fig. 5. Schema van de generatie-cyclus van een eukaryote cel.

kernmembraan nog volledig intact is. Na de G₂-periode, waarin ook verdubbeling van de centriolen plaatsvindt, kiezen de beide centriolenparen positie aan de tegengestelde polen van de cel met de celkern er tussen. De spoelfiguur, uit bundels van microtubuli opgebouwd, komt tussen beide centrioolparen tot stand en vindt in de chromosoomspoelvezels contact met chromosomen in het centromeergebied. Essentieel voor het ontstaan van de spoelvezels zijn de centriolen niet, want deze lichaampjes ontbreken bij alle hogere planten. De koppeling tussen het cyclisch verschijnen en verdwijnen van het spoelapparaat en de hiermee gepaard gaande migratie van de centriolen is niet absoluut; het is mogelijk om onder experimentele omstandigheden chromosomen tot zogenaamde premature condensatie te brengen, waarmee beide voor de eukaryoten zo typische processen van elkaar zijn losgekoppeld (vergelijk het hoofdstuk van Bootsma).

De veranderingen die de chromosomen in de profase van de mitose ondergaan, kunnen worden samengevat als een progressief ineenstrengelen en openpakken van de elementaire fibrillen, waarbij al vroeg de transcriptie-activiteit geheel of tennaaste bij tot nul daalt. Er zijn goede argumenten om aan te nemen dat deze vermindering van de transcriptie-activiteit direct samenhangt met de condensatie-toestand van de chromosoomfibrillen (vergelijk Mitchison, 1971). Deze condensatie heeft cytologisch nog twee, gewichtige gevolgen; ten eerste manifesteren de chromosomen zich in de profase steeds duidelijker als afzonderlijk waarneembare elementen, de goed bekende chromosomen van weleer, in tegenstelling tot de situatie bij het chromatine in de interfase-kern, waarbij de afzonderlijke elementaire fibrillen onscheidbaar dooreen zijn gelegen (fig. 4). Ten tweede verdwijnt het onderscheid tussen euchromatine en heterochromatine en deelt nu het gehele genoom de transcriptie-inactiviteit van het heterochromatine in de interfase. Het lijkt geen twijfel meer dat de progressieve verdikking en verkorting van de chromosomen in de profase aan een steeds dichter ineenstrengelen van de elementaire fibrillen moet worden toegeschreven, vooral sedert men elektronenmicroscopisch totaalpreparaten van chromosomen in de metafase is gaan onderzoeken waarbij dit duidelijk kon worden aangetoond (fig. 6). Hiermee is ook verklaard dat in de slechts circa 50 nm dikke elektronenmicroscopische coupes chromosomen (of heterochromatische gebieden in de kern, zie fig. 2) doorgaans als complexen van dicht bijeengelegen puntjes worden gezien en het bestaan van het 'bindende element', de lange getordeerde fibril,



Fig. 6. Elektronenmicroscopische opname van een totaalpreparaat van een menselijk X-chromosoom in de metafase, 38.500 $\times$. Let op de uniforme dikte van de sterk getordeerde fibrillaire elementen die het uit twee parallelle helften (chromatiden) opgebouwde chromosoom vormen, dat alleen nog in het centromeergebied ongedeeld is. (Uit: DuPraw, 1970).

niet kan worden vermoed. Het is theoretisch zeer aannemelijk dat dit voor de eukaryoten zo karakteristieke 'opvouwen' van het genoom tijdens de deling in de compacte chromosomen in verband moet worden gebracht met de noodzaak transportabele elementen in de anafase na scheiding van de centromeren uiteen te doen gaan.

Amitose of directe deling, hetgeen neerkomt op een verdeling van genetisch materiaal zonder dat de chromosomen condenseren en wat in feite gelijkenis vertoont met het delingsmechanisme bij bacteria en andere prokaryoten, komt voor bij fungi en vele ciliaten. Veelal vindt dit proces plaats in de grote macronucleus, waarin zich een multipel aantal van het chromosomenbestek van de soort heeft ontwikkeld. Bij deze zogenaamde *polyploïde* kernen zou een eventueel niet geheel gelijkwaardige verdeling van het aanwezige genoom over dochterkernen – bij dit delingsmechanisme eerder te verwachten dan bij de mitose – een niet zo ernstig effect hebben als bij een kern die wat zijn genetische opbouw betreft nog met een diploïde zygote overeenkomt. Er zijn bovendien aanwijzingen, dat bij het proces van de vorming van de macronucleus het genoom in kleine DNA-fragmenten uiteenvalt (Prescott et al., 1973), waardoor de situatie bij de macronucleus wel een zeer bijzondere wordt.

Kerninhoud en kernbegrenzing bij eukaryoten; extranucleaire erfelijke determinanten

De kernmembraan

Zoals reeds herhaalde malen is ter sprake gekomen, is de kernmaterie (karyoplasma) bij eukaryoten in een afzonderlijk compartiment afgesloten van het cytoplasma. Dit is althans het geval bij cellen in de interfase, die geen tekenen van deling vertonen; van de late profase tot de telofase (een periode van meestal nog geen uur per generatie-cyclus) liggen de chromosomen, zij het met in genetisch opzicht verlamde activiteit, vrij in het cytoplasma. In dezelfde periode zijn de andere typische componenten van de eukaryotische kern, de karyolymfe of het kernsap, de nucleoli of kernlichaampjes en de kernmembraan alle tijdelijk als zodanig verdwenen. Bij verdwijnen en verschijnen van de uit twee parallelle, ongeveer 7,5 nm dikke, lipoproteïd-membranen bestaande kernmembraan blijkt overigens vaak een zekere relatie met intracytoplasmatische membraansystemen; de ruimte tussen beide

bladen van hetgeen in het Engels treffend de 'nuclear envelope' wordt genoemd, communiceert dan ook met het lumen van het endoplasmatisch reticulum.

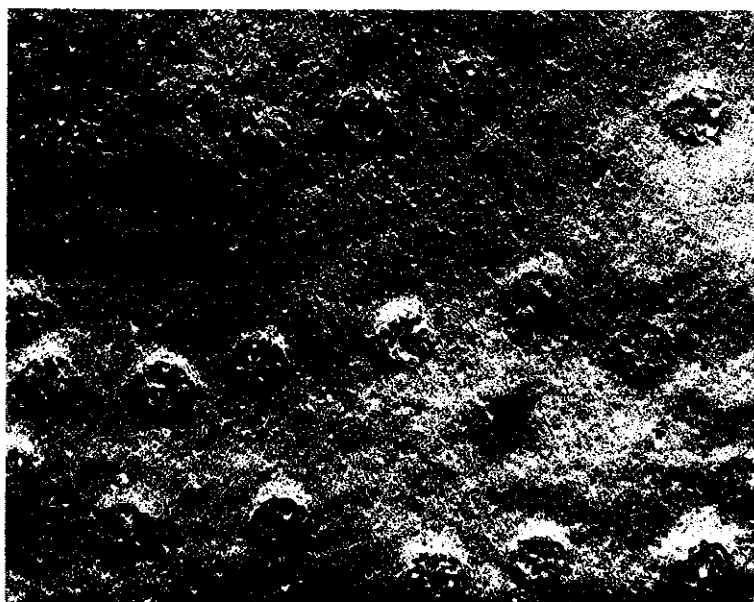
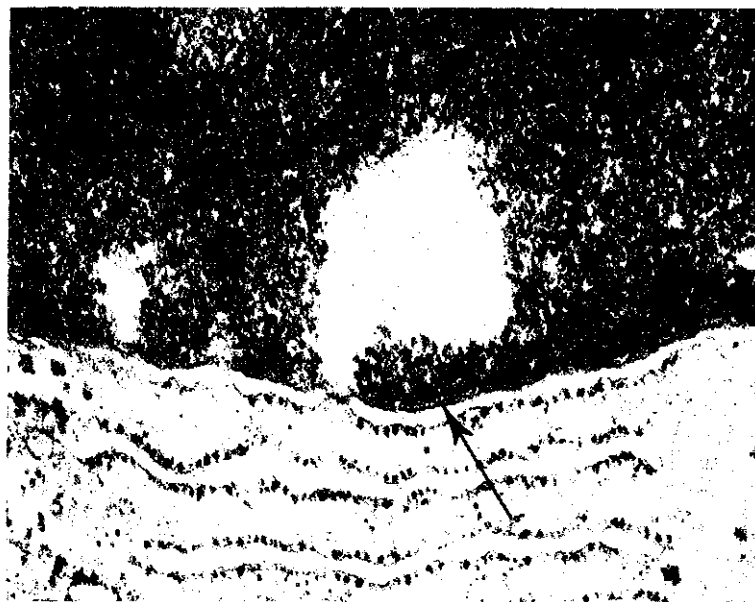
Op gezette plaatsen blijken buiten- en binnenblad aan de rand van de zogenaamde *poriën* in elkaar over te gaan (fig. 7). Men moet zich deze poriën overigens niet voorstellen als openingen zonder meer in het kernomhulsel. Afgezien van de diafragma's die de poriën soms geheel schijnen af te sluiten (fig. 7), zijn er allerlei meer ingewikkeld gevormde structuren binnen de poriewand of annulus beschreven, die men wel met de verzamelnaam 'nuclear pore complex' aanduidt.

De poriën, die meestal een grootste doorsnede van 40–60 nm hebben (al komt door de structuren rond de annulus de effectieve opening zelden boven de 10 nm uit) en in aantallen van 10–100 per μm^2 oppervlak kernmembraan voorkomen, zijn de passage-plaatsen par excellence voor de uitwisseling van stoffen tussen kern en cytoplasma (zie fig. 5 in het hoofdstuk van Daems). Het is komen vast te staan dat het aantal poriën per oppervlakte-eenheid kernmembraan aanzienlijk kan verschillen bij eenzelfde celtype en in het algemeen hoger is onder die omstandigheden waarbij het bestaan van een intensieve uitwisseling tussen kern en cytoplasma kan worden vermoed. Anderzijds is in die situaties waarbij de transcriptie-activiteit van een kern afneemt (zoals bij het voortschrijden van de rijping van voorstadia van rode bloedcellen) een teruglopen van de porie-dichtheid geconstateerd. Ook de diameter van bestaande poriën blijkt wel aan wijzigingen onderhevig, zodat zelfs van een contractie-dilatatiemechanisme kan worden gesproken (DuPraw, 1971).

Tussen het binnenblad van de kernmembraan en de buitenste laag van het chromatine is vaak een dunne, uit eiwitten bestaande steunlaag,

Fig. 7. Coupe uit de rand van een levercelkern van de amfibie Amphiuma met een door een membraan afgesloten porie, aan de rand waarvan de beide bladen van het kernomhulsel in elkaar overgaan. Let op de lamina densa (pijl) tussen het binnenblad van de kernmembraan en het randstandig heterochromatine, en verder op het weinig elektronenstrooiende 'kanal' door dit heterochromatine, dat bij de porie uitmondt. Vergroting 35.000 $\times$. (Uit James, 1971.)

Fig. 8. Elektronenmicroscopische vries-ets-opname van de periferie van de celkern van de lever van een rat, waarbij een beeld wordt verkregen van een tangentieel langs het kernoppervlak gaand breukvlak, zodat de kernporiën 'en face' worden waargenomen; met kool en platina opgedampte replica. Vergroting 75.000 $\times$.



de lamina densa, waar te nemen (pijl in fig. 7), die ter plaatse van de poriën is onderbroken. In dit gebied wijkt ook de dichte laag van het perifere heterochromatine, die de buitenste laag van het chromatine vormt, uiteen, zodat a.h.w. een kanaal vrijkomt, dat in verbinding staat met het euchromatine meer in het inwendige van de kern en uitmondt bij de porie (fig. 7). De poriën, die niet steeds volkomen regelmatig in het kernoppervlak verspreid liggen (fig. 8) hebben verder nog betekenis doordat aan de rand van een porie chromosoomfilamenten verankerd kunnen zijn (fig. 4). Hier ontstaat een interessante parallel met de situatie bij prokaryoten, waar het nucleoid contact maakt met de plasmamembraan of het mesosoom. Het is verder van belang terloops aan te tekenen dat bij sommige amitoseprocessen bij ééncellige eukaryoten deze bevestiging aan de kernmembraan mogelijk van belang zou zijn bij het delingsmechanisme, daar bij een meer langgerekt worden van de kern (voorafgaande aan een insnoering) de aangehechte chromosoomfibrillen zouden worden meegetrokken.

De uitwisseling van materiaal via de poriën slaat ook op de producten van de voor de eukaryoten unieke nucleolus, waarvan is gebleken dat het hier gaat om in bepaalde delen van het genoom gelokaliseerde genen (veelal in repeterende eenheden gerepresenteerd) die de informatie bevatten voor de synthese van het rRNA voor de ribosomen, dat later naar het cytoplasma zal worden getransporteerd. De producten van deze synthese hopen zich met bepaalde eiwitten op in ribonucleoproteïde partikels, die als voorstadia van ribosomen zijn op te vatten. Het geheel heeft licht- en elektronenmicroscopisch zeer typische kenmerken (Jordan, 1971). In figuur 2 is de nucleolus als een sponsachtige structuur temidden van het chromatine te herkennen. Nucleolus en kernmembraan, te beschouwen als typische hulpapparaten van het genoom bij eukaryoten, verdwijnen tijdens het begin van de mitose, om in de telofase weer te verschijnen. Terloops zij in dit verband opgemerkt dat bij het weer verschijnen van nucleolus en kernmembraan in de telofase – welke processen zeer snel verlopen – het zeker niet alleen om een synthese gaat, doch mede om een re-assemblage van tijdens het mid-dengedeelte van de mitose verspreid materiaal. Bij verschillende een-cellige eukaryoten vindt de mitose plaats binnen een intact blijvende kernmembraan, vaak met een intranucleaire spoelfiguur. Bij de dino-flagellaten doet zich daarbij de merkwaardige omstandigheid voor dat de elementaire fibrillen van de (zich overigens goed als afzonderlijke eenheden in de mitose manifesterende) chromosomen geen histonen

bevatten. Zij komen hierdoor, en verder door hun delingsmechanisme dat gelijkenis met dat van bacteria vertoont, enigermate tussen de eukaryoten en prokaryoten te staan, reden waarom wel is voorgesteld deze groep als '*mesokaryoten*' een afzonderlijke plaats toe te kennen (vergelijk John & Lewis, 1971). De reeds gesignaleerde kloof tussen pro- en eukaryoten wordt overigens door deze bevinding beslist niet voldoende overbrugd, daarvoor staan de dinoflagellaten toch nog in veel andere opzichten te dicht bij de meeste eukaryoten.

Extranucleair DNA

Een geheel andere relatie tussen prokaryoten en eukaryoten betreft eveneens een betrekkelijk recente ontwikkeling, namelijk de vondst van het voorkomen van extranucleair DNA. Oorspronkelijk werd in biochemische preparaten van door ultracentrifugatie verkregen mitochondria-fracties de aanwezigheid van DNA als een verontreiniging beschouwd; later is echter onomstotelijk komen vast te staan dat het hier gaat om een extranucleaire lokalisatie van DNA, afgekort meestal mtDNA genoemd. Het is een circulair molecuul, dat bij alle dieren circa 5 μm lang is en in sterk gewonden toestand in de matrix van mitochondria wordt gevonden; het komt ook in plastiden voor bij planten en in mitochondria van een groot aantal protisten, waaronder gisten (vergelijk Borst, 1972). Het is geleidelijk duidelijk geworden dat dit mtDNA een zekere genetische onafhankelijkheid van deze organellen kan bewerkstelligen; er komen bijvoorbeeld in mitochondria ook bijzondere (kleine!) ribosomen voor, die met de specifieke ribosomale eiwitsynthese in verband moeten worden gebracht. Deze genetische onafhankelijkheid met een 'eigen' eiwitsynthese is echter slechts zeer partieel: voor een belangrijk gedeelte zijn deze organellen toch weer van het kern-DNA afhankelijk. Hoe de uiterst precieze coördinatie tussen beide genetische informatiebronnen tot stand komt (er zijn niet alleen samenwerkende enzymen die door kern-DNA, respectievelijk mtDNA worden gecodeerd, voor sommige enzymen is de codering zelfs partieel uit beide afkomstig!), is nog totaal raadselachtig.

De treffende gelijkenis tussen enerzijds het mtDNA met zijn circulaire vorm, ontbreken van binding met eiwitten in combinatie met de bijzondere, wat kleinere ribosomen, en anderzijds de zo sterk hiermee verwante situatie bij prokaryoten heeft reeds velen aan het denken gebracht. Hierbij werd een reeds in de jaren twintig ontstane en later weer

verworpen hypothese omtrent de oorsprong van organellen als mitochondria en plastiden weer actueel; zouden dan toch deze organellen evolutionair moeten worden gezien als parasieten? De theorie dat mitochondria en – mutatis mutandis – ook andere DNA-bevattende organellen zouden moeten worden beschouwd als prokaryotische indringers in de eukaryotische cel, de zogenaamde endosymbiont-hypothese, vindt niet alleen steun in de zojuist gesignaleerde verwantschap. Ten gunste van een dergelijke theorie pleiten ook talrijke curieuze endosymbiotische verhoudingen van prokaryoten in of op eukaryoten (vergelijk Margulis, 1970).

De endosymbiose-theorie in zijn meest uitgesproken vorm, die eigenlijk inhoudt dat alleen die eukaryoten die een geslaagde symbiose met binnengedrongen prokaryoten hebben weten tot stand te brengen de natuurlijke selectie zouden hebben kunnen overleven, zou de in het voorafgaande gesignaleerde evolutionaire kloof tussen pro- en eukaryoten enigermate kunnen verklaren. Hoewel deze denkbeelden in enigerlei vorm wel een zeker gehoor hebben gevonden, ontbreekt het ook niet aan kritische geluiden; zo vestigen Raff & Mahler (1972), die deze voorstelling geheel afwijzen, er de aandacht op dat in feite vele prokaryoten toch ook over – zij het minder, en minder complexe – door membranen begrensde organellen (mesosomen, gasblaasjes en thylakoiden) beschikken en hiernaast het DNA in plasmiden als een equivalent van het mtDNA bij bacteriën zou kunnen worden beschouwd. Met een dergelijke voorstelling valt, evenzeer als met de endosymbiont-theorie een aanduiding van een overgang tussen prokaryoten en eukaryoten te construeren. Zeker dienen de meer extreme consequenties van een dogmatisch aanhangen van de endosymbiose-theorie, zoals de door de laatstgenoemde auteurs sterk aangevochten verklaring van het ontstaan van de complexe trilharen bij eukaryoten uit endosymbiotisch in de cel opgenomen spirochaeten, voorshands naar het rijk van de fabelen te worden verwezen. De enige slotopmerking, die ten aanzien van de boeiende problematiek van de fylogenetische relatie eukaryoten-prokaryoten valt te maken, is dat het probleem is gesignaleerd, van vele zijden belicht, doch geenszins opgelost.

Samenspel van genoom en cytoplasma

D. BOOTSMA

Inleiding

Samenspel tussen genoom en cytoplasma is de celbiologische omschrijving van het 'dogma' uit de moleculaire biologie. Dit zegt dat het DNA een informatie-bevattend molekuul is, de chemische basis van het genoom. Het cytoplasma bevat het machinepark, bestaande uit de ribosomen waarop de genetische informatie wordt vertaald in genprodukten en: de eiwitten.

Vanuit genoom naar cytoplasma loopt een voortdurende stroom van informatie in de vorm van RNA, afgeschreven op het DNA en vertaald in het eiwit. Anderzijds kunnen signalen vanuit het cytoplasma het genoom bereiken en daar bijdragen tot de regulatie van de genexpressie. Dit samenspel op moleculair niveau tussen genoom en cytoplasma wordt uitvoerig behandeld in Ontwikkelingen in de moleculaire biologie (1966) en zal daarom hier niet opnieuw worden uitgewerkt. In dit hoofdstuk zal worden getracht de moleculaire verbanden te vertalen in hoger georganiseerde niveau's van de cel, waarbij het duidelijk zal zijn dat een scherpe begrenzing tussen moleculaire biologie en celbiologie niet meer aan te geven is. Beide benaderingswijzen lopen geleidelijk in elkaar over.

Het celbiologisch onderzoek naar het samenspel tussen genoom en cytoplasma heeft het laatste decennium belangrijke impulsen gekregen door de ontwikkeling van methoden waarbij nieuwe combinaties van kernen en cytoplasma worden verkregen. Eén van deze technieken is de fusie tussen in vitro gekweekte cellen van verschillende oorsprong, waarbij meerkernige en éénkernige hybride cellen worden gevormd. In deze cellen kunnen signalen vanuit genoom of vanuit cytoplasma, die in een normale cel niet direct waarneembaar zijn, duidelijk naar voren komen. In dit hoofdstuk zal de nadruk worden gelegd op deze nieuwe ontwikkelingen.

Signalen vanuit genoom naar cytoplasma

De synthese van RNA en het transport van RNA van kern naar cytoplasma werd op cellulair niveau aangetoond met de autoradiografische techniek. Wanneer een proefdier wordt ingespoten met een radioactieve bouwsteen van RNA, bijvoorbeeld met tritium gemerkt uridine of cytidine, wordt binnen enkele minuten de radioactiviteit teruggevonden in de kernen van cellen met een actieve synthese van RNA. Een concentratie van radioactiviteit treedt op in de nucleolus, terwijl ook het chromatine duidelijk radioactief gemarkeerd is. Wanneer het proefdier op een later tijdstip, bijvoorbeeld na 15 minuten, $\frac{1}{2}$, 1 of 2 uur, wordt gedood, dan blijkt een toename van radioactiviteit op te treden in het cytoplasma naarmate de tijdsduur tussen injectie en fixatie van het weefsel langer is. Op analoge wijze kan de eiwitsynthese worden gevolgd door radioactief gemerkte aminozuren aan te bieden en de plaats in de cel vast te stellen waar de radioactiviteit terecht komt. De synthese van eiwitten in het RNA-rijke gedeelte van het cytoplasma kan hiermee zichtbaar worden gemaakt. Dat deze synthese op de ribosomen plaatsvindt, is aan celfracties aangetoond.

Een aantal aspecten met betrekking tot deze interactie tussen genoom en cytoplasma komt hier aan de orde.

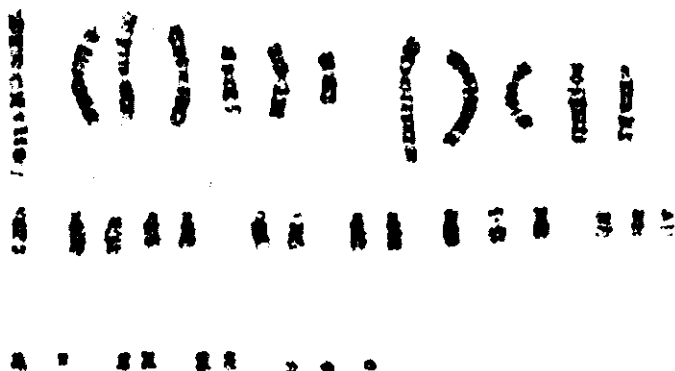
De rangschikking van de informatie in het genoom

In de eerste plaats gaan we na of er een relatie bestaat tussen de rangschikking van de genen in het genoom en de functies waarop ze invloed uitoefenen. In enkele microbiële systemen heeft men gevonden, dat het betrokken zijn van bepaalde genen bij dezelfde metabole reactieketen tot uitdrukking komt in hun onderlinge rangschikking in het DNA-molekuul. Soms vormen zij een aaneengesloten groepje genen (een operon), dat samenwerkt bij de vorming van het boodschapper-RNA ('messenger' RNA of mRNA). Een bekend voorbeeld is het zogenaamde lac-operon in de bacterie *Escherichia coli*. Dit operon bevat de genen voor de enzymen transacetylase, permease en β -galactosidase, allen betrokken in het lactosemetabolisme.

Er bestaan aanwijzingen dat als regel een dergelijke ordening binnen het genoom van de vertebraten inclusief de mens niet aanwezig is. Deze informatie komt voort uit het onderzoek naar de lokalisatie van genen, waarin de laatste jaren de celhybridisatie een grote rol heeft gespeeld.

In vitro gekweekte cellen van zoogdieren kunnen onder bepaalde omstandigheden fuseren met cellen van de mens. Hieruit kunnen vervolgens cellijnen worden gekweekt met een hybride genetische informatie. In de kernen van deze cellen bevinden zich chromosomen afkomstig van beide oudercellen. Veel onderzoek is verricht met hybride cellen van muis en mens, en Chinese hamster en mens. In beide combinaties blijkt verlies op te treden van menselijke chromosomen tijdens de kweek. Het resultaat is dan een genoom bestaande uit een complete

CHINESE HAMSTER



MENS

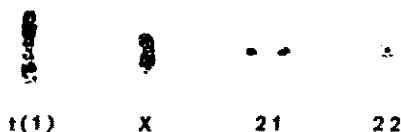


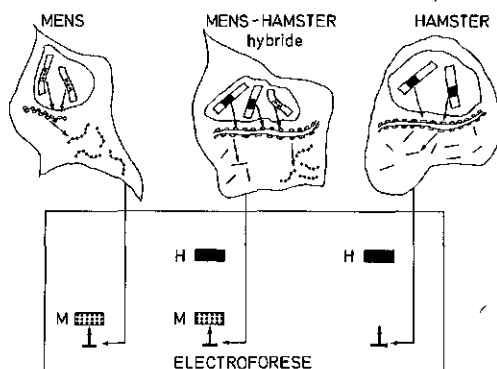
Fig. 1. Het chromosomenpatroon in een hybride cel van Chinese hamster en mens. De volledige chromosomenset van de hamster-ouderlijn (aneuploid) is aanwezig plus enkele chromosomen van de mens. De chromosomen zijn zodanig gefixeerd en gekleurd dat een karakteristiek bandenpatroon zichtbaar wordt. (Opname W. Burgerhout, Afd. Celbiologie en Genetica, Erasmus Universiteit, Rotterdam.)

chromosomenset van de muis of de Chinese hamster plus een variërend aantal chromosomen van de mens (fig. 1).

In dit hybride celtipe blijkt genetische informatie van beide oudercellen tot expressie te kunnen komen. Het transcriptie- en translatiemechanisme wordt blijkbaar door de fusie niet beïnvloed. Op zichzelf is dit een sterke aanwijzing voor het universele karakter van deze mechanismen. Van een groot aantal enzymen in deze hybride cellen kan het in een menselijke cel gevormde enzym onderscheiden worden van het overeenkomstige enzym in cellen van muis of Chinese hamster. Dit onderscheid berust op verschillen in de aminozuursamenstelling van de menselijke en de knaagdiervorm van een bepaald enzym, welke op hun beurt kunnen worden teruggevoerd tot verschillen in de genetische code (mutatie tijdens de evolutie). Met behulp van elektroforese kan scheiding worden verkregen tussen de twee varianten van een bepaald enzym als de elektrische lading van de twee typen molekulen ten gevolge van het verschil in aminozuursamenstelling niet identiek is (fig. 2).

De produktie van het enzym fosfoglucomutase 1 (PGM_1) is schematisch weergegeven in figuur 2A. Dit enzym speelt een rol in één van de basale functies in de cel: het koolhydraatmetabolisme. Hetzelfde geldt voor een tweede enzym, het 6-fosfogluconaatdehydrogenase (6PGD), waarvan de synthese is weergegeven in figuur 2B. Het werkelijke beeld van de elektroforese voor deze twee enzymen is te zien in figuur 3. Voor beide enzymen blijkt de menselijke vorm een geringere loopspnelheid te hebben dan die van de hamster. Eén extract van een populatie hybride cellen produceert het PGM_1 van hamster en mens, terwijl een extract uit een andere populatie hybride cellen alleen activiteit van hamster- PGM_1 bezit. Klaarblijkelijk heeft de laatstgenoemde hybride het menselijk locus voor PGM_1 verloren, en het cytoplasma ontvangt dan alleen de hamster-mRNA voor PGM_1 . Door een groot aantal celpopulaties van verschillende hybridelijnen op deze wijze te onderzoeken, werd aangetoond, dat er een positieve correlatie bestaat tussen de aan- of afwezigheid van menselijk PGM_1 en de aan- of afwezigheid van chromosoom 1 van de mens. Dezelfde correlatie werd gevonden voor het enzym 6PGD. De conclusie uit dit onderzoek is, dat de genetische code voor beide enzymen gelegen is op chromosoom 1 van de mens. In de elektroforogrammen van hybride cellen, die het menselijk 6PGD nog bezitten vinden we 3 in plaats van 2 banden. Naast de band veroorzaakt door het enzym uit menselijke cellen en die van de

A. Synthese van het enzym fosfoglucomutase-1 (PGM_1)



B. Synthese van het enzym 6-fosfogluconaatdehydrogenase (6PGD)

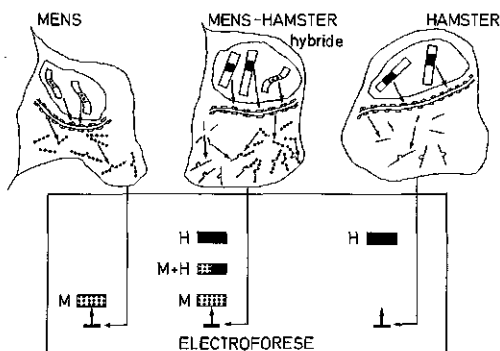


Fig. 2. Schematische weergave van de synthese van twee enzymen in hybride cellen van Chinese hamster en mens. In de kern zijn de chromosomen getekend waar op de genetische informatie voor deze enzymen gelegen is. Deze informatie wordt via het mRNA overgedragen naar het cytoplasma, waar op de ribosomen de polypeptide ketens worden geproduceerd. Electroforese van extracten van deze cellen en kleuring op de aanwezigheid van het enzym leidt tot specifieke bandenpatronen op de elektroforese strip. Identificatie van menselijke componenten en die van de Chinese hamster is hiermee mogelijk.

A. De synthese van het enzym fosfoglucomutase-1 (PGM_1). Dit enzym is opgebouwd uit 1 polypeptide keten (monomeer). Bij elektroforese van hybride cellen ontstaan 2 banden.

B. De synthese van het enzym 6-fosfogluconaat dehydrogenase (6PGD). Dit enzym is opgebouwd uit twee identieke polypeptide ketens (dimeer). Elektroforese van hybride cellen leidt tot 3 banden: een menselijke, een hamster- en een intermediaire band bestaande uit 6PGD-molekulen opgebouwd uit een polypeptide-keten van de menselijke en van de hamster.

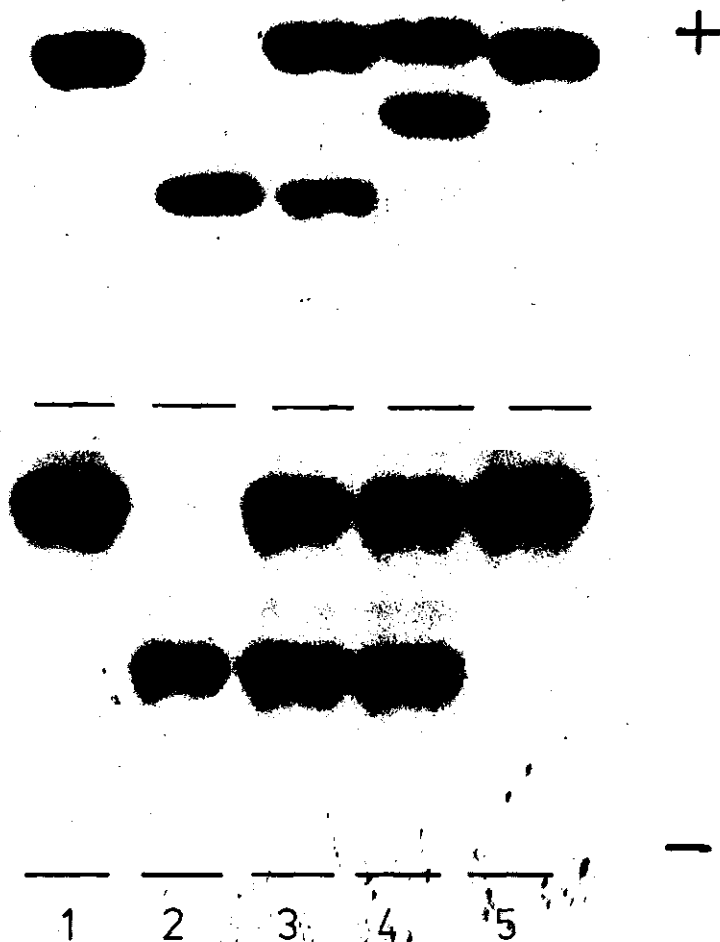


Fig. 3. Elektroforese van extracten van achtereenvolgens cellen van Chinese hamster (1), menselijke cellen (2), cellen van hamster plus menselijke cellen (3) en twee verschillende hybride cellijnen van hamster en mens (4 en 5). De elektroforesestrip werd gekleurd voor het aantonen van het enzym PGM_1 (onder) en PGD (boven). Voor de interpretatie van het bandenpatroon: zie figuur 2. De genetische informatie voor beide enzymen van menselijke oorsprong is aanwezig in de linker hybride en is verloren gegaan in de rechter (Opname H. van Someren, Medisch Biologisch Lab., TNO, Rijswijk.)

hamster wordt er een intermediaire band aangetroffen. Hierop wordt in een volgende paragraaf teruggekomen.

Men kent in menselijke cellen nog enkele andere vormen van het enzym fosfoglucomutase (de isoenzymen PGM₂ en PGM₃) die door verschillende genen worden gecodeerd. Zo is het onlangs waarschijnlijk gemaakt dat het gen voor PGM₃ op chromosoom 6 gelokaliseerd is, de lokatie van PGM₂ is nog onbekend. Hieruit blijkt, dat genen betrokken bij de uitvoering van dezelfde functie bij de mens verspreid in het genoom aanwezig kunnen zijn. Een bekend voorbeeld is ook de genetische code voor het enzym melkzuurdehydrogenase (LDH). De twee genen betrokken bij de synthese van dit enzym (LDH A en LDH B) liggen op verschillende chromosomen (respectievelijk chromosoom 11 en 12).

De enzymen 6PGD (op chromosoom 1) en glucose-6-fosfaat dehydrogenase (G6PD) katalyseren twee opeenvolgende stappen in de pentose-fosfaatketen van het koolhydraatmetabolisme. Uit familie-onderzoek en door celhybridisatie is vast komen te staan dat het gen dat codeert voor G6PD op het X-chromosoom ligt. Ook hier is er dus geen relatie tussen lokalisatie in het genoom en functie zoals deze wel bij micro-organismen is vastgesteld.

Het hier beschreven onderzoek naar de genlokalisatie is van recente datum. Tot voor kort was men bij het in kaart brengen van de chromosomen van de mens aangewezen op familie-onderzoek. Door het ontbreken van de mogelijkheid om gerichte kruisingen uit te voeren zijn de uitkomsten van dit familie-onderzoek in het algemeen zeer beperkt. Genetische kaarten, gebaseerd op recombinatie tussen de homologe chromosomen tijdens de reductiedeling, zoals deze bijvoorbeeld voor het bananenvliegje *Drosophila melanogaster* zijn opgesteld, bestonden voor de chromosomen van de mens niet of nauwelijks. Dank zij de celfusiemethoden komt hierin thans snel verandering.

De specificiteit van het machinepark

De ogenschijnlijk willekeurige rangschikking van de genetische informatie maakt het waarschijnlijk dat de mRNA-molekulen die op nauw met elkaar samenwerkende genen worden afgeschreven, onafhankelijk van elkaar het cytoplasma bereiken en vertaald worden in eiwitketens. Dat dit ook geldt voor genen die betrokken zijn in de synthese van hetzelfde enzymmolekuul, blijkt uit het voorbeeld van de synthese van het

enzym 6PGD in hybride cellen van hamster en mens (fig. 2B). Een hybride cel met de informatie van hamster en mens voor het enzym produceert 3 typen enzymmolekulen, die overigens allen dezelfde chemische reactie katalyseren. Vermoedelijk is het enzym opgebouwd uit twee polypeptideketens; in een menselijke cel en een cel van de hamster dimeriseren steeds twee eiwitketens, welke gecodeerd worden door het gen van respectievelijk mens en hamster. In de hybride cel wordt mRNA gemaakt op hamster-genen en de aanwezige menselijke genen voor 6PGD. Dit RNA bereikt het cytoplasma en wordt vertaald in eiwitketens. Vermoedelijk onafhankelijk van elkaar ontstaan hierbij twee typen eiwitketens, de menselijke vorm en die van de hamster. Vervolgens vindt de dimerisatie plaats van steeds 2 ketens, waarbij naast de ouderlijke combinaties ook een hamster-keten kan samengaan met een menselijke keten, met als resultaat een heteropolymeer enzymmolekuul (de derde, intermediaire band).

Onderzoek van hybride cellen van muis en mens heeft aangetoond, dat het apparaat dat eiwit synthetiseert geen specificiteit vertoont met betrekking tot de afkomst van het mRNA. Eliceiri & Green vonden in 1969 dat deze hybriden uitsluitend ribosomaal RNA (rRNA) maakten gecodeerd door de rRNA-genen van de muis. De oorzaak hiervan is onbekend. Dit betekent echter dat de aanwezige menselijke enzymen in de hybride cel geproduceerd worden in een machinepark dat van muizenherkomst is; het blijkt niet te zijn vereist voor de synthese van de menselijke eiwitcomponenten dat de ribosomen zijn samengesteld uit menselijk materiaal.

De expressie van genen betrokken in specifieke functies

In de voorgaande paragraaf werd de expressie beschreven van genen die betrokken zijn bij basale celfuncties. Ingewikkelder wordt het samenspel van genoom en cytoplasma als we in de fusie cellen betrekken waarin een specifieke functie tot expressie komt. Een functie dus die in andere cellen, hoewel de genetische informatie aanwezig is, niet wordt uitgeoefend. We raken dan aan het probleem van de regulatie van de gen-expressie en stellen de vraag door welke factoren een bepaald gen in celtype A wel en in celtype B niet tot uiting komt.

De bekende Franse onderzoeker Boris Ephrussi was de eerste, die inzag dat celfusie-experimenten konden bijdragen tot het beantwoorden van deze vraag (Ephrussi, 1972). Het experiment bestaat uit de

fusie van twee cellen, die in de expressie van tenminste één specifieke functie verschillen. Het effect van dit samenbrengen van twee genomen in één cytoplasma op de expressie van de specifieke functie wordt vervolgens onderzocht. Deze experimenten kunnen een antwoord geven op de vraag of in zoogdiercellen diffundeerbare 'regulatiestoffen' betrokken zijn in de controle van gedifferentieerde functies. Als dit het geval is, kan tevens informatie worden verkregen over het werkingsmechanisme van deze stoffen: induceren ze de specifieke functie of wordt deze juist onderdrukt door de regulatie? In Ephrussi's laboratorium werd gebruik gemaakt van cellen van de Syrische hamster, die afkomstig waren van een melanoom, een tumor van sterk gepigmenteerde cellen. Het pigment melanine werd door deze cellen in kweek ook geproduceerd en deze produktie kan dus worden opgevat als een specifieke functie van dit celtipe. De andere ouder-cel lijn bestond uit ongepigmenteerde cellen, die echter van een gepigmenteerde muis afkomstig waren. De genetische informatie nodig voor de uitvoering van de op zichzelf gecompliceerde synthese van het pigment was in deze cellen dus aanwezig, maar kwam niet tot expressie. Dit bleek ondermeer uit de afwezigheid in de cel lijn van het enzym DOPA-oxidase, een enzym dat betrokken is bij de vorming van het pigment.

Het essentiële van Ephrussi's experiment was nu, dat de hybride cellen, die na de fusie werden geïsoleerd, niet in staat waren pigment te maken en evenmin DOPA-oxydase bevatten. De specifieke functie van één der ouders, t.w. de pigmentvorming, wordt dus in de hybride onderdrukt en de veronderstelling ligt dus voor de hand, dat de onderdrukkende factor, die in de niet gepigmenteerde ouder-cel lijn, ondanks herkomst uit een gepigmenteerde muis, de pigmentvorming verhindert, ook in de hybride werkzaam was. Het enzym DOPA-oxidase, dat als resultaat van differentiatie in de ene oudercel wel en in de andere niet aanwezig is, onderscheidt zich hiermee van enzymen, die in beide oudercellen wel voorkomen (bijvoorbeeld LDH, zie p. 69). LDH van Syrische hamster en van muis zijn beide in de hybride aanwezig. Bovendien onderscheidt DOPA-oxidase zich van enzymen die in de ene ouder wel maar in de andere, ten gevolge van een mutatie, niet aanwezig zijn. In de hier beschreven celfusie miste de cel van de Syrische hamster het enzym hypoxanthine-guanine-fosforibosyl transferase (HGPRT) en de muizecel het enzym thymidine-kinase, beide enzymen spelen een rol in het nucleïnezuurmetabolisme. Beide enzymdeficiënties werden veroorzaakt door mutaties in de betrokken genen (fig. 4). In de hybride

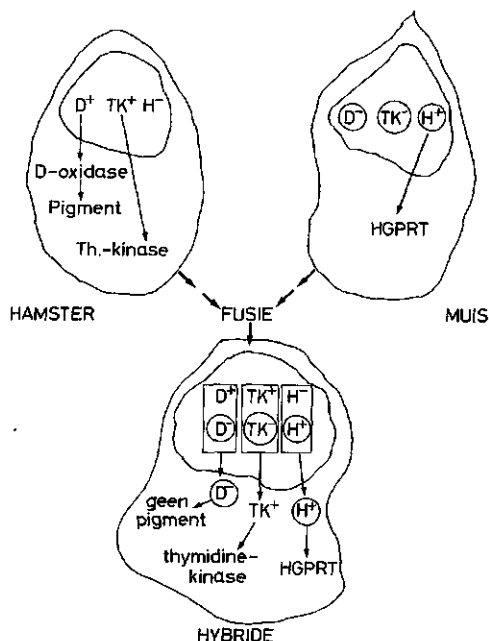


Fig. 4. Schema van de fusie tussen een pigment-producerende hamstercel (D^+) en een muizen-fibroblast die geen pigment kan maken (D^-). Ten gevolge van mutatie maakt de hamstercel geen HGPRT (H^-) en de muiscel geen thymidine kinase (T^-). De hybride cel voert de 2 basale functies, HGPRT- en thymidine-kinase-synthese, wel uit, maar de specifieke functie, pigmentsynthese, niet.

cellen zijn beide enzymen aanwezig, het HGPRT van de muis en het thymidine-kinase van de Syrische hamster. Als er dus geen reden is, verlies van genen bij deze hybridisatie, aan te nemen, kan gedacht worden aan de mogelijkheid dat in de oudercellen van de muis de vorming van het DOPA-oxidase wordt onderdrukt en dat de van de muizenouder afkomstige onderdrukkingsfactor ook in de hybride werkzaam is. Deze en andere experimenten van Ephrussi en Davidson (Ephrussi, 1972) maken het waarschijnlijk dat het genoom van de muizecel codeert voor een regulatiestof die in de muizecel de pigment-synthese en hierbij eveneens de synthese van DOPA-oxidase onderdrukt en dit eveneens in de hybride cel bewerkstelligt (fig. 5). Het is niet

REGULATIE PIGMENT SYNTHESE

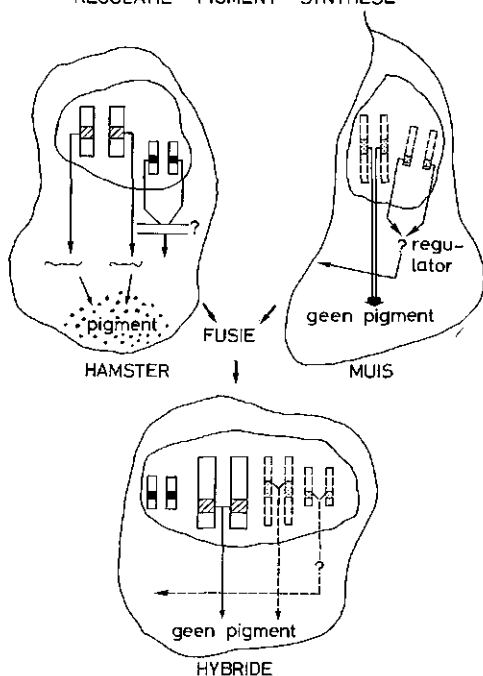


Fig. 5. Schematisch weergegeven hypothese, waarmee het verdwijnen van een specifieke functie in een hybride cel, in dit geval de synthese van pigment, wordt verklaard. De productie van een regulatorstof die de pigmentsynthese onderdrukt, is hierbij het uitgangspunt.

bekend in welke stap van de pigmentsynthese de regulator ingrijpt; dit hoeft niet bij het DOPA-oxidase te zijn.

Het verdwijnen van een specifieke functie na hybridisatie is ook voor een aantal andere eigenschappen aangetoond. In een enkel geval zijn bovendien aanwijzingen verkregen voor de genetische achtergrond van de regulatorstof, die de expressie van de functie onderdrukt. Een voorbeeld hiervan is de regulatie van de synthese van een enzym dat specifiek is voor nierweefsel, het enzym esterase-2 (Es-2). Wanneer gekweekte niercellen afkomstig van de muis met Es-2-activiteit worden gefuseerd met fibroblasten van de mens, waarin het Es-2-gen niet tot expressie komt, verdwijnt de Es-2-activiteit in de hybride cellen. De aan-

wezigheid van een menselijk gen dat codeert voor een regulatorstof die de Es-2-synthese onderdrukt, werd aannemelijk gemaakt toen bleek, dat bij verlies van menselijke chromosomen uit deze hybride cellen weer hybriden naar voren kwamen met Es-2-activiteit. De aan- of afwezigheid van de activiteit bleek samen te gaan met de aan- of afwezigheid van chromosoom 10 van de mens. Hieruit werd de conclusie getrokken dat chromosoom 10 een gen bevat dat codeert voor een regulatorstof, betrokken bij de expressie van het Es-2-gen.

Deze celfusie-experimenten suggereren het bestaan van een in principe negatieve vorm van regulatie in zoogdiercellen, waarbij de expressie van een gen wordt onderdrukt door de voortdurende aanwezigheid van een vermoedelijk specifiek werkende regulatorstof. Het aantal specifieke functies dat op deze wijze is onderzocht, is echter nog betrekkelijk gering. Andere regulatie-mechanismen, onder meer bekend uit de genetica van micro-organismen, kunnen zeker nu nog niet worden uitgesloten.

Het is duidelijk, dat door de hier beschreven experimenten slechts een bescheiden begin is gemaakt met het verkrijgen van inzicht in de problemen van genexpressie en regulatie. Zij roepen meer vragen op dan zij thans beantwoorden. Zo hebben ze nog geen informatie gegeven over het niveau waarop de regulatie plaatsvindt: treedt regulatie op ter plaatse van het genoom, dus bijvoorbeeld bij de transcriptie, of treedt regulatie op in het cytoplasma bij de translatie? Ook de logisch volgende vraag: Welke omstandigheden bepalen het type regulatorstof dat een cel produceert en waardoor wordt zijn functie vastgesteld? blijft onbeantwoord. Men mag echter verwachten dat de celhybridisatie in de toekomst zal bijdragen tot de beantwoording van deze centrale vragen in het samenspel tussen genoom en cytoplasma.

Signalen vanuit cytoplasma naar genoom

De aanwezigheid van specifieke signalen, die de expressie van bepaalde genen kunnen beïnvloeden, werd in het voorgaande reeds aangeduid. Of deze signalen in het cytoplasma worden aangemaakt en dan de kern bereiken is niet bekend, maar lijkt wel waarschijnlijk. Het staat nu wel vast, dat naast deze specifieke ook andere signalen met een algemene werking op de genexpressie vanuit het cytoplasma de kern kunnen bereiken. Deze signalen betreffen in de eerste plaats de inductie van de RNA-synthese, gelijktijdig en op vele plaatsen in het genoom. Daar-

naast staat vermoedelijk ook de inductie van de DNA-synthese en de celdeling onder cytoplasmatische controle. Aanwijzingen hiervoor, verkregen uit het celhybridisatie-onderzoek, zullen hier worden besproken.

Activering van het genoom

Het modelsysteem voor de studie van interacties tussen genoom en cytoplasma met betrekking tot de inductie van de RNA-synthese is het heterokaryon, een twee- of meerkernige cel die ontstaat door fusie van kippe-erythrocyten met HeLa-cellen (fig. 6). De kippe-erythrocyten bezitten een kern waarin het chromatine sterk gecondenseerd is. RNA- en DNA-synthese vindt in deze cellen, die een eindstadium bereikt hebben, niet meer plaats. Tijdens het fusieproces haemolysen de erythrocyten, zodat het cytoplasma van het heterokaryon aanvankelijk geheel van HeLa-oorsprong zal zijn. In deze heterokaryons wordt het ge-

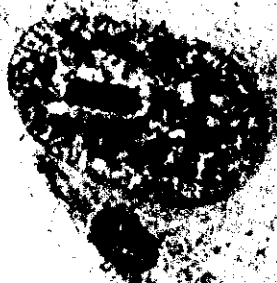


Fig. 6. Een binucleaire cel tot stand gekomen door fusie van een HeLa-cel (uit een menselijke tumorlijn) en een kippe-erythrocyt. De kern van de kippe-erythrocyt is genetisch inactief. Deze cel werd gefixeerd enkele uren na de fusie. (Opname E. A. de Weerd-Kastelein, Afd. Celbiologie en Genetica, Erasmus Universiteit, Rotterdam).

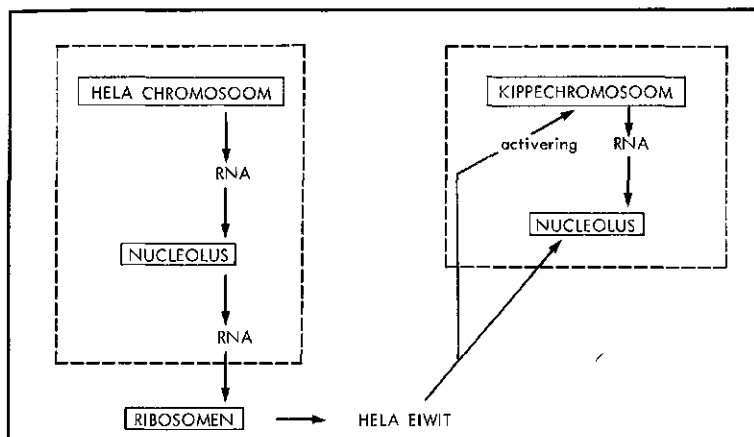


Fig. 7. De kippe-erythrocyt-HeLa binucleaire cel enkele dagen na fusie. De kippekern is gereactiveerd en produceert in dit stadium RNA. (Opname E. A. de Weerd-Kastelein, Afd. Celbiologie en Genetica, Erasmus Universiteit, Rotterdam.)

noom van de kippekern gereactiveerd. Dit reactiveringsproces is vooral onderzocht door de groepen van Harris in Oxford en Ringertz in Stockholm.

In een vroege fase van de reactivering treden opvallende veranderingen op in het DNA-eiwit-complex in de kippekern, die onder meer tot uiting komen in de veranderde affiniteit tot basische kleurstoffen. Het volume en drooggewicht van de kern nemen sterk toe terwijl het gecondenseerde chromatine losmazig wordt (fig. 7). Dit proces gaat parallel met een toenemende RNA-synthese (fig. 8). De toename in drooggewicht (met een factor 5 tot 8) gedurende de eerste 48 uur komt tot stand door opname van o.a. eiwitten uit het cytoplasma. Met immunologische technieken toonden Ringertz en medewerkers (1971) aan, dat voor deze toename eiwitten van menselijke origine verantwoordelijk waren. Ook de nucleoli van de kippekern bevatten aanvankelijk door de HeLa-kern gecodeerde en in het HeLa-cytoplasma gesynthetiseerde eiwitten. Wanneer éénmaal een functionerende nucleolus verkregen is, verandert geleidelijk ook haar samenstelling en worden kippe-eiwitten in het cytoplasma gesynthetiseerd en in de kippenucleoli opgenomen.

De gebruikte immunologische methoden maakten het mogelijk on-



Hela cel - kippeerythrocyt heterokaryon na 12 - 24 uur

Fig. 8. Schema van de reactivering van de kippekern in een kippe-erythrocyt-HeLa binucleaire cel. Eiwitten van HeLa-oorsprong dringen de kippekern binnen, waarna de RNA-synthese op gang komt en nucleoli worden gevormd.

derscheid te maken tussen eiwitten die zich bevinden in het kernplasma, de nucleoli of het cytoplasma van HeLa-cellen (fig. 9). De door de kippekern opgenomen eiwitten bleken een grote mate van specificiteit te bezitten; het zijn voornamelijk de kerneiwwitten die ook in de HeLa-kern aanwezig zijn. Menselijke nucleolaire eiwitten vormen aanvankelijk de nucleoli in de kippekern, terwijl deze eiwitten verder niet in het chromatine worden aangetroffen.

Dit onderzoek toont op elegante wijze aan dat signalen van het cytoplasma naar de kern gaan, waarbij expressie van het genoom kan worden geïnduceerd. Het onderzoek richt zich nu op de identificatie van deze signalen: Welke eiwitten zijn hierbij betrokken en hoe grijpen ze aan op het DNA?

Regulatie van de delingscyclus

Wanneer het experiment met het kippe-erythrocyt-HeLa-heterokaryon lang genoeg wordt voortgezet zal ook in de kippekern DNA-synthese plaatsvinden. De DNA-replicatie, zoals deze optreedt tijdens de S-fase van de delingscyclus, is dan in gang gezet (zie voor indeling van de

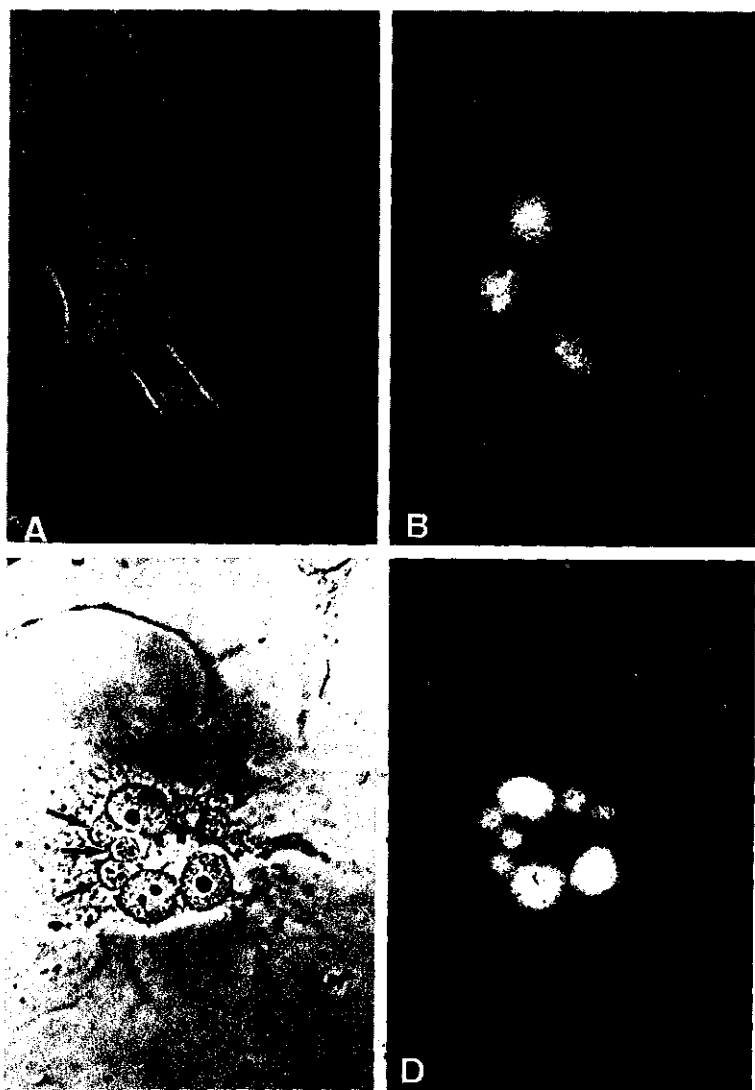


Fig. 9. De aanwezigheid van menselijke kerneiwitten in kippe-erythrocyten-kernen 72 uur na fusie met menselijke HeLa-cellen. Deze eiwitten werden aange-
toond door de cellen te kleuren met fluorescerende antilichamen tegen menselijke
kernplasma-antigenen. In gemengde culturen van menselijke HeLa-cellen en

delingscyclus het hoofdstuk van James). Deze inductie van de DNA-synthese wordt echter alleen waargenomen als de kippe-erythrocyt gefuseerd wordt met een celtype dat wel in staat is tot DNA-replicatie en celdeling. Vindt fusie plaats met bijvoorbeeld een macrofaag die wel RNA- maar geen DNA-synthese uitvoert, dan zal de reactivering van de kippekern zich beperken tot RNA-synthese (zie voor meer details Harris, 1970). Blijkbaar is de na fusie met HeLa-cellen optredende DNA-synthese in de kippekern een reactie op specifieke factoren in het HeLa-cytoplasma, die een rol spelen bij de regulatie van de DNA-synthese in de HeLa-cel.

Aanwijzingen in dezelfde richting werden verkregen uit experimenten waarin HeLa-cellen in verschillende fasen van de delingscyclus met elkaar werden gefuseerd (Rao & Johnson, 1970). Fusie tussen een cel in S-fase en een cel in de pré-synthetische G_1 -fase van de delingscyclus leidt tot DNA-synthese in beide kernen, waarbij de kern in G_1 -fase versneld overgaat in S-fase. Blijkbaar zijn er in het cytoplasma van een cel in S-fase factoren aanwezig die de DNA-synthese opwekken en vermoedelijk dringen deze de kern in G_1 -fase binnen. Fusie tussen een cel in S-fase en een cel in de postsynthetische G_2 -fase leidt echter niet tot een tweede ronde van DNA-synthese in de kern in G_2 -fase. Wel blijkt de kern in G_2 -fase met de deling te wachten tot de andere kern ook dit stadium heeft bereikt. Vervolgens gaan de kernen gelijktijdig in deling.

Niet in alle typen binucleaire cellen is deze wisselwerking, die tot synchronisatie van de delingscyclus leidt, waargenomen. Met name in heterokaryons met kernen afkomstig van verschillende species gaat vaak één kern over tot deling nog voor de partner dit stadium heeft bereikt. Deze deling gaat echter niet ongemerkt aan de tweede kern voorbij. Een vroegtijdige condensatie van het chromatine treedt op in de interfasekern, ongeacht het stadium waarin deze zich bevindt, de kernmembraan verdwijnt en er worden structuren aangetroffen die gelijke

kippefibroblasten (A) kleuren uitsluitend de menselijke kernen (B). In heterokaryons van HeLa-cellen met kippe-erythrocyten (C) treedt ook fluorescentie op in de kippekernen (D). De kippekernen zijn met pijlen aangegeven.

A en C zijn fasecontrast, B en D zijn fluorescentie-opnamen. (Afkomstig uit het onderzoek van Ringertz et al. (1971). Institute for Medical Cell Research and Genetics. Karolinska Institutet, Stockholm Zweden, en afgestaan door N. R. Ringertz.)



Fig. 10. Een hybride cel 1 uur na fusie van een delende HeLa-cel met een cel van de Indische muntjak in interfase. Vroegtijdige condensatie van het chromatine in de muntjak-kern heeft geleid tot de vorming van lange fijngestructureerde chromosomen. Deze chromosomen bestaan uit 1 filament aangezien de muntjak-kern op het moment van fusie in de G_1 -fase van de delingscyclus was. De korte, dikke chromosomen zijn afkomstig van de HeLa-cel. (Opname E. A. de Weerd-Kastelein, Afd. Celbiologie en Genetica, Erasmus Universiteit, Rotterdam.)

nis vertonen met zeer langgerekte, fijn gestructureerde chromosomen. Dit proces van vroegtijdige condensatie van chromosomen wordt ook waargenomen wanneer een cel in mitose wordt gefuseerd met een cel in interfase.

In figuur 10 is een cel afgebeeld die tot stand kwam door fusie tussen een HeLa-cel in mitose en een cel in G_1 -fase afkomstig van een cellijn van de Indische muntjak. De muntjak is een zoogdier met 6 of 7 chromosomen, het aantal is afhankelijk van het geslacht. De cel in deze figuur werd ongeveer 1 uur na fusie gefixeerd. Er heeft onmiddellijk condensatie van het chromatine in de muntjak-kern plaatsgevonden, waarbij zeer lange, uit één filament bestaande chromosomen werden gevormd. Bij fusie tussen een muntjak-kern in G_2 -fase met een HeLa-cel



Fig. 11. Zie figuur 10. De muntjak-kern was in dit geval in de G_2 -fase van de delingscyclus. Dit verklaart de opbouw uit 2 filamenten van de vroegtijdig gecondenseerde chromosomen.

in mitose worden chromosomen gevormd die uit 2 filamenten bestaan (fig. 11).

Uit dit onderzoek van o.a. Johnson & Rao (1970) blijkt, dat in het cytoplasma van een cel in mitose factoren aanwezig zijn die de celdeling op gang brengen. Men is thans bezig deze cytoplasmatische signalen te isoleren en te karakteriseren.

De nucleolus regelt het verkeer

Nog voor de moleculaire biologie de relatie tussen DNA, RNA en eiwit had beschreven, hadden Brachet en Caspersson omstreeks 1940 de aanwezigheid vastgesteld van RNA in de nucleolus. Autoradiografische experimenten toonden later aan, dat in de nucleolus een actieve RNA-synthese plaatsvindt. Dit RNA wordt vervolgens getransporteerd naar het cytoplasma. Een analyse van dit RNA bracht aan het licht dat het

hier voornamelijk gaat om rRNA.

De nucleoli blijken geassocieerd te zijn met bepaalde chromosomen en wel op specifieke plaatsen op deze chromosomen ('nucleolus organizer regions'). Bij de mens zijn dit de korte armen van de chromosomen 13, 14, 15, 21 en 22. Morfologisch zijn deze plaatsen te onderscheiden door de aanwezigheid van een insnoering (secondaire constrictie; de primaire constrictie is het centromeer). Zeer recent is door Henderson en medewerkers (1972) aangetoond, dat het DNA op deze specifieke plaatsen de genetische informatie bevat voor rRNA: Wanneer men onder bepaalde omstandigheden sterk radioactief rRNA aanbiedt aan gefixeerde microscopische preparaten, waarin de chromosomen van delende cellen goed gespreid zijn, blijkt na autoradiografie de radioactiviteit zich te concentreren in de nucleolus organizer regions (fig. 12). Men noemt dit in situ hybridisatie van DNA en RNA. Deze methodiek berust op het vermogen van nucleïnezuuren, die in de basevolgorde complementair zijn, zich op specifieke wijze aan elkaar te hechten. Een techniek, die bij moleculair biologisch onderzoek van nucleïnezuuren in oplossing veel wordt toegepast (Rörsch, 1966). Hiermee is de rol van de nucleolus in de synthese en het transport van rRNA duidelijk geworden. Het is lange tijd de vraag geweest of de nucleolus ook een rol speelt in het transport van andere typen RNA's, met name het mRNA. De groep van Harris heeft omstreeks 1970 met behulp van celhybridisatie laten zien dat dit ook voor mRNA geldt.

Zij onderzochten een mogelijke relatie tussen de vorming van nucleoli en de synthese van specifieke RNA's in de kippekern van het reeds besproken kippe-erythrocyt-HeLa-heterokaryon. Zoals wij reeds zagen (fig. 6 en 7) wordt in het cytoplasma van de HeLa-cel de daarin aanwezige erythrocytenkern geactiveerd, die nu weer met RNA-synthese begint. Na ongeveer 2 dagen worden in de kippekernen nucleoli aangetroffen en op dat tijdstip kan met autoradiografie transport van RNA uit de kippekern naar het HeLa-cytoplasma worden aangetoond. Tevens blijken dan voor het eerst kip-specifieke eiwitten door de hybride cel te worden gesynthetiseerd. Het lag voor de hand deze waarnemingen met elkaar in verband te brengen door te veronderstellen, dat de nucleolus ook op de een of andere manier betrokken is bij het transport van RNA, dat de informatie draagt voor de synthese van specifieke eiwitten.

De hypothese werd bevestigd door het volgende experiment (Deak et al., 1972). Kippe-erythrocyten werden gefuseerd met muizecellen,



Fig. 12. Hybridisatie in situ van radioactief rRNA met op specifieke wijze voorbehandelde en gefixeerde menselijke chromosomen. Met autoradiografie wordt de radioactiviteit teruggevonden op de 'nucleolus organizer regions' van de korte armen van de D- en G-chromosomen van de mens. (Opname uit het onderzoek van H. J. Evans, R. Buckland en M. L. Pardue, en afgegaan door H. J. Evans, MRC Clinical and Population Cytogenetics Unit, Western General Hospital, Edinburgh).

die door een mutatie niet in staat waren het enzym hypoxanthine-guanine-fosforibosyl transferase (HGPRT) te maken. Dit enzym is noodzakelijk voor de inbouw van hypoxanthine en guanine in de nucleïnezuren van de cel (zie ook p. 71). Radioactief gemerkt hypoxanthine werd door deze muizecellen dus niet ingebouwd. De na fusie gevormde kip-muis-heterokaryons bleken radioactief hypoxanthine in te bouwen zodra de kippekernen nucleoli gevormd hebben. Op dat moment was dus het HGPRT-locus van de kip actief geworden en werd het kip-RNA, dat codeert voor het enzym, gesynthetiseerd. Wanneer de nieuw gevormde nucleoli in de kippekernen met een ultraviolet 'micro beam' werden uitgeschakeld, verminderde de inbouw van radioactief hypoxanthine. De aanwezigheid van de nucleoli in de kippekernen is noodzakelijk voor de synthese van het kippe-HGPRT. Ook

voor de synthese van andere kip-specifieke eiwitten (o.a. oppervlakte-antigenen, eiwitten op het buitenoppervlak van de cel) bleek de aanwezigheid van nucleoli in de kippekern een vereiste. Dit betekent, dat de nucleolus niet alleen het transport reguleert van RNA dat in de nucleolus organizer regions wordt gesynthetiseerd, maar dit ook doet voor RNA gemaakt op andere plaatsen in het genoom. Hieruit blijkt, dat de nucleolus opgevat kan worden als een celorganel dat een algemene controle kan uitoefenen op de stroom van genetische informatie vanuit genoom naar cytoplasma.

De constructie van nieuwe celtypen

Voor het onderzoek naar de samenwerking tussen genoom en cytoplasma m.b.t. de genexpressie is de aanwezigheid van twee genomen (en in feite ook twee cytoplasma's) na celfusie een extra complicatie. Recent is een methode beschreven, waarmee het mogelijk is kernen in grote aantallen uit hun cytoplasma te verwijderen, waarna d.m.v. celfusie nieuwe kernen van andere cellen in deze cytoplasma's kunnen worden ingevoerd. De methode berust op een merkwaardig effect van de stof cytochalasine B, die wordt geïsoleerd uit de schimmel *Helminthosporium dematioidum*. Wanneer in vitro gekweekte cellen, die vastzitten op de bodem van een kweekvatje, worden behandeld met deze stof, komt de celkern te liggen in een lange cytoplasmatische uitloper, die nog met een nauwe buis vastzit aan het resterende cytoplasma. Deze verbinding kan gemakkelijk worden verbroken waarbij enerzijds kernloze cytoplasma's achterblijven op het kweekvatje en anderzijds een suspensie wordt verkregen van kernen omgeven door een celmembraan.

Inmiddels hebben verschillende onderzoekers aangetoond dat het mogelijk is op deze wijze verkregen kernsuspensies afkomstig van een bepaalde cellijn te fuseren met kernloze cytoplasma's van een andere lijn. Er ontstaat dus een cel met het genoom van het eerste celtipe en het cytoplasma van het tweede. In een serie experimenten uitgevoerd door de groep van Ringertz, waarin men kippe-erythrocyten fuseerde met kernloze cytoplasma's van muizefibroblasten (fig. 13) bleek het proces van reactivering van de kippekern, zoals reeds werd beschreven eveneens op te treden. De kerneiwitten die tijdens de reactivering in de kippekern, o.a. in de nucleolus, terechtkomen en identiek zijn aan de HeLa-kerneiwitten, worden ook nu aangetroffen. Hieruit blijkt dat

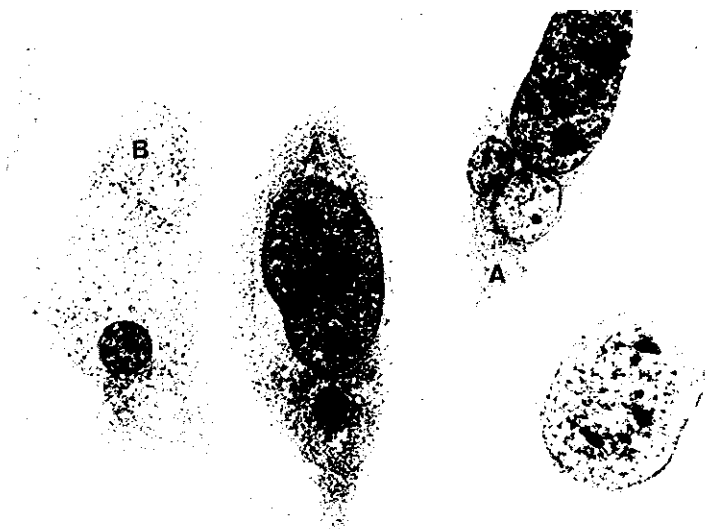


Fig. 13. Kippe-erythrocyten-kernen in kernhoudende (cel A) en kernloze (cel B) muizefibroblasten na fusie. De kernloze cel werd verkregen door behandeling met cytochalasine B. (Opname uit het onderzoek van T. Ege, J. Zeuthen en N. R. Ringertz, Institute for Medical Cell Research and Genetics, Karolinska Institutet, Stockholm, Zweden, en afgestaan door N. E. Ringertz.)

het cytoplasma beschikt over een voorraad van specifieke kerneiwitten, of althans in staat is ze zelfs in afwezigheid van de HeLa-kern in voldoende hoeveelheid te maken om de kippekern te kunnen reactiveren.

Met deze methodiek is vermoedelijk een nieuwe ontwikkeling op gang gebracht, die van grote betekenis kan worden bij het onderzoek naar de rol van cytoplasmatische signalen bij de regulatie van de gen-expressie.

Interacties tussen virus en cel

J. C. H. DE MAN

Inleiding

Men kan de werking van virussen op verschillende niveaus beschrijven:

- op het niveau van het organisme,
- op het niveau van cellen en de moleculaire mechanismen van de cel (interactie tussen virus en cel).

Gezien de bijzondere betekenis die de tumorvirussen (oncogene virussen) hebben voor de celbiologie, zal de nadruk vallen op deze DNA- en RNA-virussen. Verschijnselen zoals die voorkomen bij niet-oncogene virussen zullen slechts terloops besproken worden voor zover zij van betekenis zijn voor een beter begrip van de processen bij interactie tussen virus en cel. Beknopt zullen de verschijnselen van virus-infectie in het organisme worden besproken, waarna vervolgens de interactie tussen DNA-virus respectievelijk RNA-virus en de cel aan de orde zullen worden gesteld.

De meeste virussen kan men beschrijven als bolvormige tot langwerpige deeltjes die sterk in grootte kunnen variëren. De kleinste virussen meten ongeveer 20 nm, de grootste virussen (bijvoorbeeld pokkenvirus) ongeveer 150×200 nm.

Virussen zijn in het algemeen opgebouwd uit een drager van de genetische eigenschappen, hetzij een RNA- of een DNA-molekuul (fig. 1). Deze molekulen zijn omhuld door een aantal eiwitten: het kapsel (capside). Het rijpe, potentieel infectieuze deeltje wordt virion genoemd. Op grond van het voorkomen van RNA of DNA in virussen worden zij onderscheiden in RNA- en DNA-virussen. RNA-virussen worden aan de buitenzijde nog bekleed door een membraan, die afkomstig is van de oppervlakte van de cel waarin de virusdeeltjes gerijpt zijn. DNA-virussen hebben niet altijd een dergelijke membraan. Bij verschillende van deze virussen komen de rijpe virusdeeltjes vrij bij het lytisch ten gronde gaan van de gastheercellen. Voorbeelden hiervan zijn: de

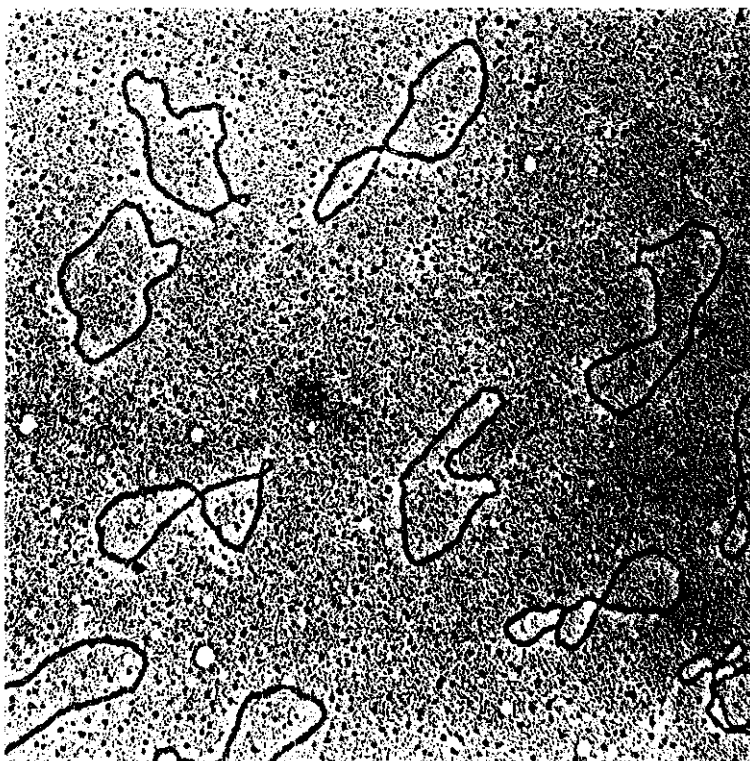


Fig. 1. DNA-loops die zijn geïsoleerd uit SV₄₀-virus. Vergroting 45.000 ×. (Opname A. J. van der Eb, Leiden).

adenovirussen en de virussen van de papova-groep (*papilloma*, *polyoma* en *vacuolating agent* — Simian Virus SV₄₀; fig. 2).

De bouw en samenstelling van de verschillende virussen is zeer uiteenlopend. Het is niet nodig om hier nu uitvoerig op in te gaan en we hebben ons dan ook beperkt tot de beschrijving van die elementen, die van betekenis zijn in dit hoofdstuk. Bacterievirussen (bacteriofagen) zullen niet worden besproken; de aandacht zal zich beperken tot de interactie tussen virus en eukaryote cel, waarbij de nadruk zal vallen op de interessante effecten van infectie met DNA- en RNA-tumorvirussen.

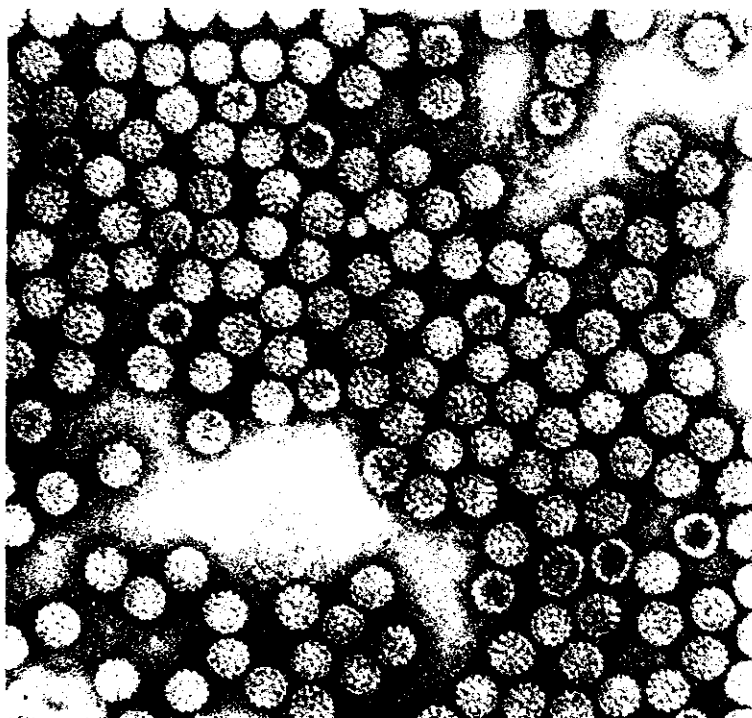


Fig. 2. Geïsoleerde polyomavirusdeeltjes. Negatief kleuring, fosforwolframaanzuur. Vergroting 145.000 $\times$. (Opname A. J. van der Eb, Leiden.)

Virusinfectie op het niveau van het organisme

Virussen kunnen zichzelf niet verplaatsen. Wanneer zij door een organisme zijn opgenomen, kunnen zij slechts passief getransporteerd worden, zoals door het bloedplasma. Op de plaats waar virusdeeltjes het organisme zijn binnengekomen kan een lokale weefselbeschadiging ontstaan, maar anderzijds ook een algemene infectie met aantasting van één of meer organen, zogenaamde 'target'-organen.

Na de eerste vermeerdering van het virus in de cellen van het weefsel waarin het virus naar binnen is gekomen (huid, maagdarmkanaal, luchtweg) en verstrooiing door de bloedbaan (viraemie geheten) kunnen de virusdeeltjes nu andere organen bereiken, zoals lever, milt, long,

beenmerg of lymfklieren. Hier heeft nu virusvermeerdering plaats die wederom tot viraemie leidt. Gedurende dit hele proces, incubatietijd genoemd, treden celdegeneratie en necrose waarschijnlijk slechts in geringe mate op. Pas wanneer de secundaire viraemie in sterkte toeneemt, kunnen symptomen zich voordoen, zoals het rode exantheem bij mazelen. Waarschijnlijk neemt het specifieke immunologische reactievermogen van het organisme tegen het binnengedrongen virus tijdens deze periode toe. Dit heeft tot gevolg dat de virusproducerende cellen door circulerende antilichamen en door een 'cell mediated immune response' (zie Weiser et al., 1970) van lymfocyten vernietigd worden, waarbij een grote hoeveelheid virus vrij kan komen. Necrose van de cellen die virus produceren in de 'target-organen' kan dus deels een gevolg zijn van de virusvermenigvuldiging zelf die ten koste van de cel gaat, maar ook kan deze een gevolg zijn van de reactie van het gastheerorganisme.

Voor het verkrijgen van inzicht in de pathogenese van virusinfecties op het niveau van het organisme is derhalve vereist, dat men een aantal factoren hierin betreft:

- de wijze waarop virusvermenigvuldiging op de plaats waar het virus binnendringt het weefsel beschadigt,
- de wijze waarop het weefsel wordt beschadigd na algemene uitzaaïing van het virus en infectie van de target-organen.
- de wijze waarop vermeerdering en verspreiding van het virus, en de geïnfecteerde cellen beïnvloed worden door de reactie van de gastheer.

Viraemie kan in sommige gevallen overdracht van het virus van de moeder op de eikel en de vrucht veroorzaken, hoewel de placenta een goede barrière vormt. Deze overdracht kan bijvoorbeeld optreden wanneer de moeder gedurende de zwangerschap rode hond heeft gehad en bij het kind congenitale misvormingen veroorzaken. Blijkbaar zijn gedurende de organogenese van de vrucht bepaalde organen verhoogd gevoelig voor infectie met dit gewoonlijk betrekkelijk goedaardige virus.

Men kan in het algemeen zeggen, dat infecties die voornamelijk lokale verschijnselen geven op de plaats waar het virus is binnengekomen, meestal een korte incubatietijd hebben (influenza en verkoudheid); infecties die verschijnselen geven met een meer algemeen karakter (mazelen en rode hond) hebben langere incubatieperiodes. Uiterst lange incubatieperiodes bij zogenaamde 'slow virus'-infecties in het zenuwstelsel en infecties met tumorvirussen (bijvoorbeeld muizen-leucaemie-

virus) zijn moeilijk te verklaren. Men vermoedt dat niet zozeer de reactiviteit van het gastheerorganisme een rol speelt bij het zich openbaren van de verschijnselen, maar veeleer de permanent veranderende toestand van de geïnfecteerde cellen.

Interactie tussen DNA-virus en cel

Initiatiefase en rijpingsfase

Virussen kunnen zich niet buiten de cel vermeerderen. Wel hebben zij de mogelijkheid om na te zijn binnengedrongen de syntheseprocessen van de cel te richten op vermeerdering van virusdeeltjes. Het grondbeginsel van de virusinfectie is de interactie tussen het nucleïnezuur van het virusdeeltje en de cel. Hierbij wordt het nucleïnezuur van het virus als het ware binnen het omhulsel van virusdeeltje binnengesmokkeld. Dit omhulsel wordt tijdens de eerste fase van de infectie geleidelijk verwijderd, waarna de genetische informatie die zich in het nucleïnezuurmolekuul bevindt tot expressie kan komen.

De analyse van de processen die plaats hebben tijdens een virusinfectie heeft geleid tot een verklaring van de verschillende virusfuncties op moleculair, genetisch en cellulair niveau. De laatste 10 tot 15 jaar is veel kennis verkregen over de fysische en chemische eigenschappen van zowel virussen als cellen. Men vond, dat in principe alle functies van cellen die toegankelijk zijn voor chemische, fysische en genetische analyse kunnen worden beïnvloed door het introduceren van modificaties die door een binnengedrongen virus worden gespecificeerd.

Men onderscheidt in het infectieproces een tweetal fasen: de initiatiefase en de rijpingsfase. Alle gebeurtenissen die plaatshebben vanaf het moment dat een virusdeeltje zich tegen het celoppervlak aanlegt en door de cel wordt opgenomen, tot het moment waarop het vrijgekomen intacte nucleïnezuur op de voor de replicatieprocessen geschikte plaats in de cel is aangekomen, valt men samen als de initiatiefase.

In de daarop volgende fase, de rijpingsfase, wordt het gedrag van de cel voor een belangrijk deel door de aanwezigheid en activiteit van virusgenen bepaald. In deze fase worden nieuwe viruscomponenten gesynthetiseerd met het virusgenoom als informatiebron (virusvermenigvuldiging of multiplicatie). Hierbij is de replicatie van het virusgenoom van belang. Deze fase wordt afgesloten met de assemblage van

virusdeeltjes uit de componenten.

De hier geschetste indeling is enigszins geschematiseerd. Er zijn verschillen in de wijze waarop de gebeurtenissen plaatshebben en ten aanzien van de plaats in de geïnfecteerde cel waar deze zich afspelen. Wanneer de initiatiefase succesvol volbracht is, behoeft ook niet altijd een replicatie en assemblage te volgen.

De associatie van het virus met de cel kan op twee manieren beschreven worden:

- Het virusgenoom kan in het gastheercelgenoom geïntegreerd worden waarna zij gezamenlijk repliceren. Gewoonlijk produceert de cel in zulke gevallen geen infectief virus. Door deze 'mutatie' in het genetisch materiaal van de cel kan de cel 'getransformeerd' zijn, dit wil zeggen dat er een stabiele verandering in het biologisch gedrag van de cel is ingetreden, ook in de nakomelingen.

- Het virusgenoom kan onafhankelijk van het DNA van de gastheer repliceren als een zogenaamd 'vegetatief virus' waarbij nieuwe virionen geproduceerd worden. Hierbij hebben dus in de meeste gevallen de gebeurtenissen plaats zoals bij de initiatiefase en rijpingsfase. Bij zo'n vegetatieve infectie kan bij het vrijkomen van rijpe virusdeeltjes de cel lytisch ten gronde gaan. Anderzijds komt het ook voor dat tijdens de virusinfectie de essentiële celfuncties behouden blijven en er een toestand van evenwicht intreedt, waarin virusmultiplicatie en celdeling onafhankelijk plaatsvinden.

Productieve infectie met DNA-virus

Het is niet de bedoeling hier een overzicht van alle DNA-virussen en hun werking op de geïnfecteerde cellen te geven. Slechts die aspecten zullen aan de orde komen, waaraan de interactie tussen virus en cel het duidelijkst is te illustreren. Vooralsnog zijn dit de toestanden van celtransformatie, zoals die door infectie met de oncogene DNA-virussen veroorzaakt worden. Bij het trekken van conclusies uit proeven moet men wel bedenken dat de uniformiteit en het synchroon lopen van gebeurtenissen tijdens de infectie kunstmatig tot stand zijn gebracht. Bij de infectie worden meestal abnormaal grote hoeveelheden virusdeeltjes gebruikt en tevens worden alleen die gastheercellen gebruikt waarin met succes de virusmultiplicatie ook in vitro uitgevoerd kan worden. Geheel anders kan de loop van de infectie zijn bij natuurlijke, in vivo omstandigheden, waarbij meestal een klein aantal virusdeeltjes betrokken

is. De mate van succes van de infectie blijkt bovendien afhankelijk te zijn van een groot aantal variabelen, waaronder verschillen in genetische of fysiologische competentie van de geïnfecteerde cellen, kinetiek van de adsorptie van het virus aan de cel en de snelheid van de ont kapseling van het virus binnen de cel.

Adsorptie en opname van virus is met behulp van de elektronenmicroscopie bestudeerd aan infecties met grote DNA-virussen, zoals vacciniavirus (200 nm) en adenovirus (70 nm) (Dales, 1962), en aan de kleine DNA-virussen SV₄₀ en polyoma (40–50 nm) door Fraser & Crawford (1965). Voor adenovirus werd aangetoond dat het zich hecht aan het celoppervlak en vervolgens wordt gefagocyteerd. Kort na de opname door de cel begint bij adenovirus het proces van ont kapseling, dat gepaard gaat met de vermindering van het aantal infectieve virusdeeltjes. Tenslotte penetreren de virusdeeltjes in de kern, waarin de ont kapseling wordt voltooid. Naarmate het aantal nog wél infectieuze deeltjes tijdens de infectie afneemt, neemt het aantal met de cel geassocieerde en niet meer infectieuze deeltjes toe. Welke factoren de adsorptie aan de cel en het transport binnen de cel mogelijk maken is niet bekend. Evenmin is bekend welke factoren leiden tot de definitieve ont kapseling van de deeltjes.

Niet bij alle DNA-virussen heeft het multiplicatieproces in de kern van de geïnfecteerde cel plaats. Vacciniavirus bijvoorbeeld multipliceert in het cytoplasma. Morfologisch tonen het adsorptieproces en het transport binnen het cytoplasma overeenkomsten met dat van het adenovirus. De DNA-replicatie is hierbij gelokaliseerd in een elektronenmicroscopisch goed herkenbaar deel van het cytoplasma, de zogenaamde 'factory' (Dales, 1963) (fig. 3).

Transcriptie en eiwitsynthese De aanwezigheid van virusnucleïne-zuren binnen de cel kan de synthese van specifieke eiwitten tot stand brengen via transcriptie en translatie. Verschillende van deze eiwitten kunnen op grond van hun antigene eigenschappen herkend worden. Hierbij onderscheidt men:

- de componenten die wél in de nieuwe virusdeeltjes ingebouwd zullen worden en
- de componenten die niet in de nieuwe virusdeeltjes aantoonbaar zijn.

Tot deze laatste categorie, die reeds vroeg tijdens de infectie geïndu-

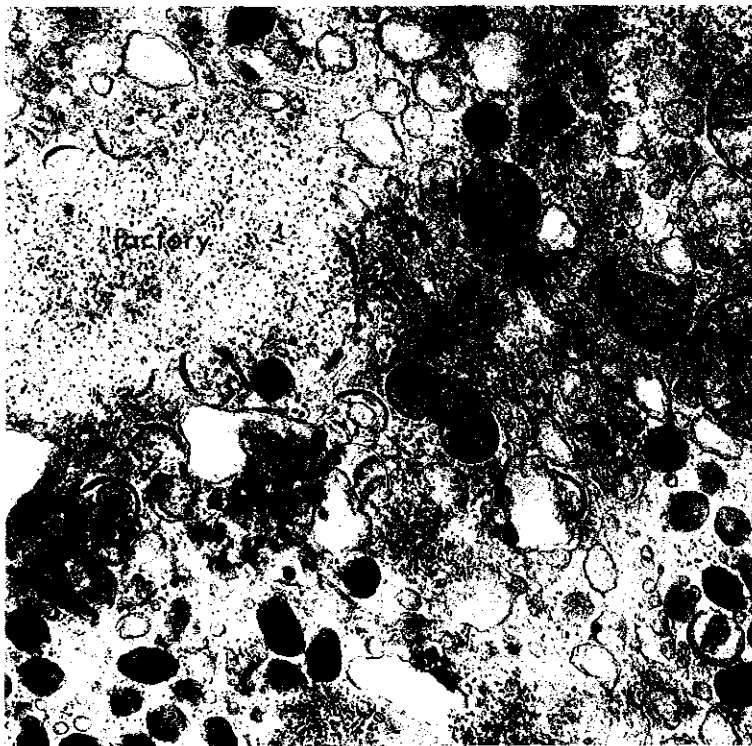


Fig. 3. Een door vaccinia-virusgeïnfecteerde cel. Duidelijk zichtbaar zijn een 'factory' en eiwitschillen in het cytoplasma. De vorming van een tweetal deeltjes is aangegeven met een pijl. Vergroting 28.000 $\times$.

ceerd wordt, behoren de zogenaamde T(umor)-antigenen. Deze worden door sommige adenovirussen, het SV₄₀ en het polyomavirus geïnduceerd. T-antigenen zijn met behulp van immunofluorescentie aan te tonen in de kern (fig. 4). Over de functie van T-antigenen tijdens de infectie is niets bekend. Aangenomen wordt, dat het T-antigeen in het cytoplasma wordt gesynthetiseerd en zich vervolgens naar de kern verplaatst. Behalve deze 'vroeg' antigenen (waarvan de synthese vroeg na de infectie plaatsvindt) worden andere antigenen gevonden die 'laat' na het begin van de infectie aantoonbaar zijn en die beschouwd kunnen worden als structuureiwitten van het virus. Deze structuureiwitten zijn, nog vóór zij in virusdeeltjes ingebouwd worden, herkenbaar op grond



Fig. 4. SV₄₀-T-antigeen wordt aangetoond in de kernen van door dit virus getransformeerde cellen met behulp van immunofluorescentie.

van hun antigene eigenschappen. Het is duidelijk, dat de synthese van virusspecifieke eiwitten slechts door tussenkomst van virusspecifiek mRNA tot stand kan komen.

Met behulp van de nu algemeen gebruikte moleculaire hybridisatie-technieken (niet te verwarren met cel-hybridisatie, zie het hoofdstuk van Bootsma) heeft men reeds enkele jaren geleden in geïnfecteerde cellen de aanwezigheid van RNA-molekulen met een homologie in de basevolgorde met het DNA van het infecterende virus kunnen aantonen. Op grond van dit soort experimenten heeft men verder aanmerkelijk kunnen maken, dat de aard van de gesynthetiseerde RNA-molekulen niet gedurende de gehele infectiecyclus gelijk is. Bij de kleine DNA-virussen heeft transcriptie van ongeveer 30% van het virus-genoom vroeg na de infectie plaats, op late tijdstippen van het gehele genoom. De verschuiving van de synthese van vroege naar late RNA-

molekulen heeft plaats ongeveer op het tijdstip dat de replicatie van het virus-DNA gaat beginnen. Het is niet bekend welke factoren deze verschuiving veroorzaken. Er zijn een aantal mogelijkheden:

- Door het verwijderen van een aantal eiwitmolekulen die nog aan het virus-DNA gebonden waren, worden nieuwe delen van het virus-genoom opgelegd voor transcriptie.
- Een nieuw type DNA-afhankelijk RNA-polymerase wordt gesynthetiseerd of een reeds aanwezig polymerase van de gastheer cel wordt gemodificeerd, zodat dit enzym nu transcriptie van nieuwe stukken van het virusgenoom kan veroorzaken. Dit is mogelijk wanneer het gemodificeerde enzym in staat is om de 'promotor site' voor de late genen op het DNA-molekuul van het virus te herkennen.
- Laat mRNA wordt weliswaar gedurende de gehele cyclus gesynthetiseerd, maar de molekulen worden in het begin van de infectiecyclus afgebroken zonder dat translatie heeft plaatsgevonden. Dit betekent, dat men tevens moet aannemen dat de oorzaak van de verschuiving van de synthese van vroege naar late eiwitten moet worden gezocht bij de translatie en niet bij de transcriptie (Sambrook, 1972). Waarschijnlijk wordt het virusspecifieke mRNA op dezelfde wijze door de cel getransporteerd van de kern naar het cytoplasma als het mRNA van de gastheer cel zelf.

Synthese van virus-DNA De activiteit van enzymen die betrokken zijn bij de synthese van nieuw DNA (DNA-polymerasen) neemt toe vanaf het begin van de infectie. Waarschijnlijk berust deze toename op de synthese van nieuwe enzymmolekulen. In sommige celtypen gaat de synthese van het virus-DNA samen met de synthese van DNA van de gastheer cel; hierop volgt dan echter geen celdeling.

De meeste DNA-virussen voeren binnen het virus-deeltje geen polymerasemolekulen mee. Een uitzondering wordt gevormd door vaccinia-virus, dat o.a. een DNA-afhankelijke RNA-polymerase bevat. Het betrekkelijk kleine aantal genen (5-9) van de kleine DNA-virussen, zoals SV₄₀ en polyoma, laat niet toe dat alle enzymen die nodig zijn voor de replicatie en transcriptie van het DNA door het virus zelf gespecificeerd worden. Waarschijnlijk wordt daarom voor de transcriptie gebruik gemaakt van de DNA-afhankelijke RNA-polymerase van de gastheer cel, terwijl het virus de synthese van gastheerenzymen die betrokken zijn bij de DNA-synthese induceert. Het mechanisme van deze inductie is niet bekend.

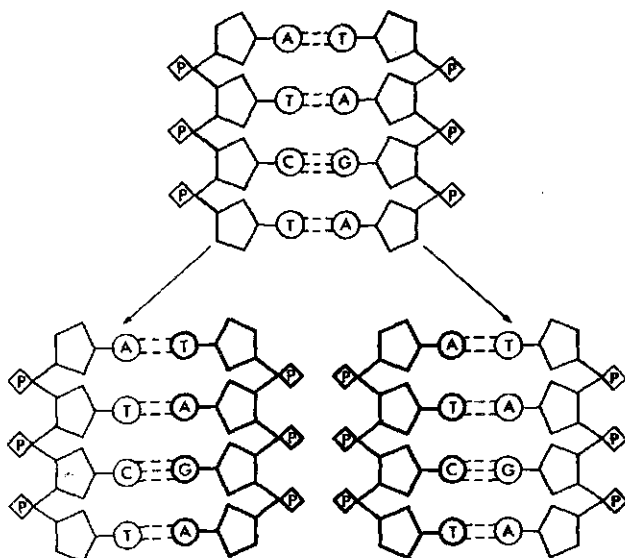


Fig. 5. Schema semi-conservatieve DNA-replicatie.

De replicatie van het virus-DNA (Van der Eb, 1973) geschiedt volgens het bekende semi-conservatieve principe (fig. 5; zie ook Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966, p. 11-15). De DNA-synthese start bij SV₄₀ en polyoma op het tijdstip dat de activiteit van de bij de DNA-synthese betrokken enzymen maximaal is, en deze synthese wordt tot het einde van de infectiecyclus voortgezet. Op het moment dat de DNA-synthese van het virus begint, ontstaan veranderingen aan het celoppervlak, waardoor de cellen onder invloed van plantaardige agglutinen gaan agglutineren (samenklonteren) onder omstandigheden waaronder normale cellen dit niet doen. Een dergelijk verschijnsel wordt gevonden bij getransformeerde cellen; hier komen we later nog op terug.

Virusassemblage Wanneer in de cellen de benodigde bouwstenen voorhanden zijn kan tot de synthese van kapsleenheden overgegaan worden, waarna de virusdeeltjes worden samengesteld: geassembleerd. Wij weten bijna niets omtrent de wijze waarop dit proces verloopt. Ten aanzien van de kleine DNA-virussen heeft men wel overwogen, dat het

gevormde virus-DNA verpakt wordt in van tevoren samengestelde hulzen, die opgebouwd zijn uit kapsleiwitten.

De groepering van schillen rondom de factories, waarin DNA gesynthetiseerd wordt in door vaccinia geïnfecteerde cellen, suggereert de mogelijkheid dat ook hier een soortgelijk proces plaats heeft (fig. 3). Naarmate de virusvermeerdering haar hoogtepunt nadert wordt bij infectie met sommige DNA-virussen de synthese van macromolekulen, zoals RNA, DNA en eiwit, van de gastheercel zelf geremd. Deze remming heeft wél plaats na infectie met adenovirus, maar bijvoorbeeld niet bij infectie door SV₄₀ of polyomavirus. In dit laatste geval heeft de onderzoeker te maken met een aanzienlijk 'ruis': de identificatie van de door het virus gecodeerde eiwitten moet worden uitgevoerd in een systeem waarin naast de synthese van de virusspecifieke eiwitten de synthese van allerlei door de gastheercel zelf gecodeerde eiwitten plaatsvindt. Om deze reden zijn meestal slechts de eiwitten die in grote hoeveelheden voorkomen (zoals kapsleiwitten) geïdentificeerd.

Wanneer het nieuw gevormde virus aantoonbaar wordt (fig. 6), komt dit virus vrij en kan na enige tijd de cel lytisch ten gronde gaan.

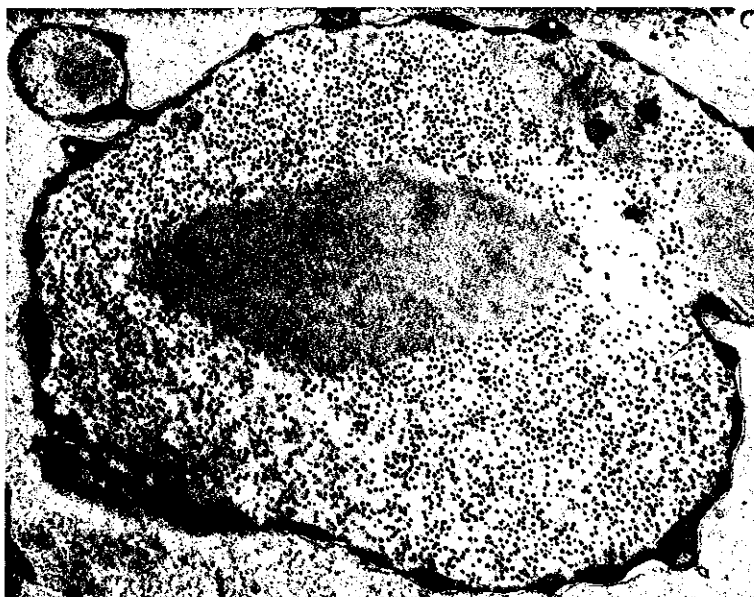


Fig. 6. Kern van een door adenovirus-5 geïnfecteerde KB-cel. Vergroting 7.000 $\times$.

Transformatie door virus veroorzaakt

Bij de interactie tussen DNA-virus en cellen, die tot produktie van nieuw virus en lysis van de cel leidt, wordt in veel gevallen gebruik gemaakt van in de geïnfecteerde cellen aanwezige enzymen en mechanismen voor de eiwitsynthese. De cellen laten de vorming van alle virusfuncties toe; de cellen zijn 'permissive' (gevoelig). In een aantal gevallen komt de cel niet tot produktie van nieuw virus, dan spreken we van 'non-permissive' cellen.

Abortieve en stabiele transformatie

Het is gebleken dat er cellen voorkomen die wél virus opnemen, waarna DNA-synthese geïnduceerd wordt, T-antigeen ontstaat en de cellen een verandering in agglutineerbaarheid tonen, maar waarin nauwelijks virus-DNA molekulen en geen viruskapsels gesynthetiseerd worden. Opvallend is, dat de cellen tot deling worden aangezet, zich vervolgens gedurende enkele generaties als getransformeerde cellen gedragen, maar na enkele generaties tot hun oorspronkelijke fenotype terugkeren. Men spreekt dan van 'abortieve transformatie'. Het voorkomen van T-antigeen, de veranderde agglutineerbaarheid van de abortief getransformeerde cellen en de inductie van DNA-synthese wijzen er op, dat het virusgenoom in de cellen aanwezig is. Dit wordt des te meer duidelijk door de aanwezigheid van virusspecifiek RNA in de cellen. Geleidelijk echter verdwijnen al deze verschijnselen, maar hoewel de cellen wederom een normaal fenotype aannemen kunnen zij desondanks gedurende vele generaties nog kopieën van virus-DNA herbergen. Het is niet bekend in welke toestand dit virus-DNA in de cel aanwezig is en welke factoren het daar handhaven.

In abortief getransformeerde celpopulaties komen subpopulaties voor die stabiel getransformeerd blijken te zijn. Het is aantrekkelijk om te veronderstellen dat het virusgenoom in dit geval van een episomale toestand is overgegaan naar een stabiele integratie in het celgenoom.

Transformatie wordt gedefinieerd als een stabiele verandering in het biologisch gedrag van de cellen, ook in de nakomelingen.

Niet alle virusfuncties die nodig zijn voor de lytische infectie spelen een rol bij transformatie. Men kan zich infecties tussen virus en cel voorstellen, waarbij geen virusvermeerdering maar wel transformatie ontstaat. Toch is transformatie bij virusinfectie een door het virus ge-

induceerde toestand van de cellen, want bestraald virus verliest het vermogen tot transformeren, terwijl er virusmutanten bekend zijn die evenmin kunnen transformeren.

Door getransformeerde cellen te reïmplanteren in het dier waarvan de oorspronkelijke cellen afkomstig zijn, kan in sommige gevallen aangetoond worden dat de cellen de eigenschappen van tumorcellen gekregen hebben; deze cellen gedragen zich nu als kankercellen. Zij vertonen het verschijnsel van 'infiltratieve groei', zij kunnen uitzaaïen naar andere organen, en tenslotte kan de groei van deze veranderde cellen leiden tot de dood van het individu. In weefselkweek kunnen cellen transformeren onder invloed van chemische, carcinogenen en uiteraard door infectie met DNA- en RNA-oncogene virussen. Ook spontane transformatie komt voor.

Getransformeerde cellen vertonen een aantal opvallende verschijnselen, die nu besproken zullen worden. Cellen die door DNA-virus of RNA-tumovirus getransformeerd zijn hebben een aantal kenmerken gemeen. Deze kenmerken zullen daarom bij de bespreking van infectie door RNA-tumovirus niet opnieuw aan de orde gesteld worden.

Kenmerken van getransformeerde cellen

Cellen onttrekken zich aan de regulatie van de celdeling In normale cel-populaties wordt de celdeling door nog grotendeels onbekende factoren geregeld. Getransformeerde cellen onttrekken zich soms aan deze regulatie en hierdoor worden aanzienlijk hogere verzadigingsdichtheden bereikt waardoor dichte celkolonies ontstaan. Gedeeltelijk is dit een gevolg van het verlies van de contactinhibitie van groei. Daarnaast spelen een aantal andere factoren een rol, zoals de pH van het medium en de aanwezigheid van groeibevorderende stoffen in het toegevoegde serum aan de cellen.

Deze verschijnselen zijn mogelijkterwils toe te schrijven aan een verlagening van het gehalte aan cyclisch AMP (cAMP) in de getransformeerde cellen. Door toevoeging van het dibutyryl cAMP of door de werking van remmers van het 3', 5' cyclisch fosfodiesterase, dat in de cel het cAMP afbreekt, wordt de ongeremde groei van cellen in weefselkweek tegengegaan. Tevens zijn er aanwijzingen, dat het enzym adenocyclase (dat voor de omzetting van ATP in cAMP zorgt) in door polyomavirus getransformeerde cellen minder actief is (zie het hoofdstuk van Konijn).

Het voorkomen van virus-RNA in getransformeerde cellen Wanneer cellen getransformeerd zijn, produceren zij weinig of geen virus. Virusproductie en transformatie sluiten elkaar uit als het ware. Toch is het virusgenoom in de cellen aanwezig en wordt virusspecifiek mRNA gesynthetiseerd. Weinig is bekend omtrent de aard van deze RNA-molekulen. Er werd wel geconstateerd dat virusspecifieke RNA-molekulen die voorkomen in de kern van getransformeerde cellen groter zijn dan die in het cytoplasma (Lindberg & Darnell, 1970). Er zijn aanwijzingen dat deze 'kern-RNA'-molekulen het karakter hebben van de vroege RNA-molekulen van de lytische infectie, die wellicht achter elkaar in het molekuul gerangschikt zijn. Aan dit virusspecifieke RNA blijkt echter tevens gastheer-RNA gebonden te zijn, zodat gastheer-RNA en virus-RNA in één molekuul kunnen voorkomen. In polyribosomen in het cytoplasma daarentegen, komt SV₄₀-specifiek RNA voor dat uitsluitend met virus-DNA hybridiseert (Wall & Darnell, 1971). Kennelijk wordt tijdens het transport van kern naar cytoplasma gastheer-RNA van het virus-RNA afgesplitst, een verschijnsel dat van belang kan zijn voor het verkrijgen van meer inzicht in de vorming van mRNA in de dierlijke cel.

De aanwezigheid van virus-DNA in getransformeerde cellen werd voor de eerste maal aangetoond met behulp van technieken met moleculaire hybridisatie door Westphal & Dulbecco (1968). Zij gebruikten een sterk radio-actief gemerkt RNA dat in vitro door tussenkomst van *Echerichia coli*-polymerase op DNA-molekulen van SV₄₀ en polyomavirus gesynthetiseerd was. Dit RNA werd gebruikt om in het DNA van getransformeerde cellen de passende sequenties van virus-DNA op te sporen. Uit deze en andere experimenten met hybridisatietechnieken (Gelb et al., 1971) blijkt dat in getransformeerde cellen 1 tot 3 kopieën van het virusgenoom aanwezig zijn.

Men stelt zich voor, dat in het circulaire DNA-molekuul van SV₄₀ en polyomavirus (fig. 1) basesequenties voorkomen die homoloog zijn met stukjes DNA van de gastheer cel. De aanwezigheid van deze homologe stukjes zou de voorwaarde zijn voor integratie van virus-DNA in het genoom van de gastheer.

Het winnen van infectieus virus uit getransformeerde cellen Hoewel met behulp van biochemische methoden aangetoond kan worden dat het virusgenoom in de getransformeerde cellen aanwezig is en dat

transcriptie van dit genetisch materiaal tot stand kan komen, hoeft dit nog niet te betekenen dat het geïntegreerde virusgenoom ook werkelijk compleet is. Hiertoe mag men pas besluiten als uit de getransformeerde cellen infectieus virus kan worden gewonnen. Met SV₄₀ lukt dit redelijk door cellen die door het virus getransformeerd zijn, samen te kweken met permissive cellen, of beter nog door heterokaryon-vorming na celfusie (zie het hoofdstuk van Bootsma). De opbrengst aan virus is in het algemeen laag: de meeste door SV₄₀ getransformeerde cellijnen geven bij deze behandeling het virus af, andere behandelingen doen dit zelden en weer andere in het geheel niet, ondanks het feit dat de cellen het virus-DNA bevatten en het T-antigeen aantoonbaar is. Een mogelijke verklaring is, dat de permissive cellen waarmee cocultivatatie of celfusie uitgevoerd wordt de factoren leveren die de virusexpressie mogelijk maken en die in de getransformeerde cellen ontbreken. Wanneer ondanks cocultivatatie de viruswinning niet mogelijk is, moet men aannemen dat de transformatie oorspronkelijk met een defecte virus-mutant heeft plaatsgehad.

Met behulp van dergelijke processen is dit niet gelukt bij polyomavirus, mogelijk doordat transformatie door polyomavirus uitsluitend veroorzaakt wordt door defecte deeltjes die niet kunnen multipliceren.

Virusfuncties in stabiel getransformeerde cellen. Het is gebleken, dat louter de aanwezigheid van virus-DNA in de cellen niet voldoende is voor transformatie. Het virusgenoom moet wel degelijk actief zijn en door het virus gespecificeerde eiwitten moeten gesynthetiseerd worden. Hiervoor zijn verschillende aanwijzingen, o.a. verkregen uit experimenten met virusmutanten.

Door Benjamin (1970) werden mutanten van polyomavirus geïsoleerd, die de merkwaardige eigenschap bezitten dat zij zich uitsluitend kunnen vermeerderen in cellen die reeds door polyomavirus zijn getransformeerd. De replicatie lukte niet in ongetransformeerde of door andere virussen getransformeerde cellen. Blijkbaar is voor de replicatie van deze virusmutant een factor nodig die door het reeds aanwezige geïntegreerde polyomavirusgenoom gespecificeerd wordt. Het gemuteerde virusgenoom wordt als het ware door het reeds aanwezige geïntegreerde polyomavirusgenoom gecomplementeerd.

Dat het virusgenoom actief moet zijn voor het tot-stand-brengen en in-stand-houden van de getransformeerde toestand wordt eveneens aangetoond met onderzoek met temperatuurgevoelige (ts-)mutanten

van het polyomavirus (Eckhart, 1969). De zogenaamde ts-3-mutant vermenigvuldigt zich op normale wijze in permissive cellen bij 31°C, maar niet bij 38,5°C. Wel kan deze mutant non-permissive cellen bij lage temperatuur transformeren. Wanneer men de cellen die bij lagere temperatuur getransformeerd worden op de hogere temperatuur brengt, verdwijnen de transformatiekenmerken. Dit wijst er op, dat de mutatie waarschijnlijk plaats heeft in een gen dat een factor specificeert die van belang is voor het in-stand-houden van de transformatietoestand en die door mutatie temperatuurgevoelig is geworden.

Door onderzoek met een andere temperatuurgevoelige mutant is bekend geworden, dat er waarschijnlijk een ander gen betrokken is bij het tot-stand-brengen van de transformatietoestand. Deze ts-a-mutant kan BHK-cellen (Baby Hamster Kidney) transformeren bij 31°C, maar niet bij 39°C. Wanneer men cellen bij een lagere temperatuur transformeert en deze vervolgens op de hogere temperatuur brengt, blijft de transformatietoestand bestaan. Blijkbaar is de temperatuurgevoelige factor die voor het induceren van de transformatie zorgt niet meer nodig nadat deze toestand is bereikt en kunnen andere factoren voor het instand-houden van de getransformeerde toestand zorgen.

Veranderingen van het celoppervlak Getransformeerde cellen hebben een andere moleculaire bouw van het celoppervlak dan normale cellen (Pollack & Burger, 1969). Zij kunnen interacties aangaan met bepaalde plantaardige eiwitten en glycoproteïnen, lectinen. Deze stoffen hebben de eigenschap, dat zij zich aan koolhydraatgroepen kunnen binden. Concanavaleïne A is zo'n eiwit en het bindt zich aan α -methylmannosidederivaten. Het is gebleken dat tumorcellen en door virus getransformeerde cellen aanzienlijk gemakkelijker agglutineren door toevoegen van bijvoorbeeld concanavaleïne A dan normale cellen. Ook kunnen getransformeerde cellen gedood worden door concanavaleïne A in concentraties die voor normale cellen niet dodelijk zijn.

Men heeft zich afgevraagd waarop het verschil in agglutineerbaarheid zou kunnen berusten. Wanneer normale cellen korte tijd aan de werking van proteolytische enzymen worden blootgesteld, blijken zij daarna eveneens verhoogd agglutineerbaar geworden zijn. Uit experimenten concludeerden Burger en medewerkers (1971), dat na virusinfectie DNA-synthese moest plaatshebben, wilden de oppervlakteveranderingen van de getransformeerde cel tot stand kunnen komen. Verder vonden zij, dat ongetransformeerde cellen in de mitose-

fase tijdelijk oppervlakte configuraties konden hebben, die op de toestand bij transformatie leken. Wanneer de oppervlakteconfiguratie uit de mitosefase gedurende de gehele celcyclus blijft bestaan, zou dit kunnen leiden tot verlies van de groeiregulatie. Cellen, waarvan het celoppervlak na een korte behandeling met proteolytische enzymen in een toestand gebracht was die op de toestand bij transformatie of mitose leek, bleken inderdaad aan de normale groeiregulatie te ontsnappen. Wanneer evenwel in het omgekeerde experiment de oppervlakte van getransformeerde cellen met specifieke eiwitten bedekt werd, gedroegen deze cellen zich ten aanzien van de groeiregulatie als normale cellen. Een voor de hand liggende verklaring voor het verschijnsel dat door de inwerking van proteolytische enzymen ook normale cellen verhoogd agglutineerbaar worden, zou kunnen zijn dat de bij de agglutinatie betrokken moleculaire groeperingen in normale cellen minder goed toegankelijk zijn. Het is echter gebleken dat de bindingsmogelijkheid voor agglutinenen voor normale en getransformeerde cellen kwantitatief gelijk is, zodat men nu naar de mening overhelt, dat de plaatsen waar binding mogelijk is op de getransformeerde cellen meer in grotere lokale dichtheden voorkomen dan op normale cellen.

Naast de veranderingen in de agglutineerbaarheid van door virus getransformeerde cellen komen tevens belangrijke veranderingen in de antigene samenstelling van de celoppervlakte bij deze cellen voor (Law, 1972). Op deze cellen (en in het algemeen op tumorcellen) komen antigenen voor die op normale cellen ontbreken. Deze antigenen worden aangeduid als TSTA (Tumor-Specifieke Transplantatie-Antigenen). Voor zover deze antigenen voorkomen, lijkt het erop dat zij virus-specifiek zijn. Het is echter vooralsnog niet duidelijk of deze antigenen als gevolg van inductie door het virus door het genoom van de gastheer of door het virusgenoom zelf gespecificeerd worden. De gebeurtenissen bij interactie tussen DNA-virus en cel worden samengevat in figuur 7.

Interactie tussen RNA-virus en cel

Bij RNA-virussen onderscheidt men, evenals bij DNA-virussen, een aantal fasen in de infectie, zoals de initiatiefase waartoe de opname en ont kapseling van het virus behoort en de rijpingsfase waarin de rijping van nieuwe deeltjes plaatsvindt. De meeste RNA-virussen bevatten een enkelstrengig RNA-molekuul, dat wordt gerepliceerd door tussen-

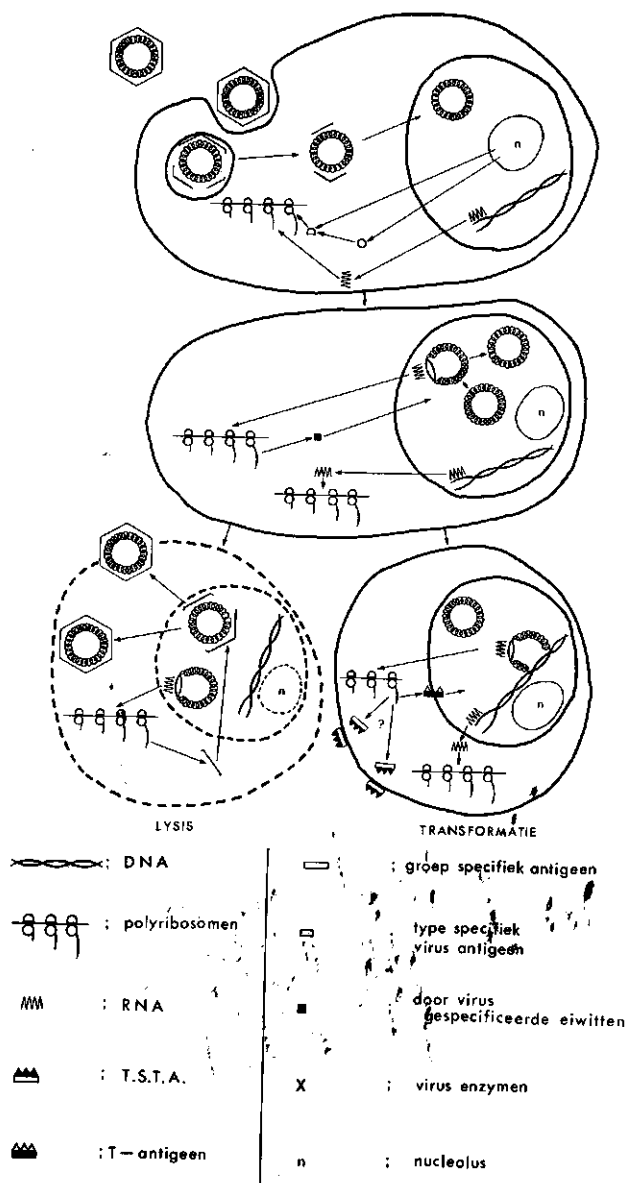


Fig. 7. Schema DNA interactie tussen virus en cel.



Fig. 8. Rijping van 'budding particles' van het RNA-virus aan de oppervlakte van een geïnfecteerde cel. Vergroting 12.500 $\times$.

komt van een dubbelstrengige intermediair (de replicatieve vorm). DNA speelt waarschijnlijk bij de meeste niet-oncogene RNA-virussen als intermediair geen rol. Wanneer vermeerdering tot stand is gekomen en de structurele viruseiwitten gesynthetiseerd zijn, kan het virusdeeltje rijpen aan de oppervlakte van de cel, waarna het nieuw gevormde deeltje door knopvorming en vervolgens afsnoering (Engels: budding) door de cel afgegeven wordt (fig. 8). In figuur 9 wordt het proces van RNA-virusinfectie samengevat.

De oncogene RNA-virussen bieden interessante aspecten ten aanzien van de effecten die virussen op cellen kunnen hebben. Voornamelijk deze celbiologische aspecten zullen in dit overzicht aan de orde worden gesteld.

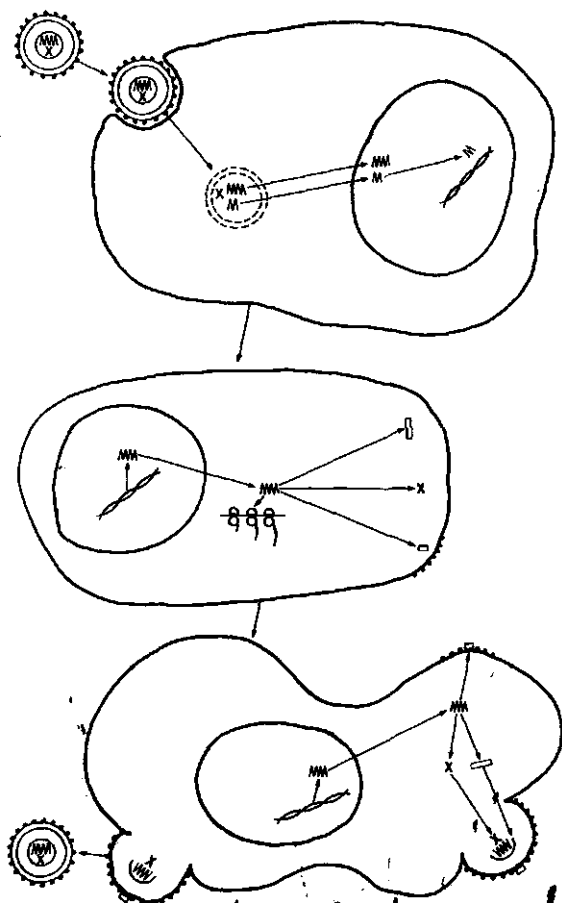


Fig. 9. Schema interactie tussen oncornavirus en cel. Zie figuur 7 voor verklaring der tekens.

Oncogene RNA-virussen (oncornavirussen)

Sedert Rous in het begin van deze eeuw ontdekte dat celvrije extracten die gemaakt zijn uit kippesarcoom tumoren kunnen opwekken bij kippen die hiermee werden ingespoten, zijn wij vertrouwd met de mogelijkheid dat een virus kankerverwekkend kan zijn. Toch is de problematiek rond deze vorm van oncogenese nog steeds zeer gecompliceerd. Sinds

de ontdekking van het Rous-sarcoomvirus (RSV, een RNA-virus) zijn een vrij groot aantal RNA-virussen met oncogene werking geïsoleerd. Belangrijke groepen zijn: de muize- en kattenleucaemievirussen, de aviaire leucose-virussen en de mamma-tumorvirussen bij muizen en primaten. Evenals bij de infectie met DNA-tumorvirussen kan de infectie met de oncogene RNA-virussen transformatie van de geïnfecteerde cel tot gevolg hebben.

In tegenstelling tot hetgeen bij de DNA-virussen is gevonden, behoeven virusproductie en transformatie elkaar niet uit te sluiten bij infectie met RNA-tumorvirussen. Zo kunnen de door oncornavirus geïnfecteerde cellen virus produceren zonder dat de cel door lysis te gronde gaat. Ook bij deze vorm van transformatie is de verandering in het biologisch gedrag van de geïnfecteerde cellen stabiel, ook in de nakomelingsschap. Men zou daarom kunnen veronderstellen dat deze verandering een gevolg is van een mutatie in het genetisch materiaal van de geïnfecteerde cellen.

Indien cellen die geïnfecteerd zijn met een bepaald oncornavirus zich gaan delen, kan een haard van cellen met een veranderd karakter ontstaan. Deze verandering wordt bepaald door het genotype van zowel het virus als van de gastheercel. Wanneer nu cellen die reeds geïnfecteerd zijn door een bepaald type virus opnieuw geïnfecteerd worden (superinfectie), maar nu door een ander type virus, dan kan deze tweede infectie wederom aanleiding geven tot erfelijke veranderingen in uiterlijke en biologische eigenschappen van de cellen. Deze veranderingen hebben dus het karakter van een mutatie. Temin (1964) stelde naar aanleiding van deze waarnemingen de zogenaamde 'provirus'-hypothese op, die zegt dat de genetische informatie van het virus een stabiele relatie aangaat met het genoom van de gastheercel. Op grond van verschillende waarnemingen kon hij aannemelijk maken dat dit provirus bestaat uit een DNA-kopie van het RNA van het virus, en dat deze DNA-kopie wordt ingebouwd in het genoom van de cel. Dit nu was aanleiding om te gaan zoeken naar een enzym dat op RNA als matrijs, DNA kan synthetiseren.

In biologische systemen heeft informatieoverdracht gewoonlijk plaats van DNA naar DNA, van DNA naar RNA en van RNA naar eiwit (Crick, 1970). De meeste niet-oncogene RNA-virussen beschikken nog over een extra wijze van informatieoverdracht, namelijk van RNA naar RNA. Op grond van het voorafgaande kan nu overwogen worden, dat RNA-tumorvirussen ook over de mogelijkheid tot infor-

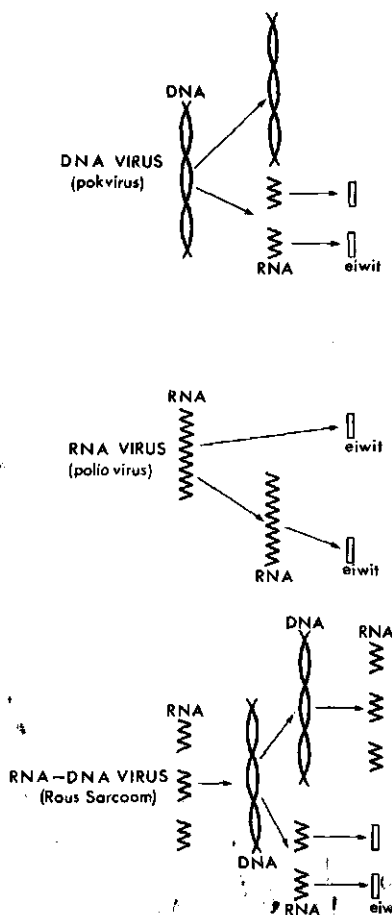


Fig. 10. Indeling van virussen naar het replicatie-mechanisme. Zie figuur 7 voor verklaring der tekens.

matieoverdracht van RNA naar DNA beschikken (omgekeerde transcriptie).

Temin & Mizutani (1970), Baltimore (1970) en Spiegelman et al. (1970a, b, c) toonden aan dat RNA-tumorvirus een enzym bevat dat transcriptie van RNA naar DNA mogelijk maakt. (fig. 10). Behalve dit RNA-afhankelijke DNA-polymerase (Engels: reverse transcriptase;

RNA-directed DNA polymerase) komen in het virusdeeltje nog enkele andere enzymen voor die een functie hebben bij de vorming van het provirus en de integratie daarvan in het genoom van de gastheercel (Mizutani & Temin, 1971; Mizutani et al., 1970, 1971).

Een variant op het Rous-sarcoomvirus, het RSV α , bezit geen actief RNA-afhankelijke DNA-polymerase (Hanafusa et al., 1971, 1972). Deze variant bleek niet in staat om cellen te infecteren, hetgeen één van de sterkste argumenten is om aan te nemen dat het RNA-afhankelijke DNA-polymerase van betekenis is voor infectie.

Infectie door RNA-tumovirus

In de volgende uiteenzetting zullen enkele belangrijke aspecten van het vóórkomen van genetisch materiaal in normale (onverdachte) cellen, die onder bepaalde omstandigheden kunnen specificeren voor de produktie van RNA-tumovirussen, worden toegelicht. Eerst zullen hiertoe enkele begripsbepalingen uit het onderzoek aan RNA-tumovirussen worden besproken, zoals de infectie en penetratie van het virus, het helpervirus-effect, het verschijnsel van 'phenotypic mixing' en de betekenis van de groepsspecifieke (gs-)antigenen voor de identificatie van het virus.

Penetratie bij oncogene RNA-virussen De penetratie van virus in gevoelige cellen wordt waarschijnlijk mogelijk gemaakt door de aanwezigheid van specifieke receptoren op de celoppervlakte. In resistente cellen lukt penetratie alleen met behulp van kunstmatige methoden, bijvoorbeeld celfusie. De infectie met RNA-tumovirus, de daarop volgende transformatie van de cellen en de produktie van al dan niet infectief virus werden in detail bestudeerd onder andere aan het Rous-sarcoomvirus-systeem. Dit systeem is echter nog zeer complex en de resultaten zijn in vele opzichten nog controversieel.

Gebleken is dat in vroege stadia van de infectie, zoals bij de penetratie van het virus, de eigenschappen van de cel van grote betekenis zijn (Payne, 1972). Bij kippecellen kan men lijnen onderscheiden die niet resistent zijn tegen enige subgroep van het virus, en lijnen die resistent zijn tegen bepaalde subgroepen van het virus. De subgroepen van het virus kan men onderscheiden op grond van:

- de antigene eigenschappen,
- de zogenaamde 'host range'; dit is het vermogen van het virus om

cellen met een bepaald genotype te kunnen infecteren (waarschijnlijk cellen die aan de oppervlakte receptoren hebben geschikt voor penetratie van virus van een bepaalde subgroep),

– het interferentiepatroon, dit is het vermogen om bij de infectie te kunnen interfereren met de superinfectie door verwante virussen.

De interactie tussen Rous-sarcoomvirus en de cel kan verdeeld worden in een tweetal klassen. In de eerste worden geïnfecteerde cellen niet alleen getransformeerd maar tevens repliceert het virus in deze cellen. In de tweede klasse, die non-produktief wordt genoemd, ontstaat weliswaar transformatie, maar wordt geen infectieus nakomelingschap van het virus gesynthetiseerd. Tot deze tweede klasse behoort de infectie met de zogenaamde 'Bryan-stam' van het Rous-sarcoomvirus. De meeste door deze stam geïnfecteerde cellen produceren evenwel fysisch rijpe virusdeeltjes die echter niet infectief zijn (Hanafusa et al., 1971).

Helpervirus en 'phenotypic mixing' Reeds geruime tijd is bekend, dat het aviaire leucosevirus (ALV), dat zelf geen transformerende eigenschappen heeft, als een zogenaamde 'helper' bij de infectie met de Bryan-stam kan fungeren. Het helper-effect van het aviaire leucosevirus is een voorbeeld van 'phenotypic mixing'. Globaal kan men phenotypic mixing beschrijven als het verschijnsel dat cellen die besmet zijn met twee virussen van verschillende subgroepen, een virus produceren dat kapsel eiwitten draagt van de beide subgroepen.

Naar men aanneemt is het niet-infectieve virus van de Bryan-stam defectief in het kapsel. Het helper-effect van de aviaire leucosevirus berust waarschijnlijk hier op, dat dit virus kapsel elementen levert die de nakomelingsschap infectief maken.

Virusantigenen Zoals alle virussen hebben RNA-tumorvirussen antigenen eigenschappen in hun eiwitcomponent. Men kan aan deze virussen type-specifieke antigenen onderscheiden, die aan de oppervlakte gelokaliseerd zijn. Door analyse van gezuiverde virionen van Rous-sarcoomvirus zijn tenminste twee virale glycoproteïnen aangetoond, die geïdentificeerd konden worden als type-specifieke antigenen.

Daarnaast heeft men groeps-specifieke (gs-) antigenen kunnen onderscheiden, die zich meer in het inwendige van het virusdeeltje bevinden (Schäfer et al., 1971; Gilden et al., 1971). Deze antigenen zijn specifiek voor virussen die binnen bepaalde diersoorten voorkomen (muizen, katten).

Geheel of gedeeltelijk latente virussen Wanneer cellen succesvol door RNA-tumorstoffen geïnfecteerd zijn, kan men de aanwezigheid van groeps-specifieke antigenen in de geïnfecteerde cellen aantonen wanneer men beschikt over specifieke antisera. Ook al wordt door de cellen geen rijp infectieus virus geproduceerd, dan kan toch de aanwezigheid van deze antigenen in de cellen wijzen op een gedeeltelijke expressie van het virus.

Bij onderzoek van het systeem van het Rous-sarcomavirus is een interessante waarneming gedaan, die wijst op de mogelijkheid dat in cellen een endogeen, niet volledig tot expressie gekomen virus voor kan komen, zonder dat bekend was dat de cellen tevoren waren geïnfecteerd.

Zoals reeds eerder werd vermeld, is een aantal stammen van het Rous-sarcomavirus, waaronder de Bryan-stam, defect in het kapsel, waardoor geen infectieus nakomelingschap gevormd wordt. Werden nu kipcellen die niet resistent waren tegen enige subgroep van het virus hiermee geïnfecteerd, dan werd in een aantal gevallen in sommige cellen een nakomelingschap gevormd dat wél infectieus bleek te zijn, ook zonder aviaire leukosevirus als helper. In andere cellen werden deze infectieve virusdeeltjes niet gevormd.

De cellen die aanleiding gaven tot de productie van de infectieve deeltjes bleken reeds vóór de infectie groepsspecifieke antigenen te bevatten. Vermoed werd dat deze cellen een defectief virus herbergden, dat de kapselcomponenten kon specificeren die ontbraken in de betreffende stammen van het Rous-sarcomavirus (Hanafusa, 1972). Een dergelijk defect virus kon worden geïsoleerd door Hanafusa en medewerkers (1971) en werd Rous Associated Virus (RAV-60) genoemd.

Hieruit blijkt dat een endogeen virusgenoom in ogenschijnlijk normale, onverdachte cellen kan voorkomen, zonder dat dit aanleiding geeft tot virusproductie.

Vertikale transmissie

Het staat vast dat individuen en cellen met RNA-tumorstoffen geïnfecteerd kunnen worden. Men noemt deze wijze van besmetting 'horizontale transmissie'. Daarnaast zijn er sterke aanwijzingen dat virusgenoom met de geslachtscellen doorgegeven kan worden. Dit noemt men 'vertikale transmissie'. Men moet deze vorm dus wel onderscheiden van de infectie met het mamma-tumorstof bij de muis, dat via

de moedermelk het pasgeboren dier bereikt. Hier is eveneens sprake van horizontale transmissie.

In de vorige paragraaf werd gesproken van groepsspecifieke antigenen in normale cellen van de kip en er zijn aanwijzingen dat dit berust op de aanwezigheid van een endogeen defectief leucosevirus in de kippecellen.

De overdracht van deze groepsspecifieke antigenen verloopt volgens de wetten van Mendel. Dit gekoppeld aan het feit dat groepsspecifiek antigeen geassocieerd is met de aanwezigheid van een endogeen defect leucosevirus, maakt het aannemelijk dat virusgenoom als provirus-DNA met de geslachtscellen doorgegeven kan worden. Deze veronderstelling is de basis van de hypothese van Huebner (Huebner & Todaro, 1969) die stelt dat verticale transmissie van een niet of gedeeltelijk actief genoom van RNA-virus ook bij zoogdieren mogelijk is. Een dergelijke transmissie speelt waarschijnlijk een rol bij de overdracht van het genoom van het muizen-mamma-tumorfus in muizen van de GR-stam (Bentvelzen & Daems, 1969; Bentvelzen et al, 1970). Transmissie zou ook hier plaatshebben via de geslachtscellen.

Bij sommige soorten muizen wordt het virus reeds op jonge leeftijd gesynthetiseerd, bij andere op latere leeftijd. In stammen waarin het virus gewoonlijk op latere leeftijd geproduceerd wordt, kan de synthese van virusantigenen door behandeling met urethaan of door bestraling gestimuleerd worden. Verondersteld wordt dat repressor-molekules gewoonlijk de transcriptie van het overgeërfde (germinal) provirus-DNA verhinderen. Mutaties in de operator- of regulatorgenen van de repressor-molekules zouden tot de productie van componenten van het virus aanleiding kunnen geven.

Slotopmerkingen

Het effect van infectie met DNA- en RNA-tumorfusussen op cellen is vanuit celbiologisch standpunt van bijzondere betekenis. Door infectie met deze virussen kunnen stabiele veranderingen in het biologisch gedrag van geïnfecteerde cellen, ook in de nakomelingschap, ontstaan.

Belangrijke veranderingen in het celgedrag zouden dus het gevolg zijn van de introductie in cellen van nieuwe genen, die vergeleken met de totale aanwezige informatie in de gastheercel zeer klein in aantal zijn.

Het is niet zeker of men op den duur er in zal slagen om het gedrag

van cellen en weefsels naar willekeur te beïnvloeden. Wél kan men verwachten dat gaandeweg de kennis over de epigenetische mechanismen zal toenemen bij het vrijkomen van nieuwe informatie over celonderdelen en hun functie, en dat virussen waardevolle experimentele hulpmiddelen zullen blijken bij onderzoek over het samenspel van functies binnen de cel.

Bepaalde virussen zijn, naast het feit dat zij kunnen transformeren, van belang voor het ontstaan van tumoren. Sommige virussen, zoals de RNA-leucaemie-, sarcoom- en mamma-tumorvirussen, kunnen in verband worden gebracht met spontaan voorkomende of door infectie van deze virussen veroorzaakte tumoren bij verschillende diersoorten. Bij de mens heeft men niet met zekerheid de relatie tussen RNA-virussen en tumoren kunnen vaststellen, maar er is geen reden om te veronderstellen dat de mens wat dit betreft zou afwijken.

Anderzijds is wél bekend dat enkele types DNA-virus, zoals het zogenaamde Epstein-Barr-virus dat in het Burkitt-lymfoom aangetoond kan worden en sommige Herpes-virussen, in verband gebracht kunnen worden met kwaadaardige tumoren bij de mens.

Wij concluderen dat infecties met bepaalde virussen ons interessante modellen kunnen leveren voor de bestudering van diverse mechanismen binnen eukaryote cellen. Verder kunnen virussen een rol spelen bij het ontstaan van tumoren in verschillende diersoorten. Het onderzoek over een eventuele relatie tussen virus en kanker bij de mens is evenwel nog in een beginstadium.

Secretie van groot-moleculaire stoffen

M. F. KRAMER

Inleiding

Cellen beïnvloeden hun omgeving en zodoende beïnvloeden ze elkaar. Onderlinge beïnvloeding heeft ondermeer plaats bij secretie, waarbij stoffen uit de cel worden getransporteerd. Dit kunnen kleine molekulen zijn, zoals zoutzuur, natriumbicarbonaat, organische stoffen als noradrenaliné, acetylcholine en steroïden. Het kunnen ook grote molekulen zijn. De groot-moleculaire stoffen zijn meestal eiwitten, vaak voorzien van meer of minder talrijke, grote of kleine koolhydraat- of vetdelen. Dit hoofdstuk beschrijft de processen die verband houden met de secretie van groot-moleculaire stoffen, omdat juist over deze processen in de laatste 15 jaren zoveel meer bekend is geworden.

De functie van de uitgescheiden eiwitmolekulen is van velerlei aard. Zij kunnen dienen voor opvulling van de ruimte tussen de cellen (bloed, bindweefsel) en voor het verschaffen van stevigheid aan cellen en weefsels (kraakbeen, been, plantecelwand). Andere behoeden de oppervlakten van slijmvliezen tegen uitdroging en beschadiging (spijsvertering- en ademhalingkanaal). Weer andere hebben enzymatische werking en breken in het spijsverteringskanaal de voedingsstoffen af. Vele hormonen zijn eiwitten: door het bloed verspreid werken zij in op 'ontvangende' molekulen in de wand van 'gevoelige' cellen elders in het lichaam. De antilichamen, die door de plasmacellen gemaakt worden nadat een vreemde stof het lichaam is binnengedrongen, zijn ook eiwitten die hun werking buiten de producerende cel uitoefenen.

Achtereenvolgens worden in dit hoofdstuk besproken: de plaats van synthese van secreteiwit, het transport van de gesynthetiseerde stof door de cel, de eigenlijke secretie ervan en de rol die membranen in en om de cel hierbij spelen. Daarna zal nog aandacht worden gegeven aan synthese, transport en secretie van samengestelde eiwitten (met koolhydraat- of vetcomponenten). Als intermezzo's worden beschrijvingen

ingevoegd van de onderzoeksmethoden die tot de beschreven kennis hebben geleid. Allereerst echter wordt, om de lezer bij het doornemen van dit hoofdstuk te behoeden voor misvattingen, een overzicht geboden van de afmetingen van cel, celonderdelen en secreetstoffen.

Afmetingen

De secernerende cellen hebben diameters in de orde van 20 μm (0,02 mm). Hun kern heeft een diameter van 6 tot 10 μm . De membraan die de cel omgeeft (de plasmamembraan, zie fig. 2, 3 en 4 in het hoofdstuk van Daems) heeft een dikte van ongeveer 10 nm. Membranen in de cel hebben dezelfde of geringere dikte. De secreetkorrels, verschillend van grootte, overschrijden de diameter van 1 μm niet. Een eiwitmolecuul is bij deze celonderdelen vergeleken klein: de kleinste zijn 4 nm groot; de allergrootste 100 nm. Een aminozuur meet ongeveer 0,5 nm. Een zoutzuurmolecuul, of beter: een chloor- en een waterstof-ion zijn nog weer veel kleiner ($\ll 0,1$ nm). (Zie voor afmetingen ook het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten.)

Syntheseplaats

Het zou te ver voeren hier te bespreken hoe door aaneenrijging van aminozuren volgens een gecodeerd patroon eiwitmolekulen gemaakt worden. Verwezen zij naar het verslag van het symposium: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 en Watson, 1968). We volstaan met te zeggen dat het gebeurt op kleine lichaampjes, ribosomen geheten. Hun naam hebben deze te danken aan het feit dat zij voor ongeveer 50% van hun gewicht uit drie molekulen van verschillende grootte ribosenucleïnezuur (RNA) bestaan en voor de rest uit ruim 50 verschillende eiwitmolekulen. De diameter van een ribosoom is ongeveer 15 nm.

Ribosomen komen in alle cellen voor. Zij liggen in groepjes, polysomen, bijgehouden door het coderende boodschapper-RNA (Engels: messenger RNA, afgekort: mRNA). In eiwit-secernerende cellen komen zeer veel van deze polysomen niet vrij in het cytoplasma voor, maar gebonden aan membranen, die in de cel grote, doorgaans platte ruimten van het eigenlijke cytoplasma afzonderen (fig. 1). De ruimten, cisternen genaamd, staan onderling met elkaar in verbinding en vormen samen een netwerk in de cel dat men endoplasmatisch reti-



Fig. 1. Ribosomen, gehecht aan membranen rond cisternen (C), aan de zijde van de cytoplasmatische matrix (M). De pijl symboliseert het 'vectoriële transport' van secreteiwit: van ribosoom door de membraan naar cisterne (EM, ratte-pancreas). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

culum (ER) noemt. De lengte van deze cisternen kan wel 5.000 nm (5 μ m) bedragen. In eiwit-secernerende cellen is een deel van dit ER omgeven door membraan waaraan ribosomen gehecht zijn. Dit deel noemt men het 'ruwe' (oneffen; Engels: rough) endoplasmatisch reticulum (RER), in tegenstelling tot het overige deel dat 'glad' (Engels: smooth) heet (SER).

Op de ribosomen van het RER worden de secreteiwitten gemaakt; op de niet gebonden ribosomen worden de eiwitten gemaakt die nodig zijn voor het in-stand-houden, de groei en de deling van de cel (constitutieve eiwitten). Het is overigens niet bekend hoe de ribosomen chemisch aan de RER-membranen verbonden worden, waarom zij slechts aan een gedeelte van de endoplasmatische membranen verbonden worden en wat de rol is van het coderende mRNA in de hechting van ribosomen aan de RER-membranen. Feit is, dat hechting plaats vindt en dat mRNA coderend voor secreteiwit op gehechte ribosomen wordt afgelezen.

Intracellulair transport

Nadat een eiwitmolekuul is gemaakt dient het terecht te komen op de plaats van bestemming. Hiervoor is gericht transport nodig. De cel is

immers geen vormloze gelei waarin de samenstellende molekulen kristal door toeval verspreid liggen. Een cel is gestructureerd, dat wil zeggen: de meeste macromolekulen hebben een vaste plaats, in een membraan of een ribosoom, in een kern of ander organel, in een chromosoom of nucleolus. Het is in de meeste gevallen volledig onbekend hoe een eiwit-molekuul van het ribosoom waar het gemaakt is, verplaatst wordt naar de structuur waarvan het een deel gaat worden. Hoe bijvoorbeeld in de menselijke cel een chromosoom-eiwit uiteindelijk terecht komt in één van de 46 chromosomen, die binnen de kern aanwezig zijn. Hetzelfde probleem rijst ten aanzien van de eiwitmolekulen in mitochondriën en ribosomen.

Gelukkig is meer bekend van de transportweg die door secreteeiwit begaan wordt, het soort eiwit waar dit hoofdstuk zich mee bezig houdt (Jamieson & Palade; 1967, 1968, 1971). Men kan daarin de volgende stappen onderscheiden. Het eiwitmolekuul dat gevormd is op een ribosoom van het RER (1) passeert de membraan van de cisterne, (2) stroomt in de holte van de cisterne in de richting van het Golgi-systeem en (3) wordt door blaasjes die van het RER afknoppen of via aparte buisjes naar het Golgi-systeem overgedragen. (4) Het eiwit uit een blaasje komt met dat van andere blaasjes samen in een 'onrijpe' of 'vormende' Golgi-cisterne, (5) wordt door een Golgi-stapel heen naar de 'rijpe' of 'secernerende' zijde verplaatst, (6) wordt daar geconcentreerd binnen tot ronde blazen opgezwollen Golgi-cisternen, die dan concentratievacuolen (Engels: condensing vacuoles) heten en (7) bereikt een graad van zeer hoge concentratie in secreetkorrels, waarin het op secretie wacht. Voor de gehele transportweg is kenmerkend dat vanaf het ribosoom het secreteeiwit voortdurend door een membraan gescheiden blijft van het eigenlijke cytoplasma (matrix). We zullen de transportfasen nu een voor een bekijken.

Nog tijdens de synthese op het ribosoom wordt het begin van een secreteeiwitmolekuul door de cisternale membraan geschoven. Als het 39e aminozuur aan de keten wordt gehecht, bereikt het eerste (de NH_2 -kant van het eiwit) reeds de cisternale holte. De aminozuurketen wordt dus van het ribosoom uit in een bepaalde richting geschoven, naar een plaats in de membraan waar een onzichtbare opening aanwezig is of ontstaat. Men noemt dat vectoriële synthese. (Een vector is een in de ruimte gedefinieerde richting.)

Eenmaal in de cisterne van het RER verplaatst zich het eiwitmolekuul in de richting van het Golgi-systeem. Men kan zich twee mecha-

nismen voorstellen die tot verplaatsing van het eiwit leiden. De eiwitmolekulen zouden door molekulen in de membraan van de cisterne gebonden en doorgegeven kunnen worden aan een volgend membraanmolekuul, langs een keten dus van transporteermolekulen. In het andere denkbare systeem zijn de eiwitmolekulen in opgeloste toestand in de cisternale holte aanwezig en worden zij door een pomp verplaatst. Een mogelijke pompmechanisme zou geleverd kunnen worden door de volgende stap in het intracellulaire transport.

Aan de Golgi-kant missen de membranen van de RER-cisternen de ribosomen over min of meer grote gebieden. Men noemt dat 'overgangsgebieden' (Engels: transitional elements). In die ribosoom-vrije membraangedeelten ontstaan plaatselijk buitenwaartse uitbochtungen (fig. 2), die zich daarna afronden tot vrij in het cytoplasma liggende blaasjes met een diameter van 20 nm. Deze blaasjes, Golgi-blaasjes genoemd (fig. 2 en 15), worden naar de onrijpe zijde van de Golgi-stapels verplaatst en transporteren daardoor eiwit vanuit de RER-cisternen naar het Golgi-systeem. Die verplaatsing vergt energie (zij stokt als de produktie van de energierijke stof adenosinetrifosfaat (ATP) verhinderd wordt). Het buitenwaarts uitbuigen en de afsnoering van een blaasje kan men beschouwen als een pomp, die mogelijk het transport van eiwit in de cisternen veroorzaakt.

Overigens is het nog allerminst zeker dat het eiwit door middel van blaasjes getransporteerd wordt. In de levercel, die albumine en andere serumeiwitten maakt en uitscheidt, vormen buisjes de verbinding tussen RER en Golgi-gebied. Ook in andere cellen worden, zij het minder vaak, buisjes naast blaasjes aangetroffen.

Het secreteeiwit heeft nu het Golgi-systeem bereikt. In kliercellen ligt dit celonderdeel bij de kern, meestal in de richting van de celtop ('boven' de kern dus). Het bestaat uit een tiental Golgi-stapels (dictyosomen), die ieder zijn samengesteld uit ongeveer vijf op elkaar liggende, platte, door membraan omgeven cisternen (fig. 2 en 15). Men onderscheidt aan een Golgi-stapel een 'onrijpe' of 'vormende', meestal bolle kant en een 'rijpe' of 'secernerende', meestal holle kant. Aan de onrijpe zijde liggen de reeds besproken Golgi-blaasjes, aan de rijpe zijde de concentratievacuolen. Onder de eerste, onrijpe cisterne ligt parallel eraan een vlak, netvormig buizenstelsel. Met dit buizenstelsel verenigen zich de Golgi-blaasjes en zo komt het secreteeiwit in het Golgi-systeem terecht.

Hoe het eiwit in de Golgi-stapels van de onrijpe naar de rijpe zijde

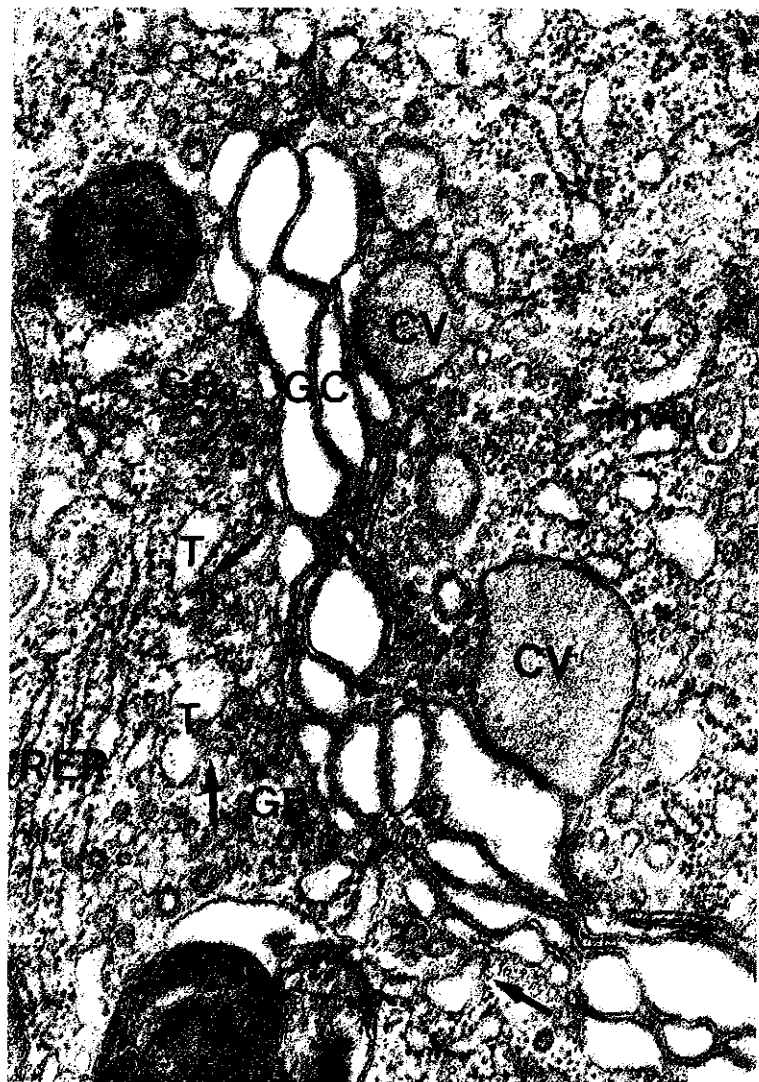


Fig. 2. Structuren rond en in het Golgi-gebied: overgangselementen van het RER (T) met afknappende blaasjes (pijlen), Golgi-blaasjes (GB), Golgi-cisternen (GC) en concentratievacuolen (CV). De 'onrijpe' zijde van het Golgi-gebied is links, de 'rijpe' zijde rechts. mvb: 'multivesicular body' (EM, ratte-pancreas). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

verplaatst wordt is onbekend. Volgens de meest waarschijnlijke opvatting fuseren Golgi-blaasjes aan de onrijpe zijde tot telkens een nieuw vlak buizenstelsel, dat zich vervormt tot een platte cisterne die vervolgens opschuift naar boven. De afwezigheid van dwarsverbindingen tussen de platte cisternale ruimten (dwarsverbindingen die een stroom van eiwitoplossing van cisterne naar cisterne mogelijk zouden maken) maakt een dergelijke verklaring praktisch onvermijdelijk.

Aan de rijpe zijde van de Golgi-stapels speelt zich de volgende transportstap af. Aan de zijranden, maar soms ook in het midden van de oppervlakkige, meest rijpe cisterne, vormen zich bolvormige uitbochtungen, die zich afsnoeren en dan concentratievacuolen genoemd worden, omdat de dichtheid van het in die vacuolen verzamelde eiwit steeds groter wordt (fig. 2, 9 en 15). Het is overigens goed mogelijk dat tijdens dit proces nog nieuw, ongeconcentreerd eiwit aan de vacuoleinhoud wordt toegevoegd, hetzij door opnieuw fusie met rijpe Golgi-cisternen of doordat Golgi-blaasjes om de Golgi-stapel heen glippen en met de concentratievacuolen fuseren. Over de manier waarop in de vacuolen het eiwit tot grotere concentratie komt zijn weinig gegevens bekend. Het proces vergt weinig energie (het gaat door als de productie van ATP geremd wordt). Als de eiwitmolekulen in de vacuole onderling verbindingen aangaan, wordt het aantal molekulen in de vacuole kleiner en wordt de inhoud hypotoon, hetgeen tot waterverwijdering aanleiding geeft. De reactie tussen eiwitmolekulen kan onafhankelijk zijn van toegevoegde energie.

Uiteindelijk ontstaan als resultaat van de voortgezette ontwatering bollen van sterk geconcentreerd eiwit (fig. 3). Deze secreetkorrels zijn evenals alle voorstadia omgeven door een membraan. In deze vorm blijft het eiwit wachten op het moment van secretie. Later zullen we zien dat niet alle secernerende cellen secreetkorrels vertonen.

Onderzoeksmethode I

Na de beschrijving van de manier, waarop secreteiwit door de cel getransporteerd wordt, is het nuttig iets te vermelden over de onderzoeksmethoden waarmee deze gegevens verkregen zijn. De belangrijkste zijn geweest: het structuuronderzoek met behulp van de elektronenmicroscop en de fractionering van celonderdelen met behulp van centrifugering. Het intracellulair transport was voor beide benaderingswijzen pas toegankelijk nadat radioactieve bouwstenen van eiwit be-

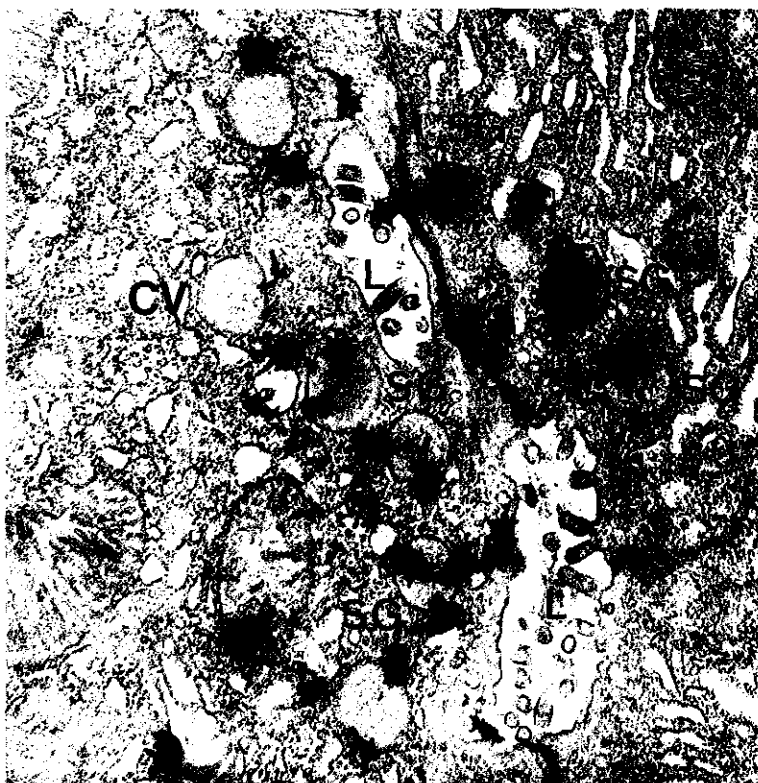


Fig. 3. Secreetkorrels (SG) in de top van twee cellen, rond het lumen (L). EM-radioautogram van rattepancreas-cellen, 60 minuten na inspuiting van L-leucine- $[^3H_2]$: zilverneerslagen in de emulsielaag boven de sekreetkorrels verraden de aanwezigheid van radioactief eiwit in de korrels; er is geen zilverneerslag boven de concentratievacuole (CV). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

schikbaar waren gekomen. De plaats van synthese en de weg waarlangs eiwit vervoerd wordt, konden pas onderzocht worden nadat door het aanbieden van radioactief gemerkt aminozuur een generatie van radioactief eiwit in de cel verkregen en de beweging daarvan door de cel gevolgd kon worden.

Radioactief aminozuur, in de bloedbaan van een zoogdier gespoten, is daar slechts korte tijd in aanmerkelijke concentratie aanwezig. Het

wisselt snel uit tegen het niet-radioactieve aminozuur dat overal in het lichaam aanwezig is, hetzij uit het voedsel, hetzij als gevolg van afbraak van voorraadeiwit. Dit leidt tot verdunning van de radioactiviteit. Na 5 tot 10 minuten is er al heel weinig radioactief aminozuur meer in omloop. Alleen gedurende dat interval van 5 tot 10 minuten na de injectie maakt de cel radioactief eiwit, daarna praktisch niet meer. De generatie van radioactieve eiwitmolekulen bevindt zich in de ribosomen en in de cisternen van het RER. Tien minuten later bevinden zich de koplopers van die generatie in de Golgi-blaasjes en weer 10 minuten later zijn zij al in de concentratievacuolen. Door de cellen op gezette tijden na de injectie van radioactief aminozuur te onderzoeken, komt men syntheseplaats, transportweg en transportsnelheid te weten.

Het is mogelijk gebleken om weefsels, zonder echt tot kweek over te gaan, gedurende enige uren buiten het lichaam te laten overleven in kunstmatige incubatievloeistof. De overlevende cellen zijn in staat eiwit te synthetiseren en te transporteren. Ook in deze cellen kan men een generatie van radioactief gemerkte eiwitmolekulen verkrijgen door het weefsel gedurende korte tijd in een incubatievloeistof te brengen waaraan radioactief aminozuur is toegevoegd. Het voordeel van dit systeem is de mogelijkheid de aanbiedingstijd van radioactief aminozuur zeer kort te houden (tijden van 2 tot 3 minuten zijn mogelijk). Tevens is veel minder van het (dure) radioactieve aminozuur nodig. Dit resulteert in een generatie van radioactieve eiwitmolekulen, die ontstaat in een nog korter tijdbestek dan 5 tot 10 minuten.

Elektronenmicroscopie (zie het hoofdstuk van Daems) alleen maakt het nog niet mogelijk de plaats waar zich het radioactief eiwit bevindt op te sporen. Daartoe is elektronenmicroscopische autoradiografie (EMA) ontwikkeld (fig. 4). Het dunne afgesneden vliesje van het gefixeerde weefsel, gebed in de harde epon-hars, wordt in de donkere kamer bedekt met een dunne laag fotografische emulsie van grote gevoeligheid. De emulsielaag is even dun als de diameter van de zilverbromide-kristallen (110 nm). Zo'n laag die dus maar één kristal dik is, heet in het Engels 'monolayer'. In de donkere kamer laat men weefselcoupe en monolayer enige tijd (1 tot 3 maanden) rustig, koel en droog liggen, tijdens welke periode de β -stralen die door de radioactieve atomen worden uitgezonden – meestal gebruikt men aminozuur met $^3\text{H}_2$ (tritium) als nuclide – de zilverbromide-kristallen raken en gevoelig maken voor de reductie tot metallisch zilver, zoals bij de gewone fotografie de fotonen dat doen. Ontwikkelen (reduceren) en fixeren (oplos-

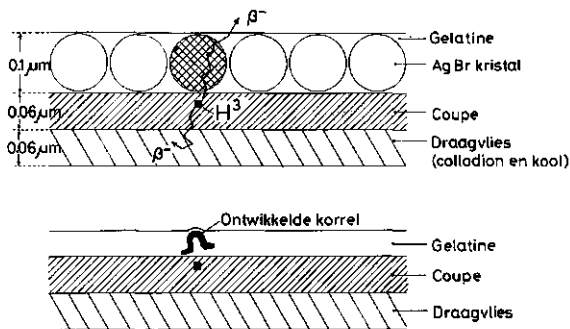


Fig. 4. Schema van een EM-radioautogram vóór (boven) en na (onder) ontwikkeling en fixatie. (Naar L. G. Caro & R. P. van Tubbergen, 1962, *J. Cell Biol.* 15: 173-183).

sen van het niet gereduceerde zilverbromide) verlopen in principe als bij de gewone fotografie. Daarna liggen in de emulsielaag zilverneerslagen boven die plaatsen in de weefselcoupe, waar radioactieve eiwitmolekulen liggen (fig. 3). Op deze wijze is het mogelijk de plaats zichtbaar te maken waar het radioactief eiwit verblijft. De methode heeft echter een beperkt lokaliserend vermogen. Dit wordt bepaald door het bereik van de β -stralen, door de grootte van het zilverbromide-kristal en door de wijze waarop de zilverneerslagen zich vormen. In de praktijk dient men rekening te houden met een lokaliserend vermogen van 100 nm. Dat wil zeggen dat het eiwitmolekuul, zelf gemiddeld 10 nm groot, waaruit door straling een zilverneerslag in de emulsie is veroorzaakt, overal in een cirkelvormig gebied met een straal van 100 nm rond het zilverneerslag gelegen kan zijn. Dit maakt het bijvoorbeeld onmogelijk om uit te maken of het radioactieve eiwit in de inhoud van een Golgi-blaasje, in of op de membraan ervan, of aan de buitenkant ervan ligt. De diameter van het blaasje is immers slechts 20 nm. Hiermee zijn de grenzen van wat met behulp van EMA aan gegevens kan worden verkregen aangeduid.

Bij de andere methode wordt gebruik gemaakt van celfractionering. Deze methode is bruikbaar indien het te bestuderen orgaan of weefsel voor het allergrootste deel uit eenzelfde celtype bestaat. De pancreas die voor 80% uit exocriene cellen, de lever die voor 75% uit galproducerende hepatocyten, en schraapsel van maagslijmvlies dat voor 90% uit slijmvormende epitheelcellen bestaat, zijn voorbeelden van weefsel

dat zich leent voor fractioneringsexperimenten. Eerst worden het weefsel en de cellen daarin kapot gewreven. De celonderdelen dienen daarbij zoveel mogelijk gespaard te blijven. Meestal wordt een glazen buis gebruikt met daarin een nauw passende snel draaiende stamper (bijvoorbeeld 1000 omwentelingen per minuut), die gedurende bijvoorbeeld 30 seconden op en neer bewogen wordt. Het tevoren reeds fijngehakte weefsel wordt zodoende in een isotone buffer tot brei verwreven; dat heet: gehomogeniseerd. Bundels collageen, basaal-membraan, nog niet kapotte cellen worden door filtratie verwijderd. Het filtraat wordt gebruikt voor de fractionering. Dit geschiedt door middel van centrifugeren, gebruik makend van het verschil in soortelijk gewicht van de verschillende celonderdelen. Er zijn twee typen van centrifugale scheiding van celorganellen.

De eerste bestaat hierin, dat eerst bij laag toerental en successievelijk bij steeds hoger toerental gedraaid wordt. Bij laag toerental slaan de zwaarste onderdelen neer: de kernen. Uit de bovenstaande vloeistof slaan bij hoger toerental de mitochondriën en de secreetkorrels neer. Bij nog hoger toerental (dan moet de ultracentrifuge gebruikt worden, met toerentallen tot 60.000 omwentelingen per minuut) komen allerlei blaasjes naar beneden. Zij zijn ontstaan uit het ER en uit het Golgi-systeem. Deze blijven namelijk tijdens het homogeniseren niet onge-rept, maar verbrossen in vele kleine blaasjes, met een diameter van gemiddeld 150 nm. Men noemt deze blaasjes: microsomen (kleine lichaampjes, artefacten die tijdens het homogeniseren ontstaan en als zodanig niet in de cel aanwezig zijn) en onderscheidt 'ruwe' microsomen, afkomstig van het RER, en 'gladde', afkomstig van het SER en van het Golgi-systeem. De eerste zijn door de aanhechting van de ribosomen zwaarder dan de tweede.

Naast de celfractionering met behulp van differentieële centrifugering bestaat de mogelijkheid de celonderdelen te scheiden door gradiënt-centrifugering. De te scheiden celonderdelen worden dan gesuspendeerd in een geconcentreerde oplossing van bijvoorbeeld riet- of biet-suiker. Deze suspensie wordt boven op de van tevoren ingebrachtte vulling van de centrifugebuis gebracht. Die, reeds aanwezige vulling bestaat zelf ook uit een geconcentreerde oplossing van suiker. Het is mogelijk de suikerconcentratie naar de bodem toe geleidelijk (continue gradiënt) of sprongsgewijs (discontinue gradiënt) groter te laten worden. Tijdens het centrifugeren blijven die celonderdelen, waarvan het soortelijk gewicht gelijk is aan dat van een bepaalde suikerconcentratie,

zweven op het niveau waar de continue gradiënt die concentratie heeft, of op het niveau van de overeenkomstige concentratiesprong.

Heeft men eenmaal de celonderdelen in neergeslagen fracties verkregen, dan kan bepaald worden hoeveel in eiwit gebonden radioactiviteit in elk van de fracties aanwezig is. In het geval van het onderzoek naar syntheseplaats en transport van secreteiwit zal in weefsel dat direkt na de aanbieding van het radioactieve aminozuur gehomogeniseerd is, de meeste radioactiviteit in de fractie van de ruwe microsomen liggen. Ongeveer 10 minuten later zal de radioactiviteit in de gladde microsomen stijgen, want dan bereiken immers de eerste radioactieve eiwitmolekulen de Golgi-blaasjes. Na ongeveer 20 minuten

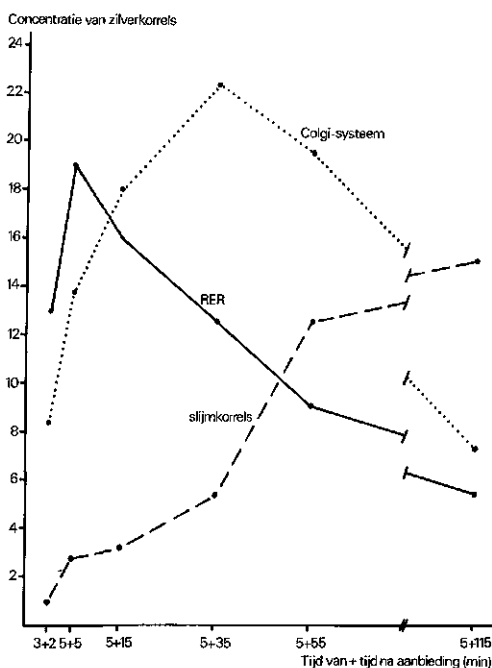


Fig. 5. Verplaatsing van radioactief eiwit van RER via Golgi-gebied naar de secreetkorrels, vastgesteld door telling van zilverkorrels boven de genoemde cell-structuren in EM-radioautogrammen van maagepitheelcellen, na een incubatie van 3 of 5 min in vloeistof met L-leucine- $[^3H_2]$, verder geïncubeerd zonder radioactief leucine gedurende 2, 5, 15, 35, 55 en 115 min.

begint de stijging in de fractie van de concentratievacuolen en secreetkorrels.

De resultaten, die door middel van celfractionering verkregen zijn, komen goed overeen met de gegevens uit EMA. Het resultaat van beide typen van onderzoek heeft tot de hier beschreven kennis van het transport geleid. De stappen daarvan zijn – nu met vermelding van de tijdsduur voor elk van hen – nog eens weergegeven in figuur 5.

Secretie

Exocytose

Aan het einde van de intracellulaire transportbaan liggen de rijpe secreetkorrels. In de klassieke secreetcellen, zowel exocriene als endocriene, zijn zij talrijk aanwezig (voorbeelden: exocriene speekselklieren, pancreas, slijmcellen, pepsinogeencellen van de maag; maar ook endocriene cellen van de eilandjes van Langerhans in de pancreas, cellen van de hypofysevoorkwab, mestcellen). Op hun aanwezigheid is in het verleden van de histologie het begrip kliercel gegrond. Er zijn echter ook cellen waarin zij maar gering in aantal zijn (voorbeelden: de melkkliercel, de levercel, de fibroblast, de chondroblast en de osteoblast, celwand vormende plantwortelcellen), terwijl het ook nog mogelijk is dat zij ontbreken (de plasmacel).

De korrels worden uitgescheiden. Hoe dat in zijn werk gaat wordt in figuur 6 geïllustreerd. De korrelmembraan stoot tegen de plasmamembraan. Op de plaats waar de twee membranen elkaar raken vindt op nog onbekende wijze een heroriëntatie van de membraanmolekulen plaats, met gevolg dat zowel in de plasmamembraan als in de korrelmembraan tegenover elkaar een kleine ronde opening ontstaat. De rand van de plasmamembraan rond dat gat is in contact met de rand van de korrelmembraan en zij versmelten tot één geheel. De korrelmembraan gaat dan zonder onderbreking over in de plasmamembraan, hij is als het ware een deel van de buitenmembraan van de cel geworden. De inhoud van de korrel staat nu in directe verbinding met de buitenwereld van de cel en het eiwit lost in de daar aanwezige vloeistof op: de korrelinhoud is dan 'uitgescheiden'. Eerst is aan de celoppervlakte nog een kuiltje te zien. Allengs echter verdwijnt dit. De buitenwereld kan het lumen van een klierbuis met daarin het secreetwater zijn (in het geval van een exocriene klier) of de extracellulaire weefselruimte met

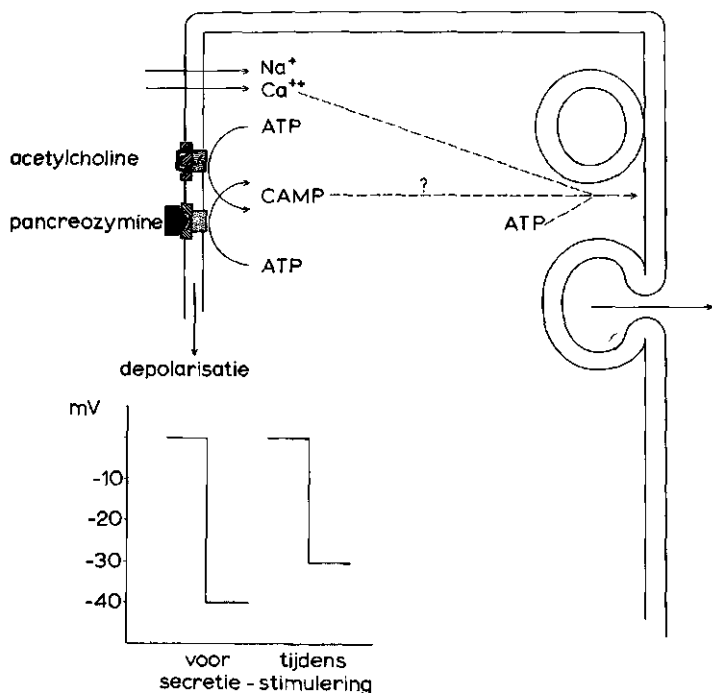


Fig. 6. Schema van exocytose en secretiestimulering. De celmembraan is schematisch weergegeven door een dubbele lijn. In de rechter helft is de exocytose verbeeld, alsmede de afhankelijkheid van ATP, Ca^{2+} en indirect misschien cAMP. In de linker helft: de binding tussen de stimulerende stof (zwart) en de receptor (gearceerd) en de koppeling tussen receptor en adenylcyclase (gestippeld) welk enzym ATP in cAMP omzet. De pijl naar beneden symboliseert de zich verplaatsende verandering in de celmembraan die resulteert in een verhoogde netto-doorlaatbaarheid voor Na^+ en Ca^{2+} en daardoor in depolarisatie. Linksonder is de vermindering in potentiaalverschil tussen de elektroden buiten en binnen de cel te zien.

de weefselvloeistof (in het geval van een endocriene klier, maar ook van de levercel, de fibroblast, de plantecel, enz.) De geschetste gebeurtenissen volgen elkaar snel op en zijn daardoor slechts zelden waar te nemen in de elektronenmicroscopische beelden van een secernerende cel. Men noemt het proces van membraanversmelting en secretie: exocytose (fig. 7).

Het proces van de exocytose kan gestimuleerd worden, zodat per



Fig. 7. Exocytotische secretie van glycoproteïne (pectine) uit een erwtwortelcel. De koolhydraat bevattende celstructuren zijn 'gekleurd', d.i. minder doorgankelijk gemaakt voor elektronen (volgens Rambourg). Secreëtvacuolen (V_3) naderen de celmembraan (pm), fuseren daarmee (V_4), waardoor de inhoud (S) aan de celkapsel (P) wordt toegevoegd. De membraan van de vacuolen en die van de cel vertonen beide ook een koolhydraat-rijke laag, die niet in de kapsel wordt opgenomen. (Uit: Vian & Roland, 1972.)

tijdseenheid veel meer secreetkorrels worden uitgescheiden. In de volgende paragraaf zal eerst worden besproken wat in de cel gebeurt als er geen prikkel (stimulus) tot secretie op haar inwerkt en vervolgens wat gebeurt als dat wel het geval is.

Ongestimuleerde secretie

Wat in een ongestimuleerde cel gebeurt hangt voor een groot deel van de synthese van het secretieproduct af. Er zijn cellen waar de synthese stopt als de secretieprikkel wegvalt. De cellen van bindweefsel, kraakbeen en been beëindigen de synthese van de tussenstof als de behoefte ophoudt (eigenlijk moeten we zeggen dat de synthese zeer sterk verminderd wordt omdat er altijd enige secretie blijft bestaan, nodig

voor de voortdurende vervanging van de extracellulaire materie). Hetzelfde geldt voor de synthese van insuline als een langdurig laag glucosegehalte in bloed en weefselvloeistof de behoefte aan dit hormoon erg klein maakt. De meeste celtypen gaan echter door met de synthese van secreteiwit. Dit doen speekselklierzellen, pepsinogeen-cellen van de maag, exocriene cellen in de pancreas, maar ook de mammotrope cellen van de hypofysevoorkwab, die een hormoon produceren dat de melkklierzellen tot synthese van melkeiwit en melkvet aanzet. Voortgaande synthese resulteert in voortdurende aanmaak van nieuwe secreetkorrels. Bestond er geen middel om de overtollige korrels te verwijderen, de cel zou allengs voller worden en reusachtige afmetingen moeten aannemen. Maar er bestaan mechanismen om het aantal korrels beperkt te houden.

In de reeds genoemde mammotrope cellen van de hypofysevoorkwab gaat de synthese van het hormoon door, ook als er niet meer gezoogd wordt en de hormoonsecretie stopt (de synthese in de melkklierzellen zelf houdt daardoor op). De overmaat aan hormonale secreetkorrels wordt uit de mammotrope cellen verwijderd door een intracellulair verteringsproces (Smith & Farquhar, 1966). In iedere cel komen ronde organellen voor, die, omhuld door een membraan zeer actieve, afbrekende enzymen bevatten, waaronder eiwitsplitsende. Zij heten lysosomen en worden in het hoofdstuk van Daems uitvoerig besproken. In de niet meer secernerende mammotrope cel fuseren deze lysosomen met de overtollige secreetkorrels. De eiwitsplitsende enzymen komen dan in contact met het in de korrels opgeslagen hormoon en breken dit af tot op de bouwstenen (aminozuren). Zo wordt het aantal korrels beperkt gehouden.

Een dergelijk mechanisme ontbreekt in de cellen van de exocriene pancreas van zoogdieren. Ook daar blijft de vorming van nieuwe secreetkorrels doorgaan. De overtollige korrels worden echter niet door afbraak maar door exocytose verwijderd (Kramer & Poort, 1972). Ook als geen secretieprikkel op de cel inwerkt vindt toch secretie plaats (ongestimuleerde of nuchtere secretie). Uit onderzoek van dit proces blijkt dat nieuwe en oude secreetkorrels niet wanordelijk door elkaar liggen in de celtop. In dat geval zouden jonge en oude korrels bijna gelijke kans hebben op exocytose, hetgeen niet het geval blijkt te zijn. Als namelijk na toediening van radioactief aminozuur een generatie van gemerkte secreetkorrels is ontstaan, dan worden er van deze korrels van meet af aan wel uitgescheiden. Vanaf ongeveer 20 minuten na toe-

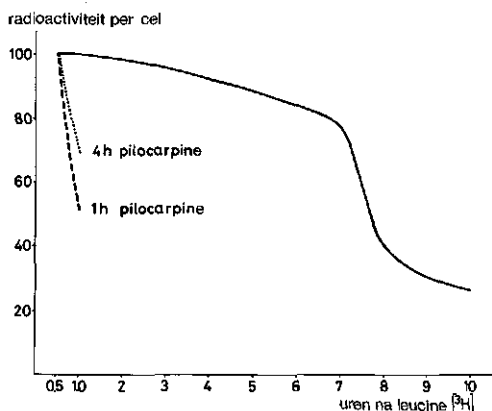


Fig. 8. Aanwezigheid van radioactief eiwit in pancreascellen van ratten, tot 24 uur na een intraveneuze inspuiting van *L*-leucine- $[^3\text{H}]$, vastgesteld door telling van het aantal zilverkorrels per cel in radioautogrammen. In niet-gevoede ratten verlaat het meeste radioactieve eiwit de cel tussen 6 en 9 uur na de synthese ervan, in met pilocarpine gestimuleerde dieren reeds tussen 30 en 60 min.

diening van het radioactieve aminozuur ziet men in radioautogrammen radioactief eiwit in de klierbuizen liggen. De grootste groep korrels echter verlaat de cel pas ná 6 uur (fig. 8). Kennelijk gaan de oudere, ongemerkte secreetkorrels voor. Men moet zich voorstellen dat er aan de zijde van het Golgi-systeem steeds nieuwe korrels worden gevormd, die de eerder gevormde opdrukken. De bovenste worden daardoor als het ware tegen de celmembraan geduwd en af en toe versmelt de membraan van zo'n oudere secreetkorrel met de buitenmembraan en is de cel weer een korrel minder rijk. Als door een kunstgreep de eiwitsynthese in de cel stopgezet wordt (met puromycine of cycloheximide) gaat de secretie van korrels aan de oppervlakte eerst nog enige tijd door, maar na enkele uren vermindert de frequentie van de exocytose aanzienlijk. Doordat geen korrels meer aan de voorraad worden toegevoegd wordt deze allengs kleiner, zodat de 'botsingskans' met de celmembraan steeds kleiner wordt, hetgeen de verminderde secretie verklaart.

Gestimuleerde secretie

Een kliercel kan worden gestimuleerd tot verhoogde secretie door

stoffen die de cel van buiten benaderen. Deze stoffen zijn van velerlei aard. De kliercellen van het spijsverteringsapparaat versnellen hun secretie onder invloed van kleine molekulen die door de uiteinden van de ingewandszenuwen worden uitgescheiden als deze zenuwen geprikkeld worden (neurotransmitters: acetylcholine en noradrenaline). De exocriene pancreascellen zijn gevoelig voor acetylcholine, maar niet voor noradrenaline. Zij worden bovendien gestimuleerd door een heel andere stof, het eiwithormoon pancreozymine, dat door cellen in de darmwand wordt uitgescheiden als deze met de voedselverteringsbrij in aanraking komen. Deze darmwandcellen worden derhalve tot hormoonsecretie gebracht door een of meer van de stoffen die in die brij aanwezig zijn. In de pancreas bevinden zich de eilandjes van Langerhans, groepjes cellen waarvan de meeste insuline maken en secerner. De secretie van dit bekende hormoon wordt gestimuleerd door een verhoogde glucoseconcentratie in bloed en weefselvloeistof, maar ook door een ander hormoon, glucagon. De hypofysevoorkwab scheidt allerlei eiwithormonen af, elk van hen uit een afzonderlijk celtype. Deze cellen worden gestimuleerd tot secretie door specifieke eiwitmolekulen die gevormd en uitgescheiden worden door zenuwcellen in het hypothalamische gedeelte van de hersenen (Engels: releasing factors). Over enkele van deze stimuli wordt in het hoofdstuk van Jongkind uitvoerig informatie gegeven.

Het werkingsmechanisme van deze stimulerende stoffen hoeft niet in alle gevallen gelijk te zijn. In feite is inzake de aard van de stimulering van secretie nog niet veel bekend. Op grond van wat over andere stimuleerbare celfuncties (zenuwcel-prikkeling, spiercel-contractie, vetcel-ontlediging) bekend is, moet men aannemen dat voor acetylcholine, noradrenaline en eiwithormonen in de buitenmembraan van de gevoelige cellen bepaalde soorten molekulen voorkomen die een binding aangaan met de stimulerende stof (receptormolekulen). Zo heeft de exocriene pancreascel waarschijnlijk afzonderlijke receptormolekulen voor acetylcholine en voor pancreozymine (fig. 6). Door de binding veranderen de eigenschappen van de receptormolekuul, deze verandering wordt doorgegeven aan het cytoplasma en zo komt een keten van moleculaire reacties tot stand, die uiteindelijk tot het goed waarneembare verschijnsel van de versnelde secretie leiden. Al weten we van deze keten van gebeurtenissen niet veel, enkele begeleidende verschijnselen zijn goed bekend.

Als een stimulerende stof de kliercel raakt is een eerste opvallend

verschijnsel, dat de elektrische lading van de cel verandert. Binnen iedere cel is een relatief tekort aan positieve ionen, waardoor een potentiaalverschil bestaat over de plasmamembraan: de positieve pool is buiten, de negatieve pool binnen. Als gevolg van de interactie tussen stimulerende stof en receptormolekuul verandert de grootte van dit potentiaalverschil, hetzij doordat het tekort aan positieve ionen nog groter wordt (hyper-polarisatie), hetzij doordat het minder wordt (de-polarisatie). In de pancreas bijvoorbeeld roepen zowel acetylcholine als pancreozymine depolarisatie op (fig. 6): het potentiaalverschil neemt af van -40 tot -30 mV (Dean & Matthews, 1972). Hoe de permeabiliteit van de plasmamembraan, die voor het potentiaalverschil verantwoordelijk is, veranderd wordt als gevolg van de binding tussen receptor en stimulus is niet bekend.

Een tweede verschijnsel dat met de stimulering samenhangt is de stijging in de hoeveelheid cyclisch adenosinemonofosfaat (cAMP), een stof waarover in het hoofdstuk van Konijn meer informatie wordt gegeven. Men neemt aan dat deze stof die door toedoen van een enzym in de plasmamembraan vrij komt (fig. 6) de boodschap van de stimulus overdraagt naar dieper in de cel gelegen reactiesystemen. Het zou, met andere woorden, een element zijn in de keten van moleculaire gebeurtenissen dat tot versnelde exocytose voert. In de exocriene pancreascel is een duidelijke stijging in de concentratie van cAMP gemeten, kort na toevoeging van acetylcholine of pancreozymine. Helaas is de concentratie nóg hoog als de stimulus reeds uitgewerkt en de secretie niet meer versneld is. Bovendien veroorzaakt van buiten toegevoegd cAMP wel stijging van de intracellulaire concentratie van deze stof, maar geen secretie. Kortom, de rol van cAMP in de secretie is nog duister (Case et al., 1972).

Duidelijk is wel het uiteindelijke effect van de stimulus: de grotere frequentie van de exocytose. Als gevolg daarvan verdwijnen meer korrels uit de cel dan in dezelfde tijd bijgemaakt worden en daalt het aantal per cel. Normaal, in het levende dier, is die daling beperkt. Tijdens de vertering van een overvloedige maaltijd houdt een pancreascel nog veel korrels over. Farmacologisch is een groter korrelverlies bereikbaar. Het meest werkzaam zijn stoffen die op acetylcholine (en in het geval van speekselklieren op noradrenaline) lijken, maar die doordat ze normaal niet in het lichaam voorkomen, aan de afbraak ontkomen waaraan normale stimulantia onderhevig zijn. Zij behouden daardoor langer na injectie een werkzame concentratie. Isoproterenol kan de

noradrenalinewerking versterkt imiteren, pilocarpine de acetylcholinewerking. Laatstgenoemde stof kan de voorraad secreetkorrels in een exocriene pancreascel in 2 à 3 uren met 95% verminderen.

Men moet aannemen dat de veranderingen in de cel door stimulatie de kans vergroten dat secreetkorrels met de plasmamembraan versmelten. Dit zou een gevolg kunnen zijn van een grotere beweging van de korrels in het cytoplasma, hetzij door een verminderde viscositeit, hetzij door een naar de celtop gerichte stroming. Dit is nog niet voldoende aangetoond. Ook wordt gedacht aan een werking van de microtubuli (zie het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten voor de werkingswijze van deze celstructuren) en microfilamenten, dunne eiwitdraden in het cytoplasma, die samentrekkende eigenschappen zouden bezitten, waardoor zij celonderdelen ten opzichte van elkaar kunnen verplaatsen. Het is tevens mogelijk dat de plasmamembraan of de korrelmembraan zelf beweeglijker wordt en in- of uitstulpingen vormt die de kans op een wederzijdse ontmoeting bevorderen. Misschien wordt de ontmoetingskans helemaal niet groter, maar verandert alleen de bereidheid van de cel- of korrelmembraan om te fuseren. Wat de oorzaak ook zij, het aantal exocytosen per tijdseenheid stijgt snel. Energierijke verbindingen als ATP en ook calcium-ionen zijn onontbeerlijk voor de gestimuleerde secretie (Jamieson & Palade, 1971).

Als de korrelmembraan fuseert met de buitenmembraan, dan is de eerste een deel van de plasmamembraan geworden. Dit schijnt moleculaire consequenties te hebben. Het is een opvallend verschijnsel dat secreetkorrels onderling niet fuseren, hoewel tussen hen toch ook 'botsingen' zullen voorkomen. Men ziet echter wel fusies tussen de ene en de andere korrel als één van hen bezig is met exocytose. Kennelijk neemt de korrelmembraan tijdens de exocytose snel die moleculaire eigenschappen van de plasmamembraan aan, die fusie met secreetkorrels mogelijk maken. Door deze verandering, die op haar beurt ook in de membraan van de tweede fuserende korrel optreedt, en van de derde, vierde, enz., is het mogelijk dat ook diep in het cytoplasma gelegen korrels geseccerneerd worden, hetgeen de snelheid van secretie ten goede komt. Deze series van exocytosen resulteren in bochtige kanalen die diep de cel in dringen, caveolae geheten.

Is hiermee het opvallendste effect van de secretieprikkel op de cel weergegeven, er is nog een laatste effect te bespreken (Kramer & Geuze, 1974). Tijdens het proces van de frequente exocytosen en ook daarna gaat de synthese van secreteiwit door. In de ongestimuleerde cel duurt

het globaal 7 uur voordat een generatie van eiwitmolekulen aan de beurt is om uitgescheiden te worden. Als echter een gestimuleerde cel radioactief aminozuur krijgt aangeboden, vindt de uitscheiding van radioactief gemerkte eiwitmolekulen veel sneller plaats. Is in de ongestimuleerde cel 60% ervan uitgescheiden na 8 uren, in de gestimuleerde cel is dat reeds na één uur het geval (fig. 8). Het blijkt dat in de gestimuleerde cel de neiging tot exocytose zo groot is, dat secreetkorrels zodra zij maar voltooid zijn ogenblikkelijk met de celmembraan fuseren. Concentratievacuolen komen normaal tot stand, maar zodra de concentratie daarin voltooid is blijkt de membraan in staat tot fusie. Daarvóór niet. Dat verklaart dat zowel in ongestimuleerde, als in gestimuleerde cellen secreteiwit nooit wordt uitgescheiden binnen de eerste 20 minuten na zijn synthese. Daarna gaat het in de gestimuleerde cel snel de cel uit, omdat de jongste secreetkorrels ogenblikkelijk het slachtoffer worden van de vergrote fusiedrift. Het resultaat is een aanzienlijke bekorting van het intracellulaire transport.

Behalve doordat de laatste en langste fase van de transportweg wordt overgeslagen, wordt de secretietijd ook nog vervroegd, zij het relatief weinig, door een versnelde passage uit de cisternen van het RER naar het Golgi-systeem, waardoor eiwitmolekulen wat sneller de concentratievacuolen bereiken. De vermoede pompwerking die hiervoor aansprakelijk is, is blijkbaar versneld, hetgeen overeenkomt met het grotere aantal Golgi-blaasjes dat in de gestimuleerde cel aanwezig is.

De binding tussen stimulerende stof en receptormolekuul in de plasmamembraan resulteert dus in een keten van moleculaire gebeurtenissen, die zich uit in een veranderende doorlaatbaarheid van de celmembraan voor ionen, in een stijgende concentratie van cAMP, en in groeiende frequentie van de fusie van secreetkorrels met de plasmamembraan, een fusie die afhankelijk is van energie en calcium. De fusiedrift strekt zich uit tot de allerjongste secreetkorrels, die als gevolg van de indikkende werking uit de concentratievacuolen ontstaan.

Als de hoeveelheid stimulerende molekulen rond de cel afneemt, vermindert de fusiedrift. Allengs ontsnappen steeds meer jonge secreetkorrels aan de exocytose, waardoor het aantal korrels weer begint te stijgen en het langer gaat duren voordat een bepaalde hoeveelheid radioactief gemerkt eiwit de cel heeft verlaten. In de exocriene pancreascel begint het korreltal rond het vierde uur na pilocarpine-inspuiting te stijgen. Na 7 uur is de cel nog niet vol; er is dan nog steeds enige vervroegde secretie. Na 12 uur is de vullingsgraad weer normaal.

Eerder is er op gewezen, dat niet alle secernerende cellen korrels bezitten. De plasmacel secerneert zijn produkt (antilichaam, of chemisch gesproken: immunoglobuline) direkt na de passage van het Golgi-systeem, zonder het stadium van concentratievacuolen. Zo'n cel is dus te vergelijken met een cel in een staat van voortdurend zo extreme stimulatie, dat de plasmamembraan al fuseert met de rijpe Golgi-cisternen, hetgeen in een exocriene pancreascel niet bereikt wordt, zelfs niet bij de sterkste secretiestimulering (pilocarpine).

Membranen

Transport en secretie hangen samen met aanzienlijke membraanveranderingen (Geuze et al., 1974). Weinig is bekend omtrent vorming en afbraak van de membranen. Hoewel de globale samenstelling uit eiwit, vet (verzadigde en onverzadigde triglyceriden, fosfolipiden en cholesterol) en koolhydraten bekend is, weet men nog nauwelijks om welke eiwitsoorten het gaat. Bovendien bestaat er nog geen antwoord op vragen als: waar worden de membraaneiwitten gemaakt, waar en hoe worden de vetmolekulen aangehecht, bestaan er brokstukken van lipoproteïnen die aaneengevoegd worden tot nieuwe membranen of groeien nieuwe membranen door aanvoeging van molekulen aan bestaande membranen, hoe fuseren zij, hoe worden zij afgebroken?

Als secreteiwit door blaasjes vervoerd wordt van het RER naar het Golgi-complex wordt ook membraan van het ene naar het andere gebied verplaatst (membraanverschuiving is trouwens ook denkbaar als buisjes de verbinding tussen de twee gebieden vormen). Er wordt ook membraan verplaatst in de Golgi-gebieden als daar de cisternen inderdaad opschuiven van de onrijpe naar de rijpe zijde. Aan de rijpe zijde nemen de concentratievacuolen membraan mee. Dit alles resulteert in een nettomembraanverplaatsing van het RER naar de concentratievacuolen.

De verplaatsing gaat gepaard met verandering in de hoeveelheid membraan. De vorming van uitbochtigen in de overgangselementen van het RER die de Golgi-blaasjes zullen worden, vergt toevoeging van membraanelementen. Dit kan ter plaatse of elders in het RER geschieden. In het Golgi-gebied daarentegen moet membraan verwijderd worden. De hoeveelheid membraan die nodig is om het getransporteerde eiwit te verpakken is immers kleiner wanneer eiwit in grote vacuolen dat gebied verlaat dan wanneer het in vele kleine Golgi-

blaasjes binnenkomt. Ook uit concentratievacuolen moet membraan worden verwijderd. De secreetkorrels bevatten immers meer eiwit per volume-eenheid dan de vacuolen: per gewichtseenheid eiwit neemt dus de hoeveelheid membraan verder af, totdat het indikkingsproces voltooid is.

Gezien de verschillen in functie tussen de membranen van het RER, het Golgi-gebied en de concentratievacuolen kan men zich niet onttrekken aan de gedachte, dat deze membranen ook in samenstelling zullen verschillen. Er zijn bij de chemische analyse inderdaad verschillen gevonden tussen membranen van het RER, het Golgi-gebied en secreetkorrels. In de elektronenmikroscoop is waargenomen, dat de membraan van de secreetkorrels dikker is dan die van het RER en dat de toeneming in dikte in het Golgi-complex plaats vindt (zie ook het hoofdstuk van Daems). Dit alles impliceert dat de membranen tijdens de verplaatsing van RER naar Golgi-gebied en van het laatste naar de secreetkorrels niet onveranderd blijven. Dit impliceert dat niet alleen in het RER of in de overgangselementen daarvan membraandelen worden (in)gebouwd, maar ook elders.

Opbouw en verwijdering van membraan spelen dus een rol in het transport. De membraanvermindering in de concentratievacuolen komt althans ten dele tot stand door een zichtbaar proces: membraandelen van de vacuolen buigen naar buiten en snoeren zich af tot blaasjes met een diameter van 20 nm. Deze blaasjes en de membraangebieden waaruit zij ontstaan, vertonen aan de cytoplasma-kant haaks op de membraan staande uitsteekseltjes. Deze bekleding heeft, hun de Engelse naam 'coated vesicles' verschaft (fig. 9).

Vindt tijdens het transport van secreteiwit vorming, verplaatsing en verwijdering van membraan plaats, ook de secretie zelf impliceert verplaatsing en verwijdering van membraan. Exocytose immers houdt in dat de korrelmembraan wordt ingevoegd in de plasmamembraan. Als de uitbreiding van de celmembraan niet gecompenseerd zou worden door verwijdering van celmembraan zou de cel te wijd in haar jas komen te zitten. Overduidelijk geldt dit voor de cel met gestimuleerde secretie, die binnen 2 uur de membraan van honderden korrels aan haar buitenmembraan toevoegt (waarbij de cel ook nog een iets kleiner volume krijgt door het verlies van die korrels!). Juist in de gestimuleerde klier cel is zeer goed waarneembaar, dat de omhullende membraan wordt 'ingenomen', en wel op drie manieren (Kramer & Geuze, 1974).

Gedurende de eerste twee uren na aanbieding van de stimulerende

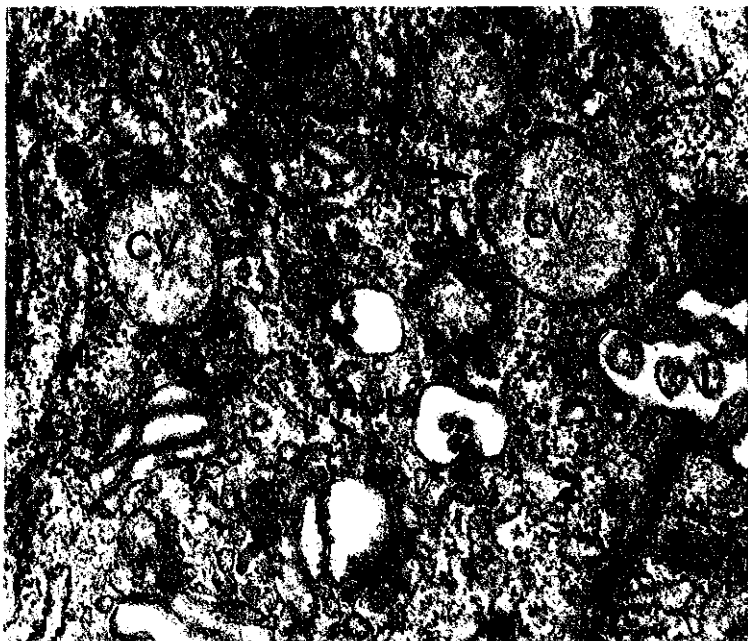


Fig. 9. De membraan van een concentratievacuole (CV) wordt verkleind doordat gedeelten ervan, voorzien van een 'coat', naar de cytoplasmatische matrix toe uitbuigen (pijlen) en afsnoeren als 'coated vesicles'. L: lumen, G: Golgi-gebied, mvb: 'multivesicular body' (EM, rattepancreas) (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

stof vertoont de celtop diepe inhammen; bochtige kanalen die de diepte van de cel ingaan, ontstaan uit de series van exocytosen. De wand van zo'n onregelmatig kanaal stoot plaatselijk tegen zichzelf en versmelt dan ter plaatse, waardoor de dieper gelegen delen van die kanalen tot vrije, grote en kleine vacuolen worden (fig. 10). Deze kunnen fuseren met andere vacuolen die op gelijke wijze tot stand zijn gekomen. De hoeveelheid overtollig membraan die in deze vacuolen kan worden opgeslagen neemt toe door een eigenaardig proces. De membraan van de vacuole buigt op vele plaatsen in naar de holte van de blaas. Vervolgens snoeren deze kuiltjes zich van de vacuolewand af, waardoor zij blaasjes binnen de vacuole worden. Zo ontstaan wat in het Engels 'multivesicular bodies (MVB)' heten, structuren waarin zeer veel overtollig



Fig. 10. Van de diepe inham (pijl) van het lysosom (L), die ontstaan is door exocytose van secreetkorrels, snoeren zich blazen* (B) af. G: Golgi-gebied, SG: secreetkorrel (EM, rattepancreas 3 uren na stimulering met pilocarpine). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

membraan kan worden opgeslagen (fig. 2, 9 en 13). Waarschijnlijk fuseren de MVB's met de reeds eerder genoemde lysosomen, waarvan de afbrekende enzymen daarna de membranen verteren. Als dit inderdaad het einde van overtollig membraan zou zijn, wordt het weinig

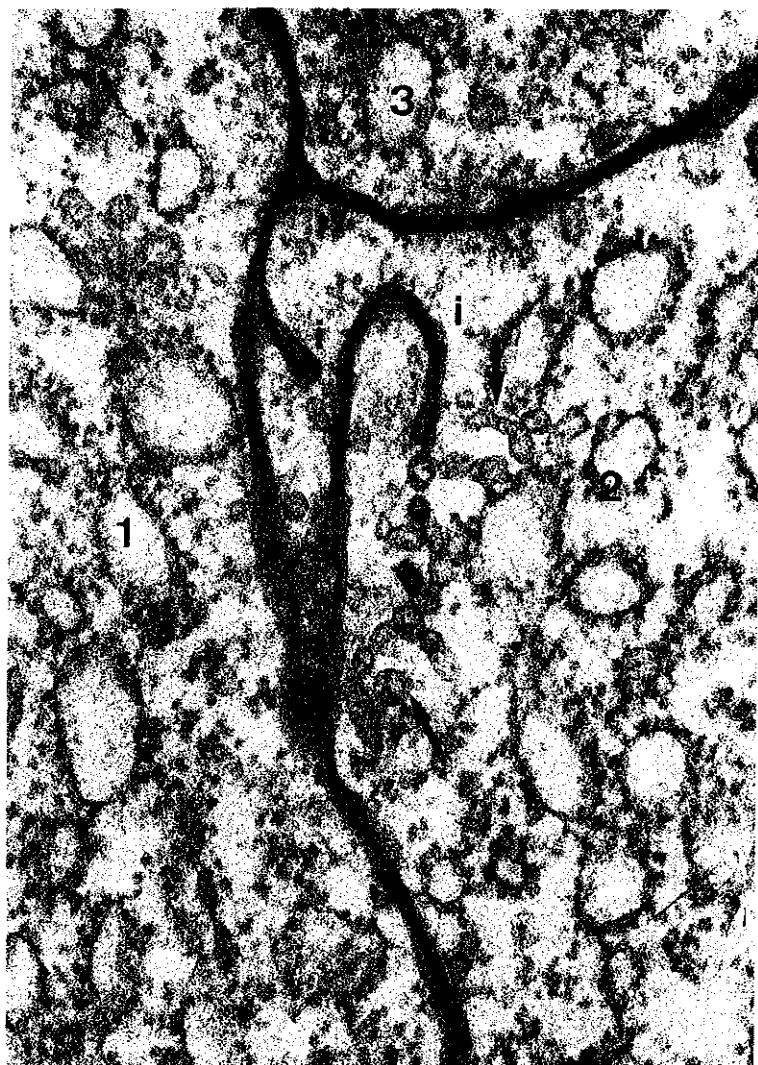


Fig. 11. Diepe instulpingen (i) van de membraan aan de zijkant van cel 2 verbrokkelen aan het einde tot blaasjes. Ferritine was in de ruimte om en tussen de cellen 1, 2 en 3 gedrongen en vandaar in de instulpingen. De aanwezigheid van ferritine in de blaasjes (zwarte stippen) bewijst de endocytotische oorsprong (EM, rattepancreas, 3 uren na stimulering met pilocarpine en 30 min na ferritine-aanbod). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht)

waarschijnlijk dat membraandelen in hun geheel worden gebruikt voor nieuw te vormen membranen. Dan zal voor de nieuwe vorming gebruik moeten worden gemaakt van moleculaire bouwstenen, die o.a. vrijkomen uit de lysosomale afbraak van overtollig membraan (zie ook het hoofdstuk van Daems). Op deze manier ontdoet de cel zich snel van een

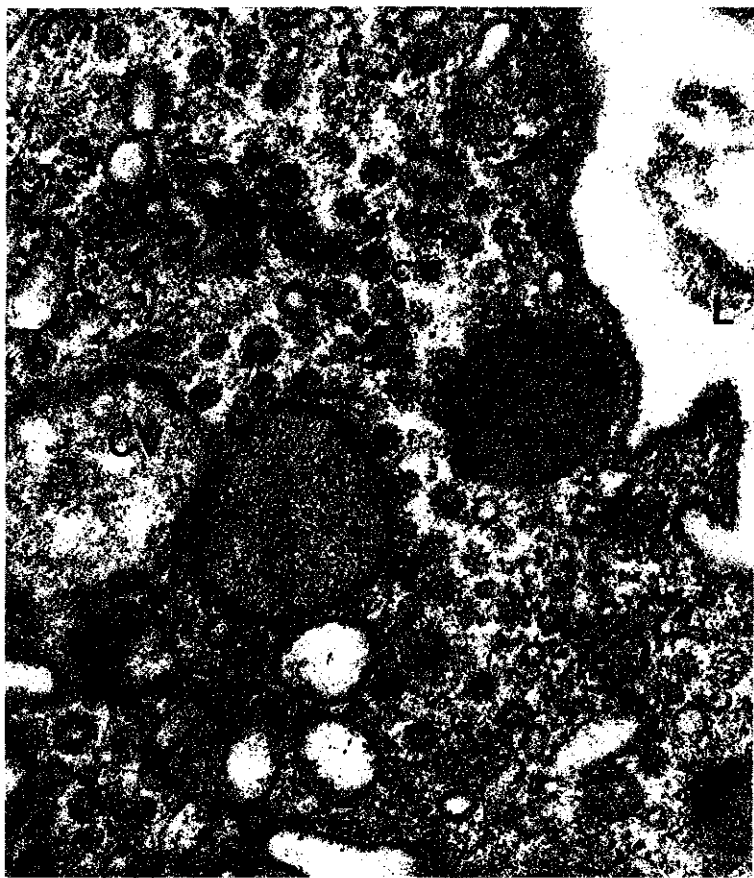


Fig. 12. Een gebied met veel 'coated vesicles' (c.v.) in de top van een pancreascel. B: endocytotische blazen, CV: concentratievacuole, SG: sekreetkorrel, L: lumen (EM, rattepancreas, 3 uren na stimulering met pilocarpine). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

groot deel van haar omhulling die na secretiestimulering plotseling sterk vergroot was.

Er is een tweede manier. Gedurende de eerste uren na de stimulering wordt een deel van de aan de celtop uitbreidende celmembraan naar de zijkanen van de cel verschoven en daar opgevangen in een toenemende plooiing van de membraan. Overtollig membraan wordt dan 'ingenomen' door de vorming van buisvormige instulpingen tot diep in de cel (fig. 11). Aan het einde daarvan verbreekt de buis in talrijke, kleine vacuolen. Ook deze vacuolen versmelten met de lysosomen.

Op de beschreven twee manieren raakt de cel het merendeel van het overtollige membraanmateriaal kwijt. Een derde manier heeft waarschijnlijk in aanvulling op de eerder beschrevene tot doel een nauwkeuriger aanpassing van celomhulling aan celinhoud te bewerkstelligen. Vooral rond het derde uur na de stimulering wordt dit derde proces waargenomen. De membraan van de celtop vertoont vooral dan kleine kuiltjes die zich tot blaasjes in het cytoplasma afsnoeren. De blaasjes, evenals de kuiltjes, vertonen haaks op de membraan dezelfde uitsteekseltjes die reeds genoemd zijn bij de bespreking van de membraanvermindering van de concentratievacuolen (fig. 12). De vorming van 'coated vesicles' die daar de membraan verkleint blijkt ook een rol te spelen bij de aanpassing van de buitenmembraan.

Uit de voorgaande beschrijving mag niet de conclusie worden getrokken, dat overtollig membraan onder alle omstandigheden in de lysosomen terecht komt en daar afgebroken wordt. Er zijn aanwijzingen dat in andere gevallen overtollige membraanstukken niet afgebroken, maar ergens in de transportweg weer gebruikt worden voor de vorming van nieuwe membranen.

Onderzoeksmethoden II

Hoe is men te weten gekomen dat de cel op drie manieren haar omhulling aanpast aan haar volumen? Met de elektronenmicroscopie ziet men in beelden van de cel wel membranen, maar of die zich verplaatsen en of zij dat doen in de richting van dan wel naar de plasmamembraan is uit die statische beelden niet op te maken. Om daar een indruk van te krijgen worden twee hulpmiddelen toegepast. Het eerste bestaat hieruit dat in de omgeving van de cel grote molekulen worden gebracht, die in de elektronenmicroscopie zichtbaar zijn door hun grootte en niet door de plasmamembraan heen kunnen diffunderen. Als de plasmamem-



Fig. 13. Een groot lysosoom (links van Ly), beladen met ferritine (zwarte stippen) en een 'multivesicular body' (mvb), waarin ook ferritine aanwezig is. Ferritine was ingespoten in de klierorganen en heeft de genoemde structuren via endocytose vanuit het lumen bereikt (EM, rattepancreas, 3 uren na stimulering met pilocarpine, 30 min na ferritine-aanbod). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

braan naar binnen wordt getrokken en door afsnoering vacuolen doet ontstaan, zullen de componenten van de buitenwereld in de vacuolen gevangen raken. De kunstmatig in de buitenwereld gebrachte gemerkte molekulen worden dan in de vacuolen waargenomen. Stoffen die hiervoor gebruikt worden zijn vooral ferritine (een eiwit met ijzeratomen, die samen een verstrooiende hinderpaal vormen voor de in de elektronenmicroscopie doorgaande elektronen en daardoor in het beeld weergegeven worden) en peroxydase (een enzym waarvan de ligging in coupes gemakkelijk cytochemisch zichtbaar gemaakt kan worden door een reactieproduct met elektronen-verstrooiende werking). Als dergelijke molekulen binnen de cel worden waargenomen moeten zij daar door endocytose terecht zijn gekomen. Als zij ook nog te zien zijn in de lysosomen moet de endocytotische vacuole met die structuur gefuseerd zijn (fig. 13). Men kan ferritine en peroxydase door injectie in de bloedbaan via het bindweefsel bij de onderkant en de zijkanten van de cel brengen en zo is het endocytotisch proces van de zijkant bestudeerd. Zij kunnen ook door inspuiting in de klierholte bij de top van de klier cel gebracht worden en zo zijn de twee typen van endocytose daar bestudeerd.

Een tweede methode berust op het aanbrengen van 'kleurstof' in of op de buitenmembraan. Onder kleurstof wordt in de elektronenmicroscopie een stof verstaan, die zich aan celcomponenten hecht en elektronen verstrooit. Het zout lanthanumnitrat ($\text{La}(\text{NO}_3)_3$) kan als het in de celomgeving wordt gebracht niet in de cel binnendringen maar zich wel binden met de plasmamembraan. Het zware metaal (atoomgewicht 139) verstrooit sterk de elektronen van de microscopische bundel. Als de plasmamembraan naar binnen getrokken wordt, neemt men elektronen-dichte intracellulaire membranen waar. De herkomst van die membranen is dan bekend. Deze kleurstof kan ook via de bloedbaan en via de klierholte bij de cel worden gebracht.

Samengestelde eiwitten

Het proces van transport van een eiwit van de ribosomen, waar het gesynthetiseerd is, naar de oppervlakte van de cel, waar het exocytotisch wordt uitgescheiden, is in het voorafgaande beschreven. Secretieproducten zijn echter vaak niet puur eiwit in de zin van macromolekulen die louter en alleen opgebouwd zijn uit aminozuren in peptidebinding. In zeer veel gevallen zijn aan het eiwitmolekuul andere

molekulen verbonden: koolhydraten en/of vetten. Men spreekt dan van glycoproteïnen, lipoproteïnen of glyco-lipoproteïnen. De koolhydraat- en vetdelen van het samengestelde eiwit staan dwars op de aminozuurketen (fig. 14).

De koolhydraten bestaan zelf ook uit ketens van suikermolekulen. Al naar gelang het aantal en de lengte van die ketens is de verhouding tussen aminozuren en suikers verschillend. Er zijn glycoproteïnen, waarvan de suikers slechts een gering deel van het gewicht vormen; er zijn er ook waar dat 60% is. Voorbeelden van glycoproteïnen zijn de slijmstoffen die door de epitheelcellen en klieren van het spijsverterings- en ademhalingkanaal worden uitgescheiden. Ook in het bloed komen ze voor, uitgescheiden door de levercellen, met koolhydraatgehalten variërend van 0,5 tot 45%. De gonadotrope hormonen van de hypofysevoorkwab zijn ook glycoproteïnen (20% koolhydraat), evenals het thyrotrope hormoon (daarentegen zijn het corticotrope en het reeds eerder vermelde mammotrope hormoon alleen uit aminozuren opgebouwd). De lipoproteïnen komen in het bloed voor, door de lever uitgescheiden. Het vetaandeel varieert van 43 tot zelfs 93%.

De vorming van samengesteld eiwit verschilt naar de aard van het secretieproduct en van de cel die het maakt. Als voorbeeld volgt hier tot slot een beschrijving van de manier waarop glycoproteïnen gevormd

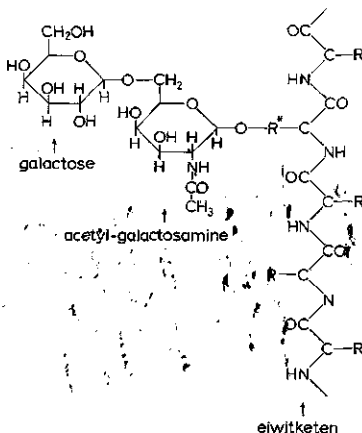


Fig. 14. De hechting van een suikerketen (acetyl-galactosamine en galactose) aan de eiwitketen, door middel van de glycosydybinding tussen galactosamine en serine of threonine. R^* = serine of threonine.

en getransporteerd worden. Dat begint weer met de synthese van een aminozuurketen op de ribosomen, die aan de membranen van het RER gehecht zijn. Het eiwit wordt weer door de membraan in de holte van de cisterne geschoven. Het eerste suiker van ieder van de dwarsketens van koolhydraat wordt dan vastgemaakt, meestal aan de aminozuren threonine, serine of asparagine, door toedoen van een enzym dat deel uitmaakt van de membraan van de RER-cisterne (volgens sommige onderzoekers wordt het al in het ribosoom aan de nog groeiende aminozuurketen bevestigd). In speeksel- en maagslijm en in melkeiwit is dat eerste suiker galactosamine (fig. 14), in immunoglobuline zowel galactosamine als glucosamine, in thyroglobuline daarentegen mannose!

Dit eerste suikermolecuul wordt door een volgend enzym weer herkend als een aanhechtingsplaats voor het tweede suikermolecuul. Dan volgt hierna het derde suikermolecuul, door een derde enzym. Deze enzymen (transferasen geheten) vindt men vooral in de membranen van de Golgi-cisternen (hoewel ze misschien ook wel in de membraan van het RER voorkomen). Vooral daar worden de koolhydraat-zijketens van de glycoproteïnen verlengd (fig. 15). In de slijm-producerende cellen worden voornamelijk galactose en galactosamine in de keten opgenomen. Tenslotte worden eindstandig nog twee bijzondere koolhydraatmolekulen aangehecht: fucose en siaalzuur. Ook dit geschiedt in de (rijpe) Golgi-cisternen. In de plasmacel, die zoals we reeds vermeldden geen opslag van secretieproduct kent, wordt het eindstandig fucose pas aangehecht vlak voor het moment van de secretie (Melchers, 1971). Ook plantecellen scheiden polysacchariden (echte polysacchariden en glycoproteïnen) af voor de vorming en het onderhoud van de celwand. De eerste, cellulose en hemicellulose, worden niet echt gesecerneerd, maar aan de oppervlakte van de cel door toedoen van enzymen in de plasmamembraan gevormd uit glucose, respectievelijk xylose. Pectine daarentegen – het koolhydraatgedeelte van het glycoproteïne, bestaande uit galactose, galacturonzuur en arabinose – ontstaat in het Golgi-systeem (Bowless & Northcote, 1972) en wordt van daar uit in concentrerende vacuolen naar de celmembraan getransporteerd, waar het exocytotisch wordt uitgescheiden (Vian & Roland, 1972). Buiten de cel raken cellulose, hemicellulose en pectine-eiwit met nog andere stoffen (lignine bijvoorbeeld) vervlochten tot een stevig netwerk dat de celwand vormt.

Uit deze beschrijving blijkt dat de cel voor de aanhechting aan eiwit

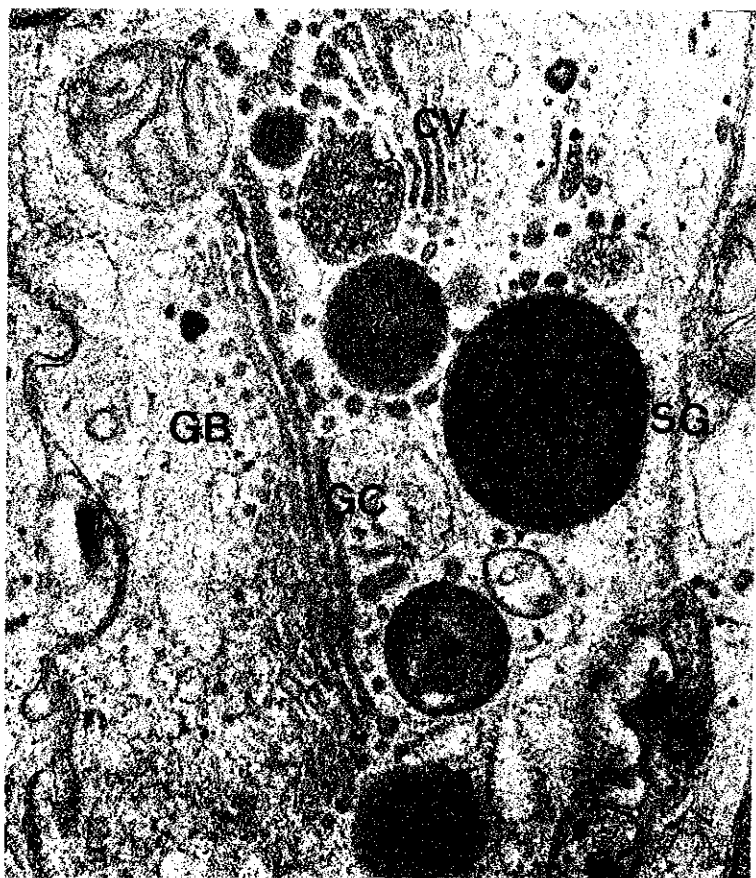


Fig. 15. Structuren rond en in het Golgi-gebied in een slijmvoornende maag-epitheelcel, waarin de koolhydraat-bevattende structuren gekleurd zijn (volgens Thiéry). De Golgi-blaasjes (GB) zijn zwak gekleurd. De Golgi-cisternen (GC) worden sterker gekleurd naarmate zij meer naar de 'rijpe' zijde (rechts) liggen. Concentratie-vacuolen (links onder CV), en secretiekorrels (SG) bevatten koolhydraat in grote concentratie (EM, rattenmaag). (Opname Centrum Medische Elektronenmikroskopie, Utrecht.)

van suikermolekulen – en waarschijnlijk ook van vetmolekulen – de transportweg van eiwit gebruikt als een lopende band, waarlangs arbeidzame enzymen het voorbijschuivende produkt verder vervolmaken.

Slotopmerkingen

Door zoveel mogelijk verschillende celtypen als voorbeeld te gebruiken is geprobeerd duidelijk te maken, dat het beschreven systeem van intracellulair transport en exocytotische secretie algemeen voorkomt, bij mens, dier en plant. In alle gevallen is een eiwitketen de basis van de getransporteerde en uitgescheiden stof. Andere molekulen of molekuulketens kunnen daaraan verbonden worden, soms in zo grote mate dat het eiwitaandeel chemisch gesproken onbelangrijk wordt.

Het systeem speelt een grote rol in de opbouw van multicellulaire organismen, omdat langs deze weg verbindende, stevig-makende en communicatie verzorgende stoffen worden vervaardigd en buiten de cel gebracht. Dank zij dit systeem kan de cel haar milieu beïnvloeden, zodat het een multicellulaire organisatie mogelijk maakt. Het transport- en secretiemechanisme blijkt goed beveiligd te zijn. Abnormale vormen ervan komen voor zover thans bekend niet voor, gezien het feit dat ziekten op basis van defecte cellulaire secretiemechanismen niet bekend zijn. Moge dat zo blijven.

Opnameprocessen en grensvlakken

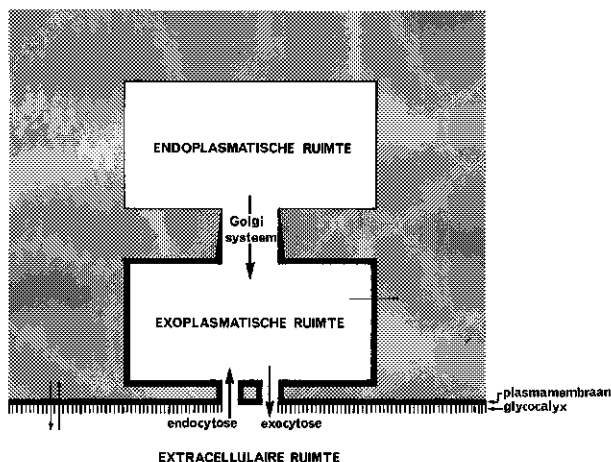
W. TH. DAEMS

Inleiding

In het grensvlak van de cel en haar omgeving wordt bepaald wat wel en wat niet, en bovendien op welke wijze, materiaal door de cel zal worden opgenomen. Ook wordt in dit grensvlak, dat gevormd wordt door de plasmamembraan, bepaald wat het verdere lot van het opgenomen materiaal zal zijn, met andere woorden, in welke van de zeer talrijke stofwisselingsprocessen van de cel het zal worden geïntroduceerd. Opmerkelijk is dat deze stofwisselingsprocessen plaatsvinden naast elkaar, evenwel zonder elkaar te storen. Dit is mogelijk, doordat de cel verdeeld is in talrijke compartimenten, welke van elkaar en van de cytoplasmatische matrix zijn gescheiden door membranen. De verschillende compartimenten kunnen gegroepeerd worden tot systemen, zoals het systeem dat de kern en het endoplasmatisch reticulum omvat en dat belast is met de synthese van voor de eigen cel of het organisme noodzakelijke macromolekulen, en het systeem waarin het lysosomale apparaat en eventuele secreet-granula de belangrijkste onderdelen vormen. Ieder van deze beide – van het cytoplasma deeluitmakende – systemen, ook aangeduid als respectievelijk de endoplasmatische ruimte en de exoplasmatische ruimte (fig. 1; De Duve, 1969), omvat verschillende onderdelen waartussen, hetzij door permanente, hetzij door tijdelijke verbindingen, onderlinge overdracht van materiaal mogelijk is.

De vraag rijst, op welke wijze de verbindingen tussen de beide sy-

Verklaring van de in de foto's gebruikte afkortingen: N = kern; cyt = cytoplasmatische matrix; m = mitochondrium; gly = glycocalix; G = Golgi-systeem; er = endoplasmatisch reticulum; L = lysosoom; mv = microvillus; lum = capillairlumen; b = bacterie-bevattend fagosoom.



■ = cytoplasmatische matrix
 — = dikke membraam
 — = dunne membraam
 ⇄ = moleculair transport

Fig. 1. Schematische voorstelling van de verdeling van de cel in een endoplasmatische ruimte en een exoplasmatische ruimte. De membranen die de elementen van de endoplasmatische ruimte begrenzen: de kernmembranen en de membranen van het endoplasmatische reticulum hebben een relatief geringe dikte (zie ook fig. 5 en 6), de membranen van de exoplasmatische ruimte: de membranen van lysosomen, fagosomen en secreetkorrels zijn daarentegen van het 'dikke' type (zie ook fig. 2-4, 6). In het Golgi-apparaat, dat de sluis vormt tussen beide compartimenten, treedt een geleidelijke verandering in de dikte van de membranen op. (Naar Jacques, 1969b.)

stemmen in de cel en tussen de onderscheidene onderdelen binnen beide systemen worden gerealiseerd. Hiertoe beschikt de cel over twee mechanismen: versmelting van compartimenten en afsnoering van een deel van een compartiment. Dank zij deze mechanismen is transport van materiaal mogelijk waarbij de betreffende compartimenten gesloten blijven. Naast deze mechanismen bestaat echter een derde mogelijkheid, namelijk die van transport door membranen heen (zie Schoffeniels, 1969). Niet alleen voor de plasmamembraan, maar ook bij het transport van materiaal van de exoplasmatische ruimte naar de cytoplasmatische matrix speelt dit laatste mechanisme een uiterst belangrijke rol (zie fig. 1). De tijdelijke verbindingen tussen de endoplasmatische en de exoplasmatische ruimte laten slechts een verkeer in

één richting toe, en wel uitsluitend van de endoplasmatische naar de exoplasmatische ruimte. Zoals later besproken zal worden, is deze 'sluis'-functie gelokaliseerd in het Golgi-systeem.

Voor een beschouwing over opnameprocessen en grensvlakken dienen we echter eerst meer te weten over het belangrijkste, bij de vorming van grensvlakken in en om de cel betrokken structuur-element: de biologische membraan met eventueel daaraan gehechte macromolekullen.

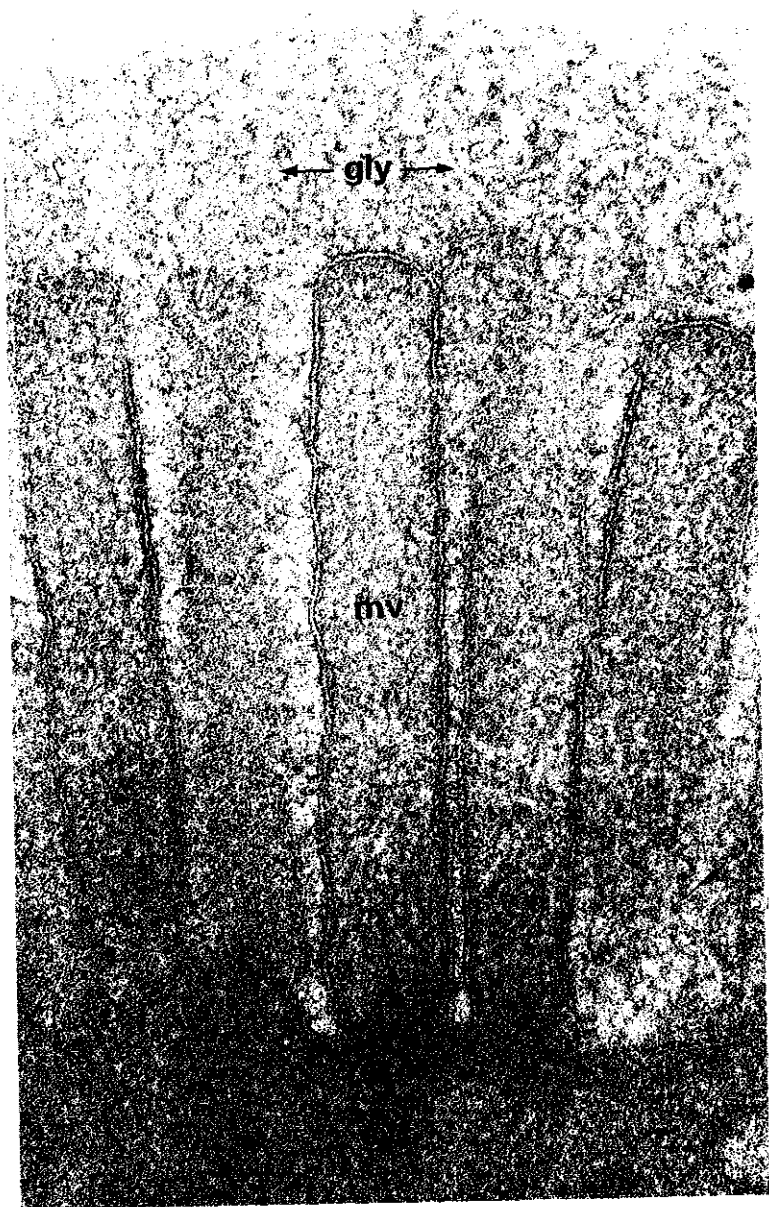
Biologische membranen

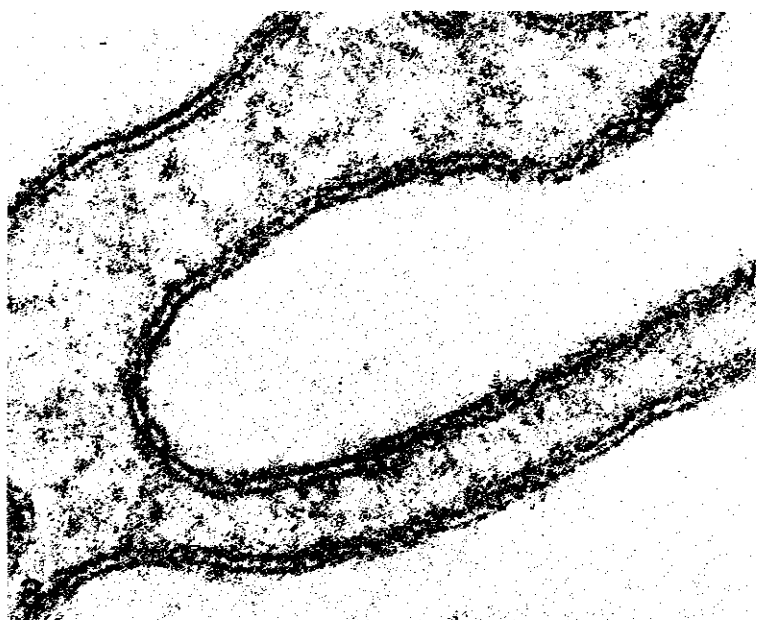
Biologische membranen tonen in de elektronenmicroscopie een drie-lagige structuur: twee donkere lagen, gescheiden door een lichte tussenruimte (fig. 2 en 3), het geheel wordt vaak aangeduid als de zogenaamde 'unit membrane' (zie Robertson, 1973). De dikte van de membranen wisselt, afhankelijk van de plaats van de membraan in de cel: plasmamembranen hebben een dikte van circa 10 nm, evenals de membranen van de exoplasmatische ruimte. Daarentegen hebben de membranen van mitochondria, van de endoplasmatische ruimte en van een deel van het Golgi-apparaat een dikte van 5-7,5 nm (fig. 5 en 6). Hierbij moet worden aangetekend, dat zowel de in de elektronenmicroscopie zichtbare structuur van de membraan als de dikte ervan in belangrijke mate wordt bepaald door de gebruikte fixatie en/of kleuring (Elbers, 1964; Sjöstrand, 1971).

Dit fenomeen hangt nauw samen met de chemische samenstelling van de biologische membranen, die bestaan uit een hoog georganiseerd complex van lipiden en eiwitten. Liget voor de lipiden - in de meeste dierlijke cellen voor een belangrijk deel fosfolipiden en cholesterol - het 'skelet' van de biologische membraan vast, de bijdrage van de eiwitmolekullen is omvangrijker. Zij kunnen zowel in de membraan aanwezig zijn als structuureiwitten, dan wel enzymatische actie hebben en daarmee de specifieke functie van de membraan bepalen. In dit laatste geval kan de membraan naast de functie van een chemische of mechanische

Fig. 2. Deel van de borstelzoom van een epitheelcel van de dunne darm. Duidelijk is zichtbaar, dat de microvilli uitstulpingen van de plasmamembraan zijn, welke ook in dit geval de karakteristieke drie-lagige structuur toont.

Zowel op als tussen de microvilli bevindt zich de glycocalyx, die zichtbaar is als een gebied van vezelig materiaal. Vergroting 120.000 $\times$.





4

barrière ook zorgen voor ruimtelijke ordening van de verscheidene enzym-molekullen en daardoor de basis leggen voor een zo efficiënt mogelijk verloop van het metabole proces, waarbij deze enzymen betrokken zijn.

Aanvankelijk leek het elektronenmicroscopisch onderzoek van membranen, door het zichtbaar maken van een unit-membrane-structuur, het zogenaamde 'Danielli-Davson-model' te steunen, waarbij de biologische membraan gezien wordt als een bimoleculaire laag van lipiden, die met hun hydrofobe vetzuur-ketens naar elkaar gekeerd zijn en de polaire groepen bedekt hebben met een laag eiwitmolekullen. De juistheid van dit 'sandwichmodel' wordt echter in toenemende mate betwist en het lijkt waarschijnlijk, dat de feitelijke structuur van de membraan een meer complexe en variabele ordening toont dan in eerste aanleg verwacht was. Naast de drie-lagige structuur van membranen worden dan ook membraan-structuren beschreven die wijzen op een globulaire structuur van de lipide/eiwit complexen. Voorts wijst het feit, dat na vet-extractie in sommige gevallen de drie-lagige structuur van membranen behouden blijft, op een penetratie van eiwitmolekullen in de lipiden-dubbellaag (Richter & Scarpelli, 1971).

Helaas heeft onderzoek met de elektronenmicroscop een drie-tal artefacten opgeleverd: het organisatiepatroon wordt verstoord door de chemische fixatie, lipiden worden geëxtraheerd in de dehydratie-fase (zie Appendix) en tenslotte is het bij de gebruikelijke kleur-methoden onmogelijk om met voldoende specificiteit, molekullen van zeer geringe afmetingen zichtbaar te maken. In relatie met wat volgen zal, moet tenslotte worden vermeld, dat biologische membranen een zeer specifiek organisatie-patroon paren aan een zeer hoge turnover van de samenstellende molekullen. Aangetoond is dat bijvoorbeeld in lever-parenchymcellen van de rat, die een leeftijd van vele maanden kunnen bereiken, de halfwaardetijd van eiwitmolekullen van de mitochondriale

Fig. 3. Deel van het oppervlak van een macrofaag. Duidelijk is de drielagige structuur van de plasmamembraan zichtbaar. Met uitzondering van een geringe hoeveelheid vezelig materiaal, mist het celoppervlak een glycocalyx, vergelijkbaar met die welke getoond is in fig. 2. Vergroting 270.000 $\times$.

Fig. 4. Na kleuring met ruthenium-rood, dat in de elektronenmicroscop als donker materiaal zichtbaar is, blijkt evenwel op de buitenzijde van de plasmamembraan wél kleurbaar materiaal aanwezig te zijn. Vergroting 270.000 $\times$.



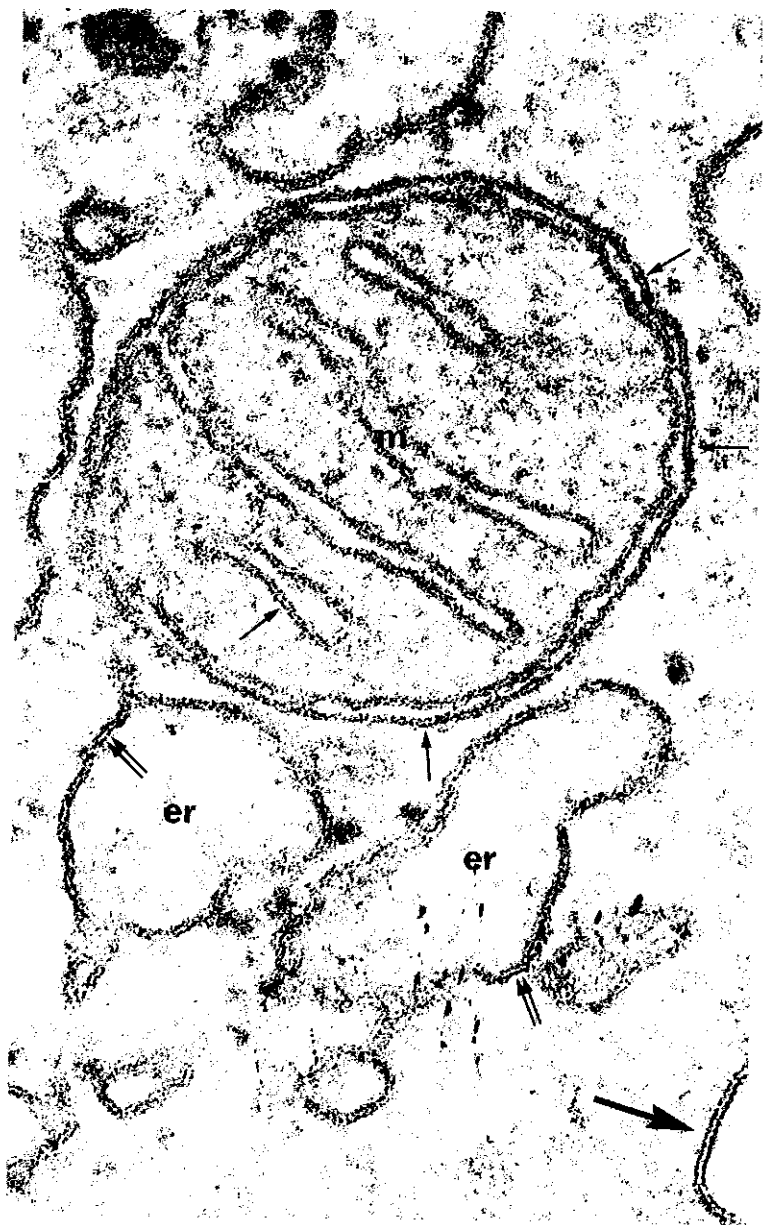
membranen negen dagen bedraagt en die van het endoplasmatische reticulum en de plasmamembraan slechts drie dagen. De halfwaardetijd van de fosfolipiden wijkt af van die van de eiwitten, die overigens ook onderling weer verschillen. Met andere woorden, niet alleen dat de membraan-bestanddelen – met behoud van de specifieke aard van de membraan – voortdurend worden vernieuwd, de snelheid van deze vervanging wisselt van molekuulsoort tot molekuulsoort.

De plasmamembraan

De grens tussen de cel en het extra-cellulaire milieu wordt gevormd door de plasmamembraan. Aan de betekenis van de plasmamembraan zou echter tekort worden gedaan, wanneer deze uitsluitend beschouwd zou worden als een passief grensvlak. In werkelijkheid vervult de plasmamembraan een rol bij het actieve transport van ionen en molekulen van en naar de cytoplasmatische matrix, een proces ten behoeve waarvan de cel niet zelden het celoppervlak vergroot of door de vorming van talrijke vingervormige uitsteeksels of microvilli (fig. 2), of door instulpingen van de plasmamembraan. Ook spelen – meestal tijdelijke – differentiaties van de plasmamembraan een rol bij het introduceren van materiaal in de exoplasmatische ruimte, dan wel – in omgekeerde richting – bij het overbrengen van secretie-produkten uit de exoplasmatische ruimte naar het extracellulaire milieu (zie fig. 7 in het hoofdstuk van Kramer).

Ten behoeve van deze laatste twee transport-processen beschikt de cel over een aantal mechanismen, die gemeen hebben, dat zij berusten op membraan-fusie, d.w.z. het vermogen van de plasmamembraan te versmelten, hetzij met membranen uit de exoplasmatische ruimte, in geval van exocytose (zie het hoofdstuk van Kramer) of met zichzelf

Fig. 5. Deel van een macrofaag. De opname toont de belangrijkste elementen van de endoplasmatische ruimte (de beide membranen die de begrenzing van de kern (N) vormen en het met ribosomen (pijlen) bezette endoplasmatisch reticulum (er) en een deel van een mitochondrium (m) waarin de aanhechting van een crista aan de binnenmembraan fraai zichtbaar is. Duidelijk tonen de membranen van deze celorganellen, die een vergelijkbare dikte hebben, een drie-lagige structuur. De twee pijlpunten geven de plaats van een kernporie aan, waarbij een sterretje de uitrede van materiaal vanuit de kern (N) naar het cytoplasma aanduidt. Zie voor een schematische afbeelding van kernporiën fig. 4 in het hoofdstuk van James. Vergroting 150.000 $\times$.



zoals in het geval van endocytose.

De term endocytose is ingevoerd (De Duve, 1963) als vervanger voor termen als: fagocytose, pinocytose, micropinocytose, etc. De reden hiervan was, dat al deze processen een vergelijkbare morfologische karakteristiek tonen, namelijk instulping en afsnoering van de plasmamembraan (fig. 7). Hoe aantrekkelijk de term endocytose ook mag zijn (Jacques, 1969a), er is reden om aan te nemen, dat er fundamentele verschillen bestaan tussen fagocytose, pinocytose en micropinocytose (North, 1970; Cohn, 1971). Zo leidt remming van de ATP-produktie tot onderdrukking van pinocytose door macrofagen, terwijl de opname van bacteriën of erythrocyten d.m.v. fagocytose daardoor niet wordt beïnvloed. Het basisprincipe van alle endocytose-processen is, dat de plasmamembraan, hetzij door uitstulping (fig. 8-11), hetzij door instulping (fig. 7, 14 en 15), een deel van de extracellulaire ruimte afzondert. Bij voortzetting van dit proces zal de plasmamembraan zichzelf ontmoeten en wordt aldus de omhulling van het op te nemen materiaal vrijwel volledig gemaakt. Tenslotte zullen de omhullende delen van de plasmamembraan elkaar raken en treedt membraanfusie op (fig. 12 en 16). Het feitelijk effect van deze membraanfusie is, dat het op te nemen materiaal zich nu in een door plasmamembraan omgeven ruimte bevindt (fig. 13, 17 en 18), welke dieper in de cytoplasmatische matrix van de cel zal worden getransporteerd. Dit transport vindt plaats middels een nog niet geheel begrepen mechanisme, waarbij wellicht direct onder de celmembraan gelegen fibrillaire eiwitten een belangrijke rol spelen.

Op dit basisprincipe zijn een aantal structureel en functioneel te onderscheiden opnameprocessen geënt. Bij fagocytose (Metchnikoff, 1883), die het langst bekend is en met de lichtmicroscopie waar te nemen is, neemt de cel door het uitstulpen van pseudopodiën of sluiers niet-oplosbare deeltjes op (fig. 8-13). Bij Protozoa komt voedselopname tot stand d.m.v. fagocytose. Daarentegen bedienen fagocyten, zoals de witte bloedcellen, zich van dit mechanisme wanneer het gaat om het onschadelijk maken van schadelijke micro-organismen. Karak-

Fig. 6. Elementen van de endoplasmatische ruimte: mitochondrium (m) en endoplasmatisch reticulum (er) begrensd door een drie-lagige membraan (kleine pijltjes), welke van het dunne type zijn. Dit in tegenstelling tot de plasmamembraan (grote pijl), welke van het dikke type is. Vergroting 150.000 $\times$.

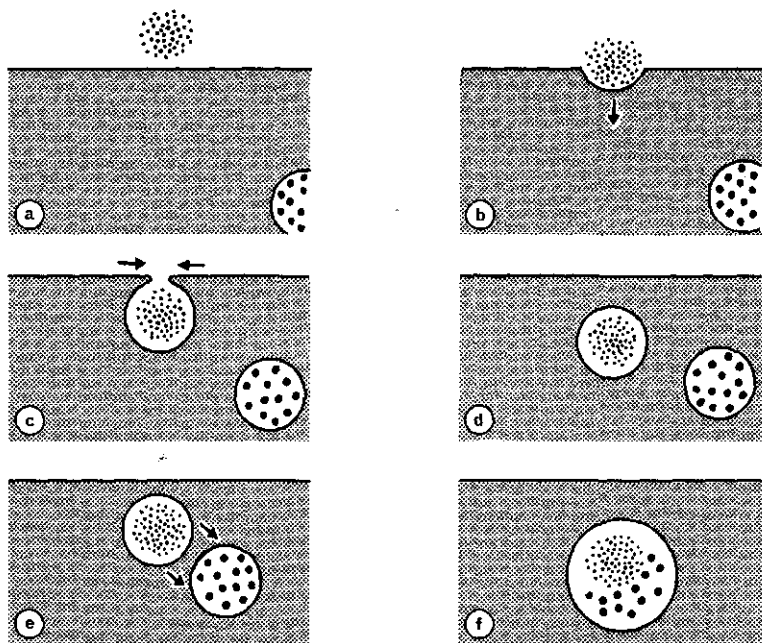
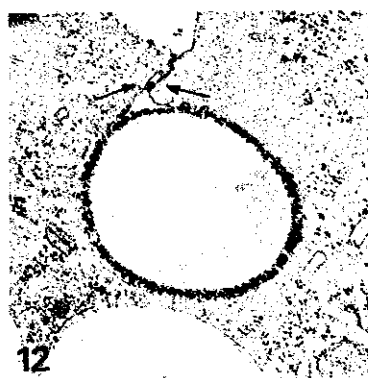
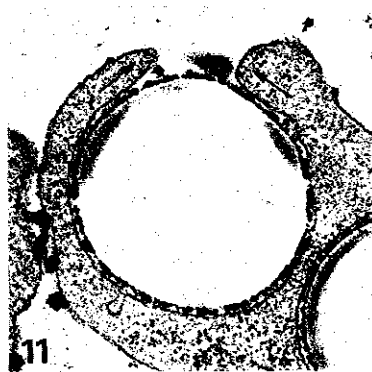
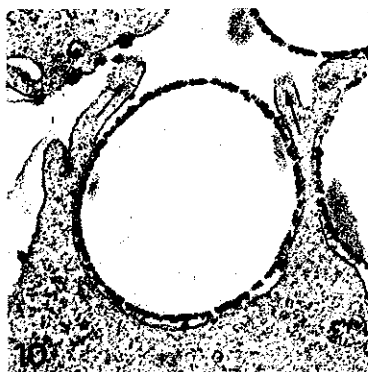


Fig 7. Schematische voorstelling van de opname van materiaal door een cel (a-c) en de versmelting van een fagosoom (links) met een lysosoom (rechts) (d-f). Vergelijk met fig. 8-13.

teristiek voor fagocytose is, dat de grootte van het te opsluiten gevormde fagosoom bepaald wordt door de omvang van het opgenomen materiaal (North, 1970), dit in tegenstelling tot pinocytose, waar de grootte van het fagosoom van te voren vastgesteld lijkt te zijn.

Pinocytose (Lewis, 1931; Stockem & Wohlfahrt, Bottermann, 1969) onderscheidt zich vooral van fagocytose doordat de plasmamembraan

Fig. 8-13. Verschillende fasen waarin de opname van een latexbolletje door een macrofaag verloopt. Na hechting van het bolletje aan het celoppervlak (fig. 8) omhult de cel het op te nemen deeltje door uitstulpingen van het celoppervlak (fig. 9 en 10, pijlen). Nadat het latex-bolletje vrijwel geheel is omhuld (fig. 11), vindt volledige afsnoering plaats (fig. 12) en bevindt het opgenomen materiaal zich in een, in de cytoplasmatische matrix gelegen, vacuole (fig. 13). Vergroting 29.000 $\times$.



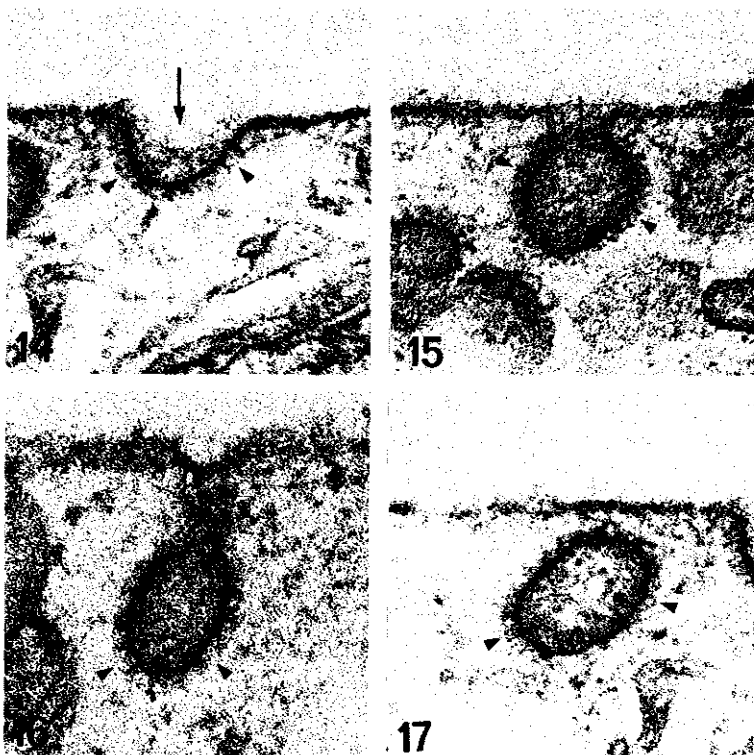


Fig. 14–17. Verschillende fasen van de vorming van 'coated vesicles'. Instulping van een deel van het celoppervlak (fig. 14), waarbij het opvalt dat het ingestulpte deel wél bezet is met een 'coating' (pijlpunten), doch de rest van de omgevende plasmamembraan niet. Vergroting van het ingestulpte deel en verplaatsing dieper in de cytoplasmatische matrix (fig. 15), gepaard gaande met verkleining van het contactgebied met het extracellulaire milieu. Vrijwel complete afsnoering van de verbinding tussen het endocytose-blaasje en het celoppervlak (fig. 16). Tenslotte bevindt zich het blaasje als een volledig van het celoppervlak losgemaakte structuur in de cytoplasmatische matrix (fig. 17). Vergroting 140.000 $\times$.

zich instulpt en aldus een gegeven hoeveelheid materiaal, na afsnoering van de instulping, in de cel introduceert. Afhankelijk van de grootte van de instulping spreekt men over macropinocytose en micropinocytose. Micropinocytose heeft betrekking op blaasjes met een doorsnede van ongeveer 0,1 μm en is – in tegenstelling tot de macropino-

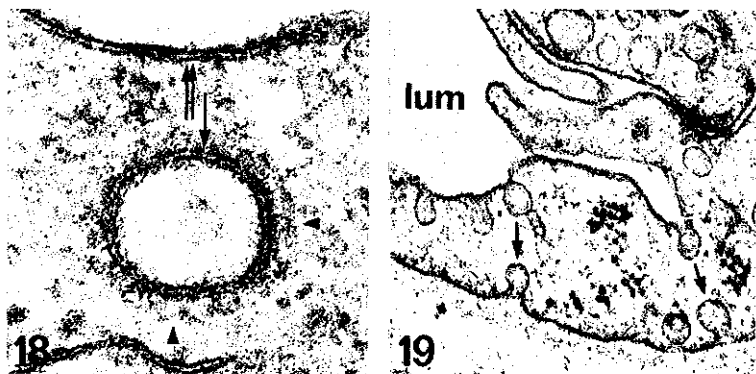


Fig. 18. 'Coated vesicle' die zodanig is gefixeerd dat de drie-lagige structuur van de membraan zichtbaar is. Duidelijk is dat de membraan die de wand van het 'coated vesicle' vormt (enkele pijl) in dikte overeenkomt met de plasmamembraan (dubbele pijl). De pijlpunten geven de karakteristieke 'coating' aan. Vergroting 165.000 $\times$.

Fig. 19. Diacytose in een endotheelcel, die deel uitmaakt van de wand van een capillar. (Voor een schematische afbeelding zie fig. 2 in het hoofdstuk van Voogd van der Straaten). Gladwandige blaasjes, gevormd door instulpingen van de plasmamembraan, transporteren in de richting van de pijlen materiaal vanuit het capillairlumen (lum) naar de andere zijde van de endotheelcel, waar door versmelting met de plasmamembraan de blaasjes het opgenomen materiaal weer afstaan. Vergroting 50.000 $\times$.

cytose – derhalve uitsluitend met de elektronenmicroscop te bestuderen (fig. 14–19). Hoewel van oudsher onder pinocytose verstaan wordt het opnemen van vloeibaar materiaal, is thans met zekerheid vastgesteld, dat ook niet-oplosbare deeltjes, mits van niet te grote afmetingen, door middel van macro- en zelfs micropinocytose kunnen worden geëndocyteerd.

Hoewel fagocytose en pinocytose leiden tot lysosomale afbraak van het opgenomen materiaal (zie p. 169), worden niet alle vormen van micropinocytose door introductie van het opgenomen materiaal in lysosomen gevolgd. Darmcellen van pasgeboren zoogdieren bijvoorbeeld nemen γ -globuline-molekullen middels pinocytose op uit het darmlumen en transporteren deze van de apicale naar de basale zijde van de cel, waar ze worden afgestaan aan de perifere circulatie. Ook in endotheelcellen van bloedcapillairen worden – naast het transport via de intercellulaire ruimten – gladwandige micropinocytose-blaasjes

gevormd voor het transport van materiaal door de wand van de capillair (fig. 19). In geen van beide gevallen vindt versmelting van de micropinocytose-blaasjes met lysosomen plaats. Deze processen zijn beschreven onder de naam 'cytopempsis' (het drinken door de cel) of 'diacytose' (het transport dóór de cel).

De glycocalyx

De cel heeft het vermogen om extracellulair materiaal te herkennen als 'zelf' of 'niet-zelf', waardoor wordt bepaald of dit materiaal al dan niet moet worden gefagocytiseerd en vernietigd.

Dit vermogen is gevestigd in de 'cell coat' of glycocalyx, een laag macromolekulen die koolhydraten bevatten, op de buitenzijde van de plasmamembraan (fig. 1, 2, 20-22; Kraemer, 1971). Afhankelijk van de structuur van deze macromolekulen worden zij verdeeld in drie groepen (zie Barrett, 1971; Rambourg, 1971): (1) de sialzuur-bevattende glycoproteïnen, waarin het eiwit-deel het grootste aandeel heeft, (2) de meestal gesulfateerde mucopolysacchariden, die meer koolhydraat dan eiwit bevatten en (3) de glycolipiden. De structuur van de glycocalyx wisselt sterk van celtype tot celtype. Zij loopt uiteen van omvangrijk (100-500 nm dik) en filamenteus in het geval van darmepitheelcellen (fig. 2) tot nauwelijks waarneembaar (Bennett, 1969a; fig. 4).

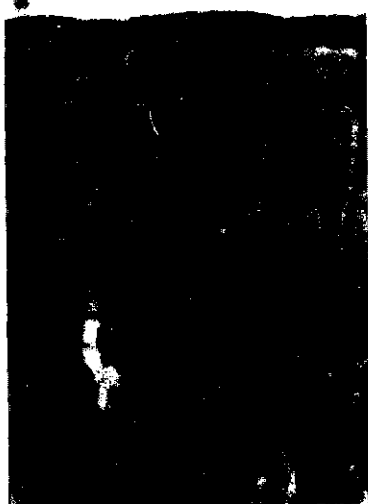
De vraag doet zich voor of de glycocalyx nu wel of niet een integraal deel van de plasmamembraan vormt (Benedetti & Delbauffe, 1971). Los hiervan kan worden vastgesteld, dat de hechting van de glycocalyx aan de plasmamembraan in sterkte wisselt, afhankelijk van het celtype.

Fig. 20. Lichtmicroscopische opname van epitheelcellen van de dunne darm. De borstelzoom, bestaande uit microvilli, wordt door de pijlen aangegeven. Vergroting 2.000 $\times$.

Fig. 21. Lichtmicroscopische opname van epitheelcellen van de dunne darm, gekleurd met zilver voor het aantonen van de glycocalyx. Vergelijking met fig. 20 toont, dat deze als een donkere laag op de microvilli aanwezig is. Vergroting 2.000 $\times$.

Fig. 22. Elektronenmicroscopische opname van het apicale deel van een epitheelcel van de dunne darm. De in fig. 20 getoonde borstelzoom blijkt inderdaad uit vingervormige microvilli te bestaan, welke, zoals te verwachten was uit de resultaten getoond in fig. 21, met een dikke glycocalyx (gly) bedekt zijn. Vergroting 35.000 $\times$.

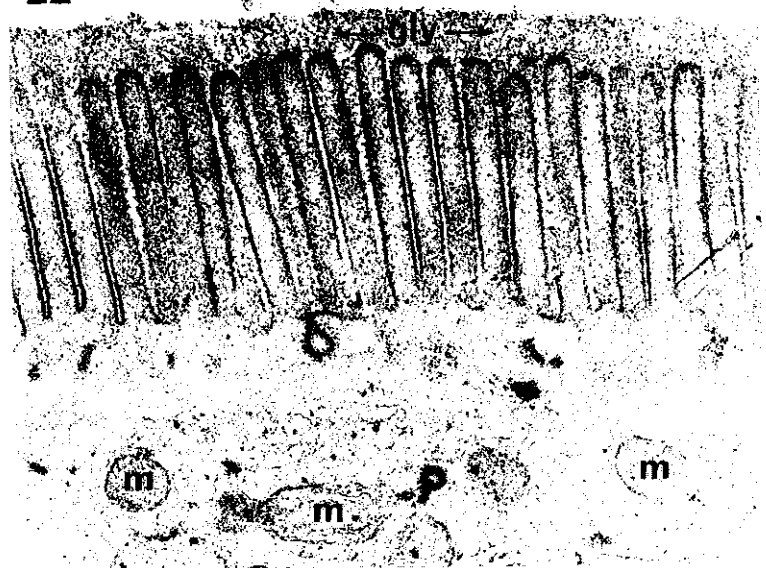
20



21



22



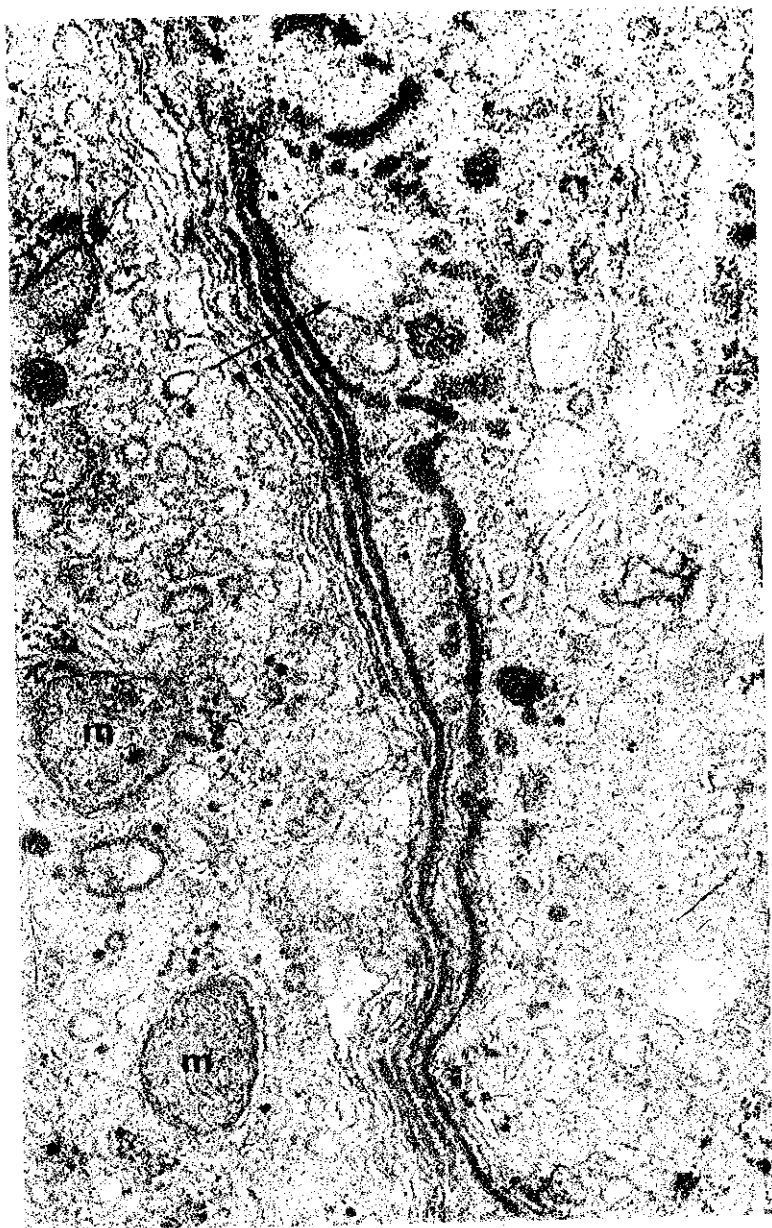
Terwijl de glycocalyx van de epitheelcellen van de darm vrijwel niet van de microvilli te verwijderen is, kan slechts met de grootste voorzorgen worden voorkomen, dat de glycocalyx van bijvoorbeeld Kupffer-cellen (macrofagen in de lever) van de plasmamembraan losraakt. De grote betekenis van de glycocalyx is gelegen in het feit dat de informatie-inhoud, die besloten ligt in de structuur van eiwit-molekulen, in belangrijke mate vergroot kan worden door de toevoeging daaraan van bepaalde koolhydraatketens. Op deze wijze kan een grote hoeveelheid specifieke informatie op het celoppervlak worden vastgelegd (Whaley et al., 1972).

Iedere cel maakt met behulp van het Golgi-apparaat zijn eigen glycocalyx (fig. 23), en bepaalt door de chemische samenstelling van de glycocalyx zijn eigen individualiteit. Zodoende bepaalt de glycocalyx in feite het 'sociale gedrag' van cellen. Bovendien draagt de glycocalyx de antigene eigenschappen van een gegeven celtipe. Kortom, het aantal functies dat aan de glycocalyx kan worden toegeschreven is zeer groot en het heeft er alle schijn van, dat de karakteristieke eigenschappen van de plasmamembraan niet alleen door de samenstelling van de membraan zelf, maar vooral ook door de daaraan verbonden macromolekulen van de glycocalyx, althans ten dele, bepaald worden door een genetisch vastgelegd assemblage-proces in het Golgi-apparaat.

In darmepitheelcellen bevat de glycocalyx enzymen die door hydrolyse eiwitten en koolhydraten afbreken tot brokstukken, die de plasmamembraan kunnen passeren. Terzijde moet worden opgemerkt, dat de plasmamembraan weliswaar de cel van haar omgeving afgrenst, doch dat gespecialiseerde celcontacten communicatie tussen aangrenzende cellen mogelijk maken. Met name de zogenaamde 'gap junction' of 'nexus' (zie het hoofdstuk van Jongkind) speelt hierbij een belangrijke rol (McNutt & Weinstein, 1973).

Tenslotte dient te worden vermeld, dat zich niet alleen aan de buitenzijde van de plasmamembraan macromolekulen bevinden die de functie van cellen bepalen, maar dat ook aan de directe binnenzijde struc-

Fig. 23. Golgi-apparaat in een epitheelcel van de dunne darm. In de richting van de pijl neemt de kleurbaarheid van de inhoud van de Golgi-cisterna (pijlkoppen) toe. Met behulp van cytochemisch onderzoek kon aangetoond worden, dat het gekleurde materiaal glycoproteïnen zijn, bestemd voor de glycocalyx van deze epitheelcellen (zie fig. 22). Het transport van de glycoproteïnen naar het celoppervlak vindt plaats met behulp van blaasjes. Vergroting 60.000 $\times$.



tuurelementen aanwezig zijn, die hierbij een belangrijke rol spelen, met name de microfilamenten die direct onder de plasmamembraan zijn gelegen en wellicht uit contractiele eiwitten bestaan. Aan dit systeem wordt onder meer de beweeglijkheid van het celoppervlak bij de endocytose en exocytose toegeschreven (Wessells et al., 1971)

De endoplasmatische ruimte

De onderdelen van de endoplasmatische ruimte zijn betrokken bij de synthese van macromolekulen. Eiwitten voor secretie worden geproduceerd in de ribosomen, die aan bepaalde membranen van het ruwe ER (RER) zijn gehecht (fig. 5). Deze eiwit-molekulen worden vervolgens door uitstulping en afsnoering van de – nu van ribosomen verstoken – ER-membraan in membraanomgeven blaasjes naar, of in de nabijheid van, het Golgi-apparaat gebracht (fig. 2 in het hoofdstuk van Kramer). In deze fase van het synthese/transport proces vindt de overgang tussen endoplasmatische en exoplasmatische ruimte plaats (fig. 1) en worden, zo nodig, aan de eiwitten koolhydraten of lipiden gehecht.

De rol van het Golgi-apparaat in het verbinden van de endoplasmatische en exoplasmatische ruimte is thans met zekerheid vastgesteld (Northcote, 1973). Met behulp van autoradiografische methoden kon bijvoorbeeld aangetoond worden, dat in het Golgi-systeem (het Golgi-apparaat en het omringende gebied tezamen) aan de macromolekulen van de glycocalyx de uiteindelijke vorm gegeven wordt door koppeling van al dan niet in het Golgi-apparaat gesynthetiseerde koolhydraten aan eiwit molekulen. Inderdaad is het mogelijk om de aanwezigheid van koolhydraten in elementen van het Golgi-apparaat aan te tonen (fig. 23) evenals in daarvan afgeleide blaasjes. Voorts kon worden vastgesteld, dat de vorming van secreetkorrels zich afspeelt in het Golgi-systeem (zie fig. 15 in het hoofdstuk van Kramer). De productie van primaire lysosomen (zie p. 171) wordt eveneens in het Golgi-systeem voltooid, zoals onder meer zichtbaar kon worden gemaakt in rijpende witte bloedcellen (granulocyten) (Cohn & Fedorko, 1969). Het is verder vrijwel zeker, dat ook bij de vorming van de elementen waaruit de plasmamembraan is opgebouwd, het Golgi-systeem een sleutelpositie inneemt.

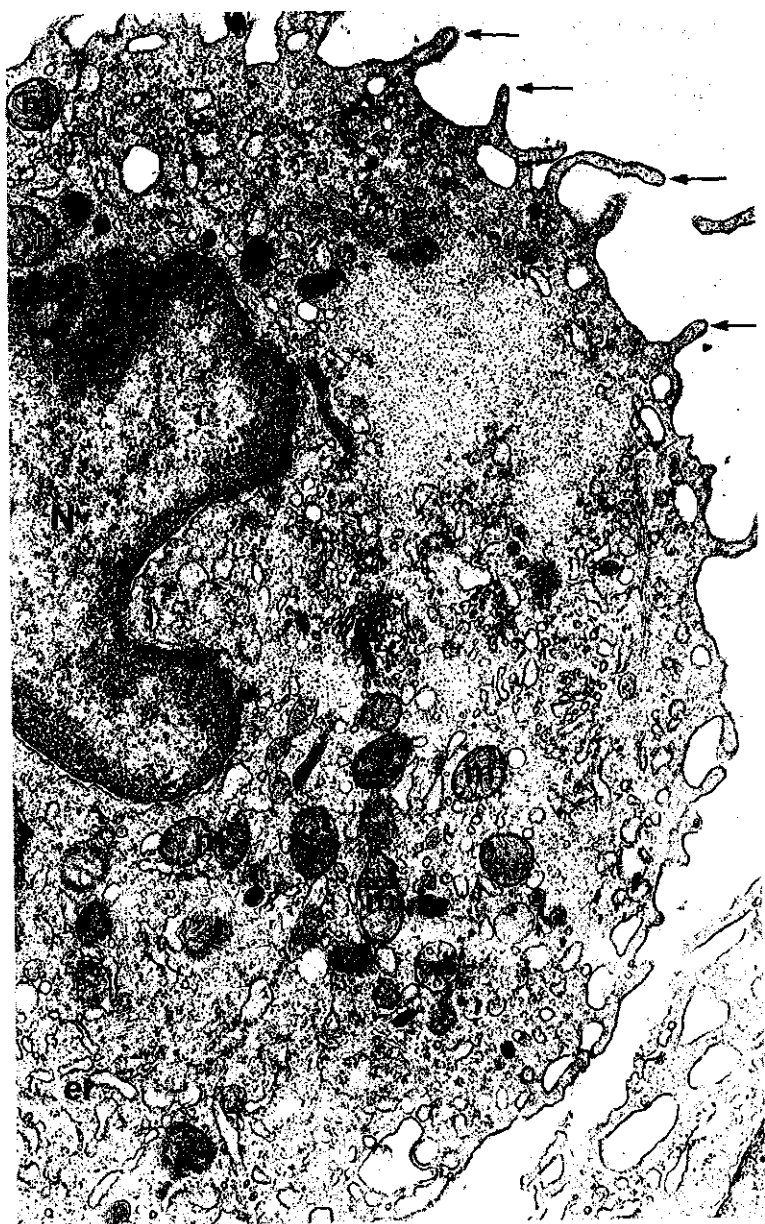
Zoals alle membraanbegrensde compartimenten van de cel toont ook het Golgi-apparaat een grote dynamiek. Berekend kon worden, dat in slijmbekercellen van de darm het gehele Golgi-apparaat iedere

40 minuten geheel vernieuwd wordt. Het is derhalve duidelijk, dat het Golgi-systeem geen passieve sluis is waarin het produkt een statische 'pijplijn' doorloopt, doch dat het in tegendeel een actieve rol speelt bij het overbrengen van materiaal van de endoplasmatische naar de exoplasmatische ruimte. In overeenstemming hiermee toont het Golgi-apparaat dan ook een onmiskenbare polariteit (Fig. 23). De 'vormende' (onrijpe) zijde sluit aan op elementen van het endoplasmatische reticulum, de 'secernerende' (rijpe) zijde daarentegen staat in contact met elementen van de exoplasmatische ruimte. Met nadruk zij overigens vastgesteld, dat ook hier, evenals elders in de cel, de contacten tussen compartimenten altijd van tijdelijke aard zijn en wel zodanig, dat het afgesloten karakter van ieder der compartimenten behouden blijft.

De exoplasmatische ruimte

Dat het Golgi-systeem de brug vormt tussen endoplasmatische en exoplasmatische ruimte wordt morfologisch aantoonbaar door een verandering in de dikte van de membranen die het systeem begrenzen (fig. 1). In overeenstemming met de 'sluisfunctie' van het Golgi-systeem nemen de aanvankelijk dunne membranen van de Golgi-elementen in dikte toe, naarmate zij de met de exoplasmatische ruimte verbonden 'rijpe fase' naderen. Het is aannemelijk, dat de tot verdikking leidende verandering in de configuratie van de membranen ten grondslag ligt aan, dan wel een voorwaarde is voor, de membraanfusies die tenslotte tot de vorming van de elementen van de exoplasmatische ruimte leiden. Opmerkelijk hierbij is, dat fusies tussen membranen van de exoplasmatische ruimte enerzijds en endoplasmatische ruimte anderzijds nooit zijn aangetoond; het is alsof membranen een zekere verwantschap in moleculaire bouw moeten bezitten om versmelting mogelijk te maken.

In overeenstemming met de onderlinge gelijkenis tussen de membranen van de exoplasmatische ruimte vinden regelmatig fusies plaats tussen de verschillende elementen daarvan, zoals bij endocytose en de daaropvolgende gebeurtenissen. Dit proces verloopt in de volgende fasen: allereerst vindt herkenning van het 'niet-zelf'-karakter van het op te nemen materiaal plaats (Parsons & Subjeck, 1972; Coleman & Finean, 1973) en treedt hechting op van dit materiaal aan het celoppervlak (fig. 8 en 25; Bennett, 1969b). De grote betekenis van deze hechting is, dat dit zowel aan de specificiteit van het opnameproces ten



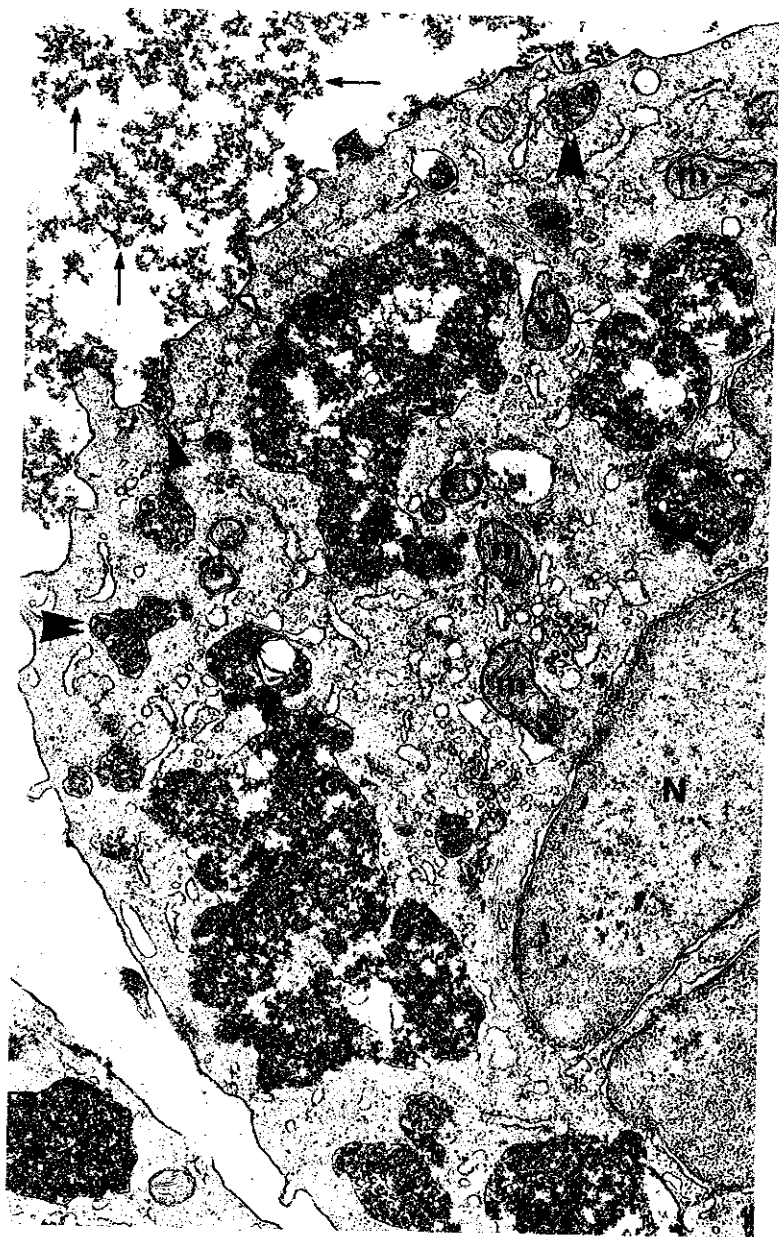
goede komt als de doelmatigheid ervan bevordert. De endocytose van vloeistoffen daarentegen toont slechts een geringe, zo enige, specificiteit (Jacques, 1969a). In de tweede fase stulpt, zoals reeds is beschreven, een deel van de plasmamembraan in en wordt met het op te nemen materiaal afgesnoerd.

Op deze wijze wordt een zogenaamd 'fagosoom' gevormd (fig. 7, 25, 27 en 30) waarmee een stuk extra-celulair milieu in de cytoplasmatische matrix wordt geïntroduceerd, veilig opgeborgen binnen een membraan die oorspronkelijk deel uitmaakte van de plasmamembraan. De invaginatie van de plasmamembraan wordt waarschijnlijk geïnduceerd door het contact tussen het op te nemen materiaal en het celoppervlak en is, in tegenstelling tot de hechting, een energievragend proces, dat eisen stelt aan de stofwisseling van de cel.

Vervolgens zullen één of meer fagosomen met één of meer lysosomen versmelten door onderlinge membraanfusies (fig. 26-28). Opgemerkt moet worden, dat onder normale omstandigheden geen versmelting optreedt tussen de membraan van lysosomen en de plasmamembraan. Blijkbaar treden echter gelijktijdig met de vorming van fagosomen zodanige veranderingen op, dat de lysosoom-membraan en de fagosoom-membraan elkaar 'herkennen' en tot fusie kunnen overgaan. Als gevolg hiervan komt de inhoud van een fagosoom met de inhoud van een lysosoom in contact (fig. 29-32) en wordt het opgenomen en te destrueren materiaal toegankelijk gemaakt voor de lysosomale hydrolytische enzymen.

Lysosomen zijn obligate onderdelen van de exoplasmatische ruimte in vrijwel alle cellen. Biochemisch en morfologisch onderzoek heeft aangetoond, dat er verschillende 'soorten' lysosomen bestaan die in een aantal groepen te onderscheiden zijn (Daems et al., 1969). Alle lysosomen hebben gemeen dat zij een groot aantal zure hydrolasen bevatten, welke door een enkelvoudige, relatief dikke membraan van de cytoplasmatische matrix en van de andere compartimenten in de cel gescheiden zijn. De lysosomale hydrolasen tonen een zodanig grote verscheidenheid, dat alle verbindingen waaruit de levende cel is op-

Fig. 24. Deel van een macrofaag uit de buikholte van een cavia. De cel bevat de gebruikelijke celorganellen: de kern (N), mitochondria (m), elementen van het endoplasmatisch reticulum (er) en een Golgi-apparaat (G). Het celoppervlak is bezet met talrijke microvilli (pijlen). Vergroting 17.000 ×.



gebouwd door deze enzymen kunnen worden afgebroken. Deze aanwezigheid van een membraan-begrenzing, die de rest van de cel tegen deze enzymen beveiligd, is derhalve uiterst zinvol. Dit temeer waar de laag-moleculaire produkten van de lysosomale afbraak de lysosoom-membraan wél kunnen passeren.

In de 'lysosoom-familie' is de meest prille telg het zogenaamde 'primaire lysosoom', een celorganel dat uitsluitend hydrolytische enzymen bevat en nog niet betrokken is geweest bij de fusie met een fagosoom (fig. 31). Zeker is dat alle primaire lysosomen uit het Golgi-systeem afkomstig zijn, waar niet alleen aan de in het endoplasmatisch reticulum gesynthetiseerde enzymeiwitten een koolhydraat-component wordt aangeboden, maar waar zij ook verpakt worden in door een enkelvoudige membraan omgeven blaasjes. Primaire lysosomen kunnen, afhankelijk van het celtype waarin zij voorkomen, een grote morfologische verscheidenheid tonen, uiteenlopend van kleine, meestal met 'borstels' bezette blaasjes, welke inderdaad vaak in de buurt van het Golgi-apparaat worden gevonden, tot vrij grote celorganellen, zoals voorkomen in granulocyten.

Na een fusie met een fagosoom ontstaat een secundair lysosoom (fig. 26), dat, vooral in kwantitatieve zin, het belangrijkste onderdeel van het lysosomale apparaat is. In tegenstelling tot bijvoorbeeld de mitochondrieën, die een vaste basisstructuur hebben waarop slechts in beperkte mate variaties mogelijk zijn (zie Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966), wordt de morfologie van een lysosoom bepaald door het materiaal dat zij door fusie met een fagosoom hebben verworven. De structuur van een lysosoom is dus afhankelijk van de functie die het vervult. Lysosomen in de milt, bijvoorbeeld, zijn betrokken bij de afbraak van erythrocyten en hebben daardoor een andere structuur dan de lysosomen in epitheelcellen van de schildklier, waarin

Fig. 25. Deel van een soortgelijke cel als getoond in figuur 24, doch gefixeerd in het proces van endocytose van colloïdaal thorium. De verschillende stadia van endocytose zijn duidelijk zichtbaar: buiten de cel gelegen groepjes thorium-deeltjes (kleine pijlen) hechten zich aan het celoppervlak (dubbele pijlen), worden opgenomen in instulpingen van het celoppervlak (grote pijlen) en bevinden zich na enige tijd in dicht onder het celoppervlak gelegen blaasjes (dubbele pijlkoppen). De dieper in het cytoplasma gelegen grotere vacuolen met thorium-deeltjes zijn ontstaan door versmelting van dergelijke kleine blaasjes (zie ook fig. 30). Vergroting 17.000 ×.

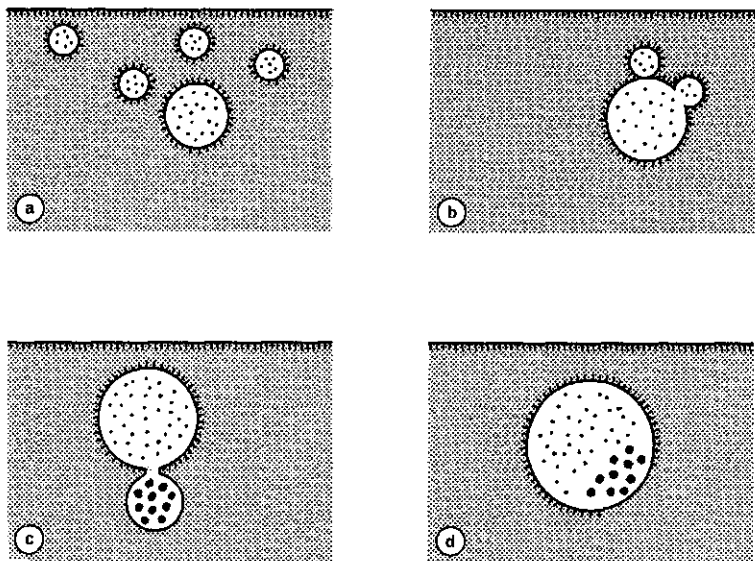
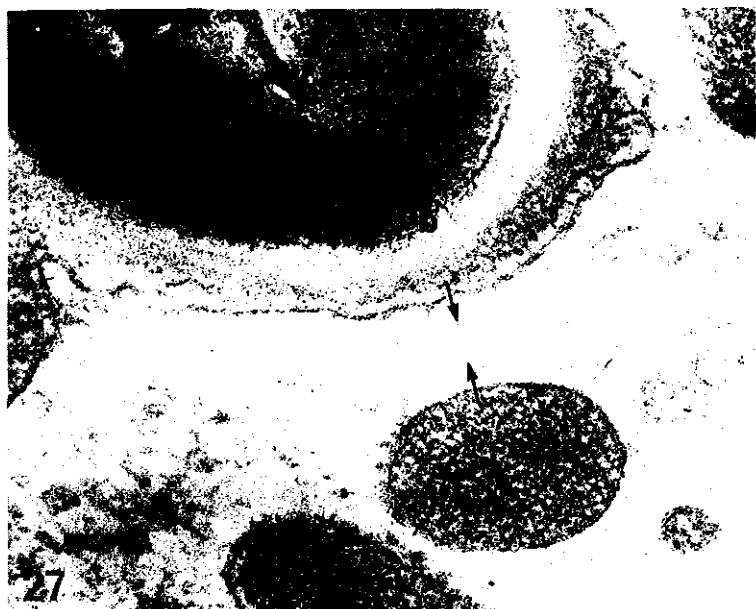


Fig. 26. Schematische voorstelling van de verschillende fasen, waarin versmelting van endocytose-blaasjes tot een fagosoom (a-b) en de fusie van het resulterende fagosoom met een lysosoom (c-d) verloopt. Vergelijk met fig. 27-28 en fig. 29-32.

Fig. 27 en 28. Een door een granulocyt opgenomen bacterie (b) bevindt zich in een membraan-omgeven vacuole (fig. 27). In de buurt daarvan bevindt zich een (eveneens door een membraan omgeven) lysosoom (L). Beide deeltjes zullen zich in de richting van de pijlen bewegen, waarna tenslotte versmelting van de beide membranen volgt (pijlen) (fig. 28). Vergelijk met figuur 26. Vergroting 80.000 $\times$.



thyroxine wordt vrijgemaakt uit thyroglobuline.

In het secundaire lysosoom wordt het door de cel opgenomen materiaal indien mogelijk¹ afgebroken door de lysosomale enzymen. De laag-moleculaire afbraakprodukten van eiwitten, nucleïnezuren en koolhydraten kunnen het lysosoom verlaten via de lysosoom-membraan en komen dan dus terecht in de cytoplasmatische matrix waar zij beschikbaar zijn voor synthetische activiteiten elders in de cel (fig. 1). Belangrijk hierbij is dat de cel op deze wijze toch over een functionele koppeling vanuit de exoplasmatische ruimte naar de endoplasmatische ruimte beschikt, een koppeling, die de op destructie gerichte activiteit van de lysosomen dienstbaar kan maken aan constructieve processen in de cel. Onverteerbare resten van de lysosomale afbraak blijven echter in het secundaire lysosoom achter. Dit leidt ertoe, dat bij herhaalde inschakeling van een secundair lysosoom in katabole processen in de cel zich hierin in-toenemende mate resten kunnen ophopen.

Mede als gevolg hiervan zal het secundaire lysosoom verouderen en overgaan in de laatste fase van zijn ontwikkeling: het 'restlichaampje' (Engels: residual body). Zoals te verwachten is, is de vorming van restlichaampjes gebonden aan de levensduur van de cel en zullen in ouder wordende cellen meer restlichaampjes gevonden worden dan in jonge cellen. Daarom kan men ook verwachten dat in cellen van bijvoorbeeld de lever en hartspier bij oudere individuen veel lipofuscine-pigment voorkomt, een celcomponent die als rest van lysosomale activiteit wordt beschouwd.

Kan de ophoping van lipofuscine als een 'fysiologische' stapeling worden beschouwd, als aangeboren afwijking kan zich ook 'pathologische' stapeling voordoen. In deze gevallen treedt sterke vergroting van lysosomen op door het ontbreken van een hydrolytisch enzym, dat onder normale omstandigheden in het lysosoom aanwezig is (Hers & Van Hooff, 1969). De meest voorkomende, op dit principe gebaseerde ziektebeelden zijn de mucopolysaccharidosen waarbij het enzym dat verantwoordelijk is voor de zuure hydrolyse van mucopolysacchariden afwezig is. Als gevolg hiervan hopen zich in de lysosomen, met name

1. Metaal-colloïden, koolstofdeeltjes, latexbolletjes, etc. worden door de cel middels endocytose opgenomen en komen derhalve in lysosomen terecht. Zij zijn echter onaantastbaar voor lysosomale enzymen en zijn aldus bruikbaar als 'model' om de verschillende endocytose-processen en het lot van opgenomen materiaal in het lysosomale apparaat te bestuderen (Daems et al., 1969).

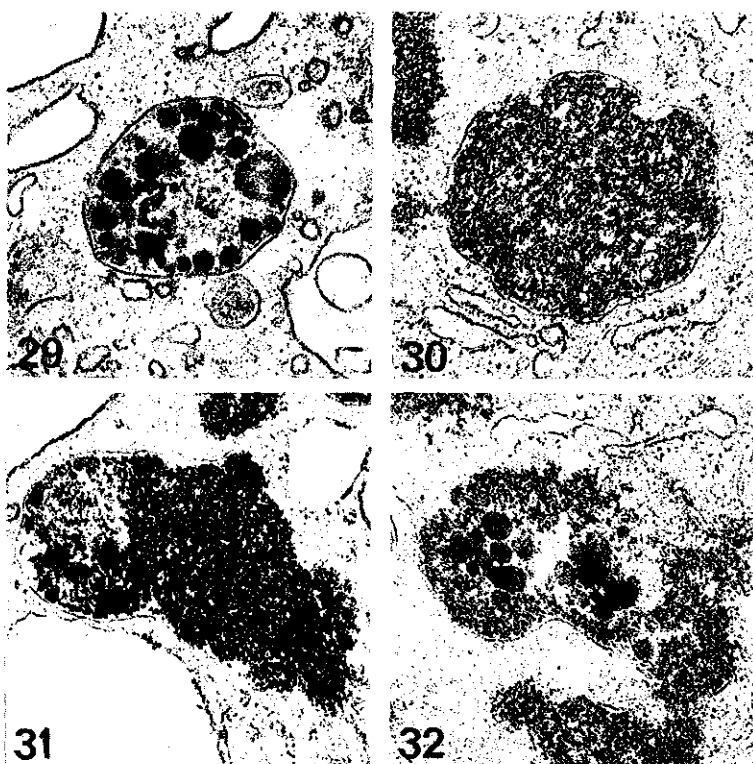


Fig. 29-32. Tonen een lysosoom (fig. 29) en een fagosoom, ontstaan als resultaat van de opname van thoriun-deeltjes door de cel (fig. 30), het product van een recente versmelting tussen fagosoom en lysosoom (fig. 31) en de tenslotte optredende menging van de inhoud van het lysosoom en het fagosoom (fig. 32). Vergroting 30.000 $\times$.

van lever, hartspier, skeletspier en darm grote hoeveelheden mucopolysacchariden op.

Lysosomen zijn niet alleen betrokken bij de afbraak van door de cel opgenomen 'vreemd' materiaal, zij vervullen ook een functie bij afbraak van materiaal van de cel zelf, zowel bij de 'turnover' van te vervangen cel-organellen (autofagie) als bij de regulatie van secretoire activiteiten van cellen (crinofagie). Bij autofagie wordt een celorganel of een groter deel van het cytoplasma door een membraan omhuld en

treedt fusie tussen deze structuur en een secundair of primair lysosoom op (Ericsson, 1969). Bij crinofagie vindt directe versmelting plaats tussen de membraan van een secreetgranulum en die van een lysosoom (Farquhar, 1969). In beide gevallen treedt vervolgens afbraak van het cel-eigen materiaal op die volledig identiek is aan het verloop na endocytose. Aangenomen wordt, dat het proces van autofagie de cel in staat stelt in perioden van voedseltekort een deel van haar eigen structuurelementen af te breken om bouwstenen te verwerven ten behoeve van noodzakelijke anabole processen.

Conclusie

De door membranen begrensde compartimenten van de cel beschikken over een uitermate efficiënt organisatiepatroon. De hoge mate van ordening binnen deze compartimenten en de mogelijkheid tot het tijdelijk aanbrengen van ruimtelijke relaties tussen de onderdelen van deze compartimenten, waarborgen een optimaal functioneren van de cel.

Appendix: EM-technieken

Een zekere bekendheid met prepareermethoden bij gebruik van de elektronenmicroscopie in de biologie is noodzakelijk voor het waarden van de informatie-inhoud van de verkregen beelden en voor het inzicht in de beperkingen daarvan (Daems, 1974a). Bij de standaardmethode worden ultradunne coupes vervaardigd van, in kunsthars ingebed materiaal. Vooraf worden de in het weefsel aanwezige macromolekulen door chemische fixatie gestabiliseerd. Het meest gebruikte fixatief, dat tevens contrastverhogend werkt, is het osmiumtetroxide, al dan niet voorafgegaan door een fixatie met glutaraldehyde. Na de fixatie wordt het materiaal in alcohol ontwaterd en doordrenkt met de ongepolymeriseerde kunsthars. Vervolgens wordt de kunsthars bij 60°C gepolymeriseerd. Van de daardoor verharde weefselstukjes kunnen dan in een speciaal daartoe geconstrueerd 'ultramicrotroom' m.b.v. glazen of diamanten messen coupes met een dikte van 30-90 nm worden gesneden, welke op metalen gaasjes (Engels: grids) met een diameter van 3 mm worden opgevangen om in een elektronenmicroscopie te worden bestudeerd.

Daar biologisch materiaal in het algemeen in de elektronenmicroscopie een gering contrast heeft, is 'kleuring' met zware metalen als lood

en uranium noodzakelijk. Het beeld dat in de elektronenmicroscop van het te bestuderen materiaal verkregen wordt, is dan ook in feite een afbeelding van de verdeling van deze zware metalen over het weefsel. Met andere woorden, de afbeelding van cellen en celorganellen is sterk afhankelijk van de specificiteit van deze kleuring (Daems, 1974b). Ook de aard van het gebruikte fixatief kan hierbij een rol spelen. Met nadruk moet worden vastgesteld, dat ongekleurd materiaal, tenzij het een eigen contrast bezit, niet in de elektronenmicroscop zichtbaar is. De afwezigheid van contrast wijst derhalve niet noodzakelijkerwijs op de afwezigheid van materiaal.

Teneinde eventuele artefacten als gevolg van de prepareermethode op het spoor te komen, kan chemisch gefixeerd materiaal worden vergeleken met zeer snel bevroren, d.w.z. fysisch gefixeerd materiaal. Mits bepaalde voorzorgen worden genomen, legt een dergelijke fysische fixatie celstructuren onmiddellijk vast. Uit de bestudering van kunstmatig in het bevroren materiaal aangebrachte breukvlakken, kunnen betrouwbare conclusies worden getrokken over de bouw van levende cellen dan met chemische fixatie mogelijk is. Inzicht in de chemische bouw van cellen kan echter met deze zogenaamde vries-etsmethode (Moor, 1969) niet worden verkregen. Chemische fixatie en vries-etsen zijn in feite complementair. Een bijkomend voordeel van het vries-etsen is dat met deze methode een min of meer ruimtelijk beeld wordt verkregen. Verder biedt met name voor het bestuderen van de structuur van membranen de vries-ets methode belangrijke voordelen (Benedetti & Delbauffe, 1971; Mühlethaler, 1971).

Informatieoverdracht

J. F. JONGKIND

Inleiding

Organismen zijn over het algemeen in staat, veranderingen van hun milieu op te vangen en te compenseren, zodat ze ogenschijnlijk, onveranderd blijven voortbestaan. In de hiërarchie van regelsystemen van het dierlijk organisme die voor deze stationaire toestand zorgen, zijn de hoofdrollen toebedacht aan het zenuwstelsel en het endocriene systeem. De lichaamsvloeistoffen, zoals bloed, lymfe en interstitiële vloeistof, spelen bij de neurale en endocriene regulatie een essentiële rol bij de overdracht van de moleculaire boodschappen tussen de orgaan-systemen onderling.

Naast deze interne communicatiekanalen op macroniveau, waarbij boodschappen over grotere afstand via de lichaamsvloeistoffen worden voortgeleid, zijn ook op microniveau cel-interacties aanwezig waardoor het organisme zijn stationaire toestand t.o.v. een veranderende buitenwereld kan handhaven en verschuivingen in zijn milieu kan compenseren. Een bekend voorbeeld van een reeks celcontacten waarbij een organisme zich uit een ongunstige omgeving kan verplaatsen naar een gunstige, is de zogenaamde reflexboog. De receptor, die de signalen van buiten opvangt, leidt zijn elektrische boodschap via de sensibele zenuwcel, het interneuron en de motorische cellen naar de spieren, die op hun beurt het organisme naar een ander milieu kunnen verplaatsen (fig. 1).

De celcontacten waarvan bij de reflexboog sprake is bevinden zich tussen de zenuwcellen onderling en worden synapsen genoemd. De informatieoverdracht via deze synapsen geschiedt met behulp van boodschappermolekulen (transmitters).

Naast deze chemische informatieoverdracht tussen cellen is ook een elektrische mogelijk. Elektrische informatieoverdracht speelt een kleine rol bij de prikkeloverdracht in het zenuwstelsel. Elektrofysiologisch

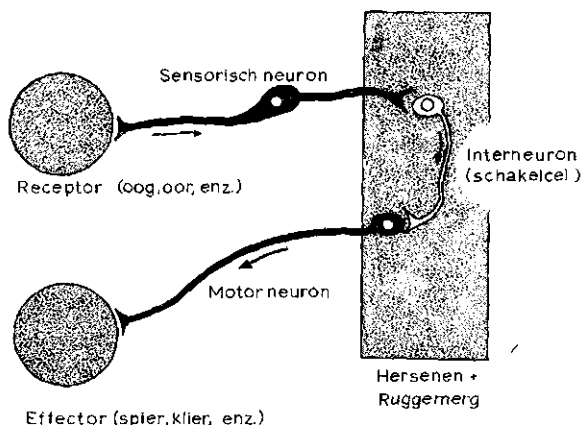


Fig. 1. De componenten van de reflexboog. De signalen die door de receptor worden opgevangen, worden voortgeleid via de sensibele zenuwcel en interneuron naar de motorische voorhoorn cel van de effector. De neuronen maken functioneel contact met elkaar door middel van synapsen. Het cellichaam van de sensibele zenuwcel ligt buiten het centrale zenuwstelsel, het gehele interneuron ligt daarbinnen, evenals het cellichaam van het motorneuron. Per motorneuron zijn gemiddeld 2000 interneuronen beschikbaar.

is aangetoond dat de betekenis van de elektrische overdracht groot is bij cellen van andere prikkelbare weefsels, zoals hartspier en gladde spier. De membranen van de cellen van deze weefsels bezitten speciale elementen waarlangs het ionentransport tussen deze cellen zou kunnen verlopen.

Recent is door Loewenstein (1970) een nieuwe vorm van communicatie ontdekt, waarbij naast elkaar liggende cellen van niet-prikkelbare weefsels via specifieke membraanveranderingen direkt met elkaar in contact staan. Het is zeer waarschijnlijk dat deze celcontacten een grote rol spelen bij het transport van metabolieten en andere stoffen die de celactiviteit reguleren. Daardoor kan de aanwezigheid van deze celcontacten van essentieel belang zijn voor de regulatie van de vroeg-embryonale ontwikkeling en de afwezigheid daarvan een verklaring kunnen vormen voor de ongecontroleerde groei van bepaalde soorten tumorweefsel.

Het statische synapsmodel

Het aantal zenuwcellen (neuronen) in de hersenen en het ruggemerg van de mens lijkt ontzagwekkend groot: 10^{10} of 10.000.000.000. Dit aantal cellen is echter betrekkelijk klein als men bedenkt dat het aantal levercellen zeker 50 maal zo groot is, terwijl de populatie rode bloedcellen bij de mens het 2000-voudige kan bereiken (een 10 dagen oude rat van circa 20 g bevat eveneens in totaal 10^{10} cellen). Het zenuwstelsel onderscheidt zich echter van alle andere weefsels door het grote aantal functionele contactplaatsen (synapsen) tussen de neuronen onderling, waardoor een grote integratie-capaciteit ontstaat. De synaps bestaat uit een presynaptische membraan, een intercellulaire ruimte (synapspleet) en een postsynaptische membraan. Via de synaps vindt in één

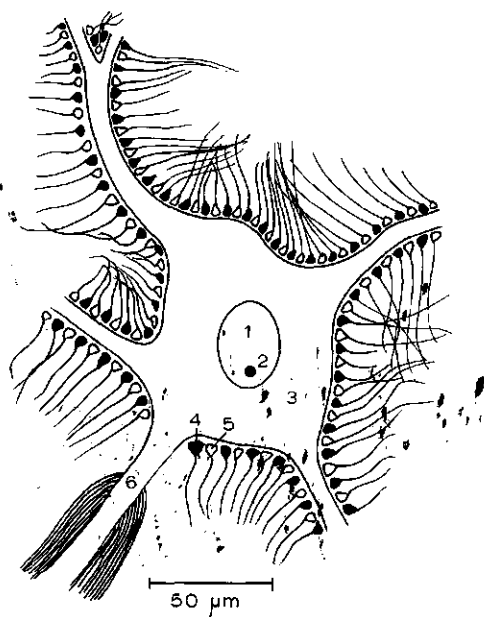


Fig. 2. Motorische voorhoorn cel met presynaptische zenuwuiteinden: 1 = kern; 2 = nucleolus; 3 = cellichaam (perikaryon); 4 en 5 = presynaptische zenuwuiteinden met verschillende neurotransmitters; 6 = axon.

richting een chemische informatieoverdracht plaats van het ene neuron op het daaropvolgende. De informatieoverdracht van cel op cel gebeurt hoofdzakelijk door boodschappermoleculen (transmitters), die door het impulsaanvoerend neuron uiteinde worden afgegeven, en via de synapspleet op de receptoren van het postsynaptische element worden ontvangen en herkend. Hoewel er een aantal van dergelijke transmitters bekend zijn, is het duidelijk, dat elke zenuwcel slechts één soort transmitter kan afgeven. Postsynaptisch kan een zenuwcel echter de boodschappen ontvangen van verschillende soorten zenuwen, dus receptief is een zenuwcel niet specifiek voor één bepaalde transmitter (fig. 2).

Het totaal aantal synapsen in het menselijk zenuwstelsel wordt geschat op circa 10^{14} . In aanmerking genomen het aantal zenuwcellen (10^{10}), zou het schema van de reflexboog (fig. 1) dan ook pas compleet kunnen heten, indien aan dat schema worden toegevoegd de 10.000 synapsen die gemiddeld op elke zenuwcel aanwezig zijn. Sommige, zogenaamde centrale neuronen dragen zelfs veel meer dan 10.000 synapsen op hun oppervlak. Zo ontvangt één Purkinje-cel in het cerebellum de informatie van 200.000–300.000 andere neuronen. Ook de pyramidecellen in de hersenschors (70.000–80.000 synapsen per cel) hebben een formidabel aantal contactmogelijkheden. Veel motorische voorhoorncellen, die de skeletspieren van informatie voorzien, ontvangen hun boodschappen via 30.000–40.000 synapsen (fig. 2). Per motorneuron zijn gemiddeld 2000 interneuronen beschikbaar (Nauta & Karten, 1970).

De ontwikkelingen in de elektronenmicroscopie en de neurochemie hebben de laatste tien jaar een belangrijke bijdrage geleverd aan het onderzoek naar bouw en functie van de synaps. Hoewel natuurlijk een te verwaarlozen aantal synapsen uit de overvloed is geanalyseerd, blijkt dat de bouw van de onderzochte synapsen grote onderlinge overeenkomsten vertoont (fig. 3). Het presynaptische, knopvormige zenuwuiteinde dat een inhoud heeft van circa $10 \mu\text{m}^3$, is herkenbaar aan kleine blaasjes van 40–50 nm. Zowel het pre- als het postsynaptische zenuwuiteinde is bedekt door glia- of steuncellen. Op de plaats van de synaps (circa $1 \mu\text{m}^2$) liggen pre- en postsynaptische membranen tegenover elkaar zonder tussenliggend gliaweefsel. Het aantal synaptische blaasjes dat in een presynaptisch uiteinde zit, is gemiddeld 10.000.

Het blijkt dat, afhankelijk van de fixatie van het weefsel, de blaasjes morfologisch kunnen verschillen. De inhoud van sommige blaasjes is

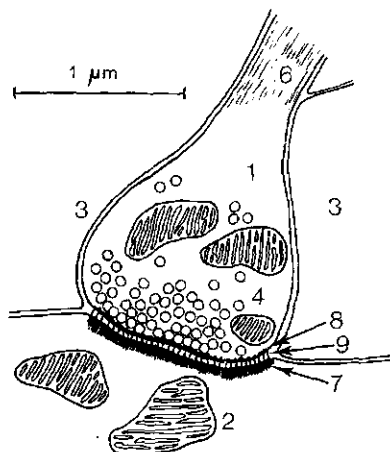


Fig. 3. Synaps: 1 = presynaptisch zenuwuiteinde; 2 = postsynaptisch zenuwdeel; 3 = glia- of steuncel; 4 = synaptische blaasjes en mitochondriën; 6 = neurotubuli; 7 = postsynaptische membraan; 8 = presynaptische membraan; 9 = synapsspleet.

na een bepaalde fixatie voorzien van een elektronendichte stof, terwijl blaasjes van andere presynaptische zenuwuiteinden onder identieke preparatieve omstandigheden geen elektronendichte inhoud vertonen. Deze verschillen in het elektronenmicroscopische beeld worden toegeschreven aan chemische verschillen in transmitter van de verschillende soorten blaasjes. De elektronendichte blaasjes bevatten als boodschapper de verschillende monoamines zoals noradrenaline, dopamine of 5-hydroxytryptamine, terwijl de zwak contrasterende blaasjes zeker acetylcholine, maar ook mogelijk andere neurotransmitters kunnen bevatten (fig. 4). De vele mitochondriën zijn een ander bestanddeel van het presynaptische uiteinde. Zij zijn in hoge concentratie aanwezig en duiden op een sterke metabole activiteit in dit zenuwuiteinde. Recent elektronenmicroscopisch onderzoek, waarbij nieuwe kleuringsmethoden werden gebruikt, heeft waarschijnlijk gemaakt dat de presynaptische membraanverdikkingen, zoals die normaal worden waargenomen, op een specifieke membraanorganisatie berusten. De verdikkingen, ongeveer 60 nm hoog, zijn met elkaar verbonden door elektronendicht materiaal, en in de presynaptische membraan geplaatst als hoekpunten van een gelijkzijdige driehoek met een zijde van 80 nm (zie fig. 5). Men

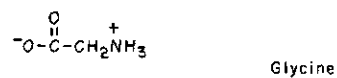
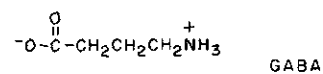
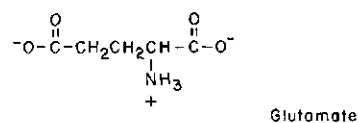
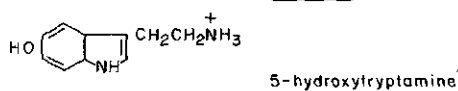
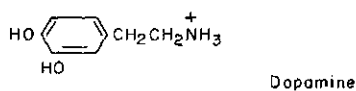
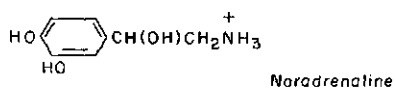
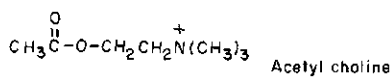


Fig. 4. Neurotransmitters en candidaat-transmitters.

neemt aan dat deze presynaptische membraanverdikkingen het synaptische blaasje geleiden naar het onverdikte deel van de presynaptische membraan, de 'synaptopore', waarna de inhoud in de synapsspleet kan worden uitgestort.

De synaptische spleet, die tussen pre- en postsynaptische membranen aanwezig is, en die ongeveer 20–30 nm overbrugt (de helft van de middellijn van een synaptisch blaasje), is meestal gevuld met een fibrilair elektronendicht materiaal, waarvan de functie nog niet geheel duidelijk is.

In het postsynaptische element, waarin zich ook veel mitochondriën kunnen bevinden, komen verdikkingen voor in de membraan van waaruit filamenten zich kunnen uitstrekken tot in het onderliggende cytoplasma.

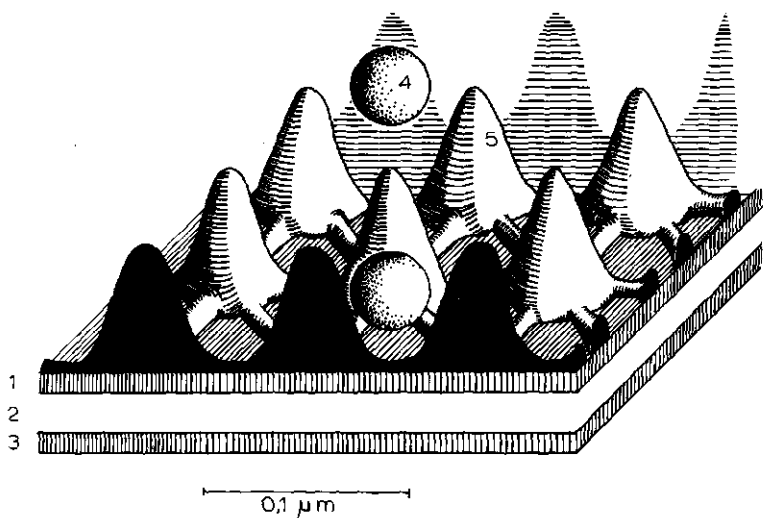


Fig. 5. Organisatie van de presynaptische membraan; 1 = presynaptische membraan; 2 = synaptische spleet; 3 = postsynaptische membraan; 4 = synaptisch blaasje; 5 = presynaptische membraanverdikking.

De contactplaats van zenuw en spier, de motorische eindplaat (ook wel neuromusculaire synaps genoemd), vertoont duidelijke parallellen met die tussen zenuwcellen onderling (fig. 6). Ook hier zijn veel blaasjes te vinden in het terminale zenuwuiteinde. Via een ruimere spleet dan bij zenuwen onderling (50–100 nm) wordt de boodschap overgebracht op het postsynaptische spierelement. Er zijn echter ook meer duidelijke verschillen tussen synaps en motorische eindplaat. Allereerst is het aantal synaptische blaasjes in het terminale axon veel groter (gemiddeld 250.000), maar ook het contactoppervlak tussen zenuwuiteinde en spiervezel is zeker 1000 maal groter. Bovendien wordt de ruimte tussen de twee membranen van de motorische eindplaat voor een deel opgevuld door de basaalmembraan van de spiervezel. De postsynaptische membraan van de spiervezel vertoont op de plaats van de eindplaat specifieke membraanveranderingen, waardoor instulpingen in het oppervlak ontstaan. Deze vouwen in de postsynaptische membraan worden bedekt door de continue basaalmembraan, maar worden niet gevolgd door de membraan van het presynaptische zenuwcelelement.

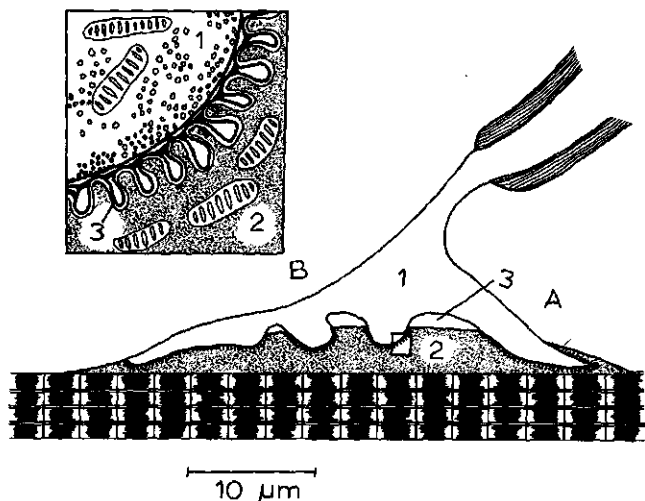


Fig. 6A. Motorische eindplaat: 1 = zenuwuiteinde; 2 = sarcoplasma; 3 = spierfibrillen.

Fig. 6B. Detail uit fig. 6A: 1 = presynaptisch zenuwuiteinde met synaptische blaasjes en mitochondriën; 2 = sarcoplasma met mitochondriën; 3 = synapspleet met basaalmembraan.

In het presynaptische zenuwelement, maar ook in het postsynaptische spierelement, zijn veel mitochondriën aanwezig die door hun grote aantal een sterke metabole activiteit suggereren.

Het chemisch onderzoek van de synaps heeft zich de laatste 10 jaren vooral kunnen ontwikkelen dank zij nieuwe biochemische scheidingsmethodes, die door de twee onderzoekers De Robertis (Argentinië) en Whittaker (Engeland) onafhankelijk van elkaar voor zenuwweefsel zijn uitgewerkt. Met behulp van deze biochemische methode, die gebruik maakt van gradiëntcentrifugatietechnieken (zie het hoofdstuk van Kramer), werd het mogelijk de zenuwuiteinden te scheiden van anderzortig zenuwmateriaal. Zo kon een redelijk zuivere suspensie van synapsen worden verkregen, die behalve de terminale presynaptische zenuwdelen, ook nog de daaraan gehechte postsynaptische membranen bevatte (fig. 7). Het bijzondere van deze geïsoleerde presynaptische uiteinden was, dat de presynaptische membraan zich afsloot direct nadat dit uiteinde door de homogenisatie van de zenuw was losge-

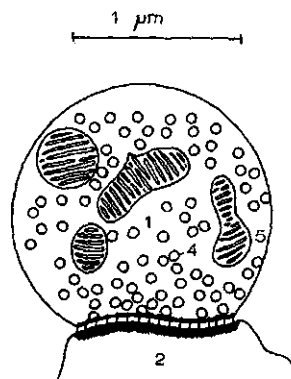


Fig. 7. Synaptosoom: 1 = presynaptisch afgesloten zenuwuiteinde; 2 = postsynaptische membranen; 4 = synaptische blaasjes; 5 = mitochondriën.

maakt, zodat de inhoud, dus ook de synaptische blaasjes, behouden bleef. Deze zakjes, die door Whittaker synaptosomen werden genoemd, kunnen dus beschouwd worden als kunstmatige kernloze celfragmenten. De synaptosomen zijn osmotisch intact en kunnen zwellen en barsten nadat ze vanuit hun isotone omgeving, waarin ze zijn geïsoleerd, in water worden gesuspenderd. Hierbij komt ingesloten cytoplasmatisch materiaal, zoals synaptische blaasjes en mitochondriën, vrij en het synaptosoom met aangehechte postsynaptische membraan blijft leeg achter. Gradiënt-centrifugatie maakt het mogelijk deze componenten van elkaar te scheiden.

Biochemisch onderzoek van de geïsoleerde synaptosomen en de subfracties toonde aan dat transmitters, zoals acetylcholine en noradrenaline, in hoge concentratie in de synaptosoomfractie aanwezig zijn. Deze stoffen zijn echter slechts voor de helft vast gebonden aan synaptische blaasjes. Hoewel de schattingen over de transmitter-inhoud van de blaasjes nogal wat uiteen lopen, is door biochemisch en histochemisch onderzoek duidelijk geworden dat van elk van beide transmitters enkele duizenden molekulen aan één enkel verschillend synaptisch blaasje gebonden kunnen zijn. Tevens bleek uit enzymbepalingen dat de enzymen die ingeschakeld zijn bij de vorming van neurotransmitters, juist in de synaptosoomfractie zijn geconcentreerd. Het enzym dat acetylcholine afbreekt, het acetylcholinesterase, bleek zich vooral te

bevinden op de membraan van het synaptosoom. In synaptosomen die noradrenaline bevatten, bleken zowel de enzymen die het noradrenaline vormen, als die het afbreken, in het cytoplasma van het synaptosoom voor te komen.

Chemisch onderzoek van de verschillende membraanfracties na ultracentrifugatie leverde het onverwachte resultaat dat het fosfolipidegehalte van de membraan van het synaptosoom in belangrijke mate verschilde van het fosfolipide gehalte van de membranen van de synaptische blaasjes. Er zijn echter nog geen onderzoeken verricht naar de specifieke fosfolipidesamenstelling van de verschillende membranen.

Het dynamische synapsmodel

De afgifte van boodschappermolekulen vindt plaats in het impulsaanvoerend zenuwuiteinde. Het elektrisch signaal, dat via de zenuw wordt voortgeleid, bereikt daar zijn eindpunt en ter plaatse wordt door nog onbekende moleculaire processen een chemische boodschap vrijgemaakt. De transmitterstoffen diffunderen naar de postsynaptische membraan en veroorzaken aldaar een verandering in membraanpotentiaal, die weer verder wordt voortgeleid. De grootte van deze postsynaptische membraanpotentiaal verandering hangt o.a. af van de hoeveelheid transmitter die op de membraan van de ontvangende cel aankomt.

Ook bij het ontbreken van een elektrisch signaal vanuit de prikkende cel komen postsynaptische potentiaalveranderingen voor, die toegeschreven worden aan een spontaan diffunderen van de chemische boodschapper vanuit het presynaptische zenuwuiteinde. Katz (1966) toonde aan dat in de motorische eindplaat die kleine spontane postsynaptische potentiaalveranderingen (miniatur eindplaat-potentialen) niet het gevolg waren van één of enkele molekulen transmitter (in dit geval acetylcholine), maar veroorzaakt werden door een gelijktijdige uitstorting van een constante hoeveelheid neurotransmitter in de orde van grootte van 5000 molekulen. Deze pakketjes neurotransmitter werden kwanten genoemd. De hoeveelheid van één kwant was echter niet voldoende om één duidelijk functioneel effect (d.w.z. spiercontractie) te weeg te brengen. Het bleek dat daarvoor enkele honderden kwanten nodig waren, die vrijwel gelijktijdig afgegeven moesten worden in de synapsspleet. Deze paar honderd kwanten (circa 10^6 acetylcholine-

molekulen) worden in één zenuwcel gelijktijdig vrijgemaakt als gevolg van één enkel presynaptisch elektrisch signaal.

Later bleek dat deze gekwantiseerde afgifte van neurotransmitter ook in synapsen tussen de cellen van het centrale zenuwstelsel plaats heeft. Het aantal kwanten dat bij één impuls vrijkwam, was echter klein (2-30) en afhankelijk van de soort synaps.

Nadat het concept van de gekwantiseerde afgifte was ontwikkeld, toonden elektronenmicroscopische opnamen een subcellulaire structuur in synapsen die het morfologisch substraat waren voor de pakketten acetylcholine, namelijk de synaptische blaasjes. Zoals reeds werd vermeld, kon Whittaker aantonen dat ook de hoeveelheid transmitter per blaasje in de gewenste orde van grootte lag. Eén kwant kon gelijkgesteld worden aan de hoeveelheid transmitter van één blaasje (circa 2000-5000 molekulen acetylcholine).

Algemeen wordt aangenomen, dat bij de chemische informatie-overdracht via een synaps de inhoud van een groot aantal blaasjes tegelijkertijd wordt geledigd in de synaptische spleet d.m.v. een proces van exocytose (zie het hoofdstuk van Daems). Hierbij zou de membraan van een synaptisch blaasje op de plaats van de synaptische spleet versmelten met de presynaptische zenuwmembraan, waarna de inhoud van het blaasje uitgestort kan worden in de synaptische spleet. Vervolgens zou het lege blaasje weer opgenomen worden in het cytoplasma van het presynaptische einde. Vooral deze laatste conditie is noodzakelijk omdat één boodschap bij de synaps tussen twee zenuwen anders de presynaptische membraan met circa $1 \mu\text{m}^2$ zou laten toenemen, wat een verdubbeling van het synapsoppervlak zou betekenen. Het is echter niet zeker, dat de plaats waar fusie optreedt tussen blaasjes- en presynaptische membraan dezelfde is waar uiteindelijk de overtolige membraan weer in het presynaptische einde wordt opgenomen; de gefuseerde blaasjesmembranen zouden namelijk langs het oppervlak van het presynaptische einde kunnen migreren en later buiten de synaps opnieuw opgenomen kunnen worden in het cytoplasma van het presynaptische uiteinde. Daar de chemische samenstelling van blaasjes- en plasmamembranen verschillen, lijkt het echter zeer waarschijnlijk dat de membraanfusie slechts van korte duur is, en de plaats van afgifte van transmitter vrijwel dezelfde is als de plaats van heropname van de blaasjesmembraan (zie ook overzicht van Holtzman 1973).

Directe morfologische aanwijzingen van exocytose in de synaps waarbij de membraan van het blaasje fuseert met de synaptische mem-

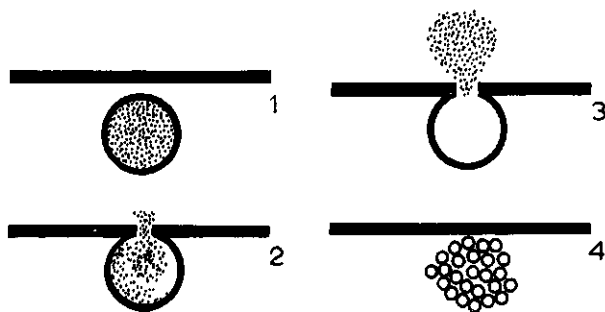


Fig. 8. Exocytose bij neurosecretie.

braan, zijn echter nog niet aanwezig. Wel zijn dergelijke membraanfusies beschreven voor hormoonproducerende cellen, zoals de somatotrofe (groeihormoon-producerende) en de mammotrofe (prolactine-producerende) cellen van de hypofyse. Ook neuronen die hormonen afgeven aan de circulatie (de neurosecretorische neuronen), vertonen beelden van exocytose aan het zenuwuiteinde. In tegenstelling tot de synaptische blaasjes die aanwezig zijn in het centrale zenuwstelsel, zijn de blaasjes van deze hormoonproducerende neuronen echter een factor 10–20 groter, waardoor membraanveranderingen als gevolg van exocytose dan ook eenvoudiger kunnen worden geconstateerd. Tevens zijn bij deze hormoonproducerende cellen vlak bij de plasmamembraan in het cytoplasma kleine lege blaasjes aanwezig, die de resten kunnen zijn van de hormoonbevattende blaasjes die hun inhoud hebben uitgestort door exocytose (fig. 8).

Het verwijderen en onwerkzaam maken van de boodschappermoleculen nadat de informatie is afgegeven, is een essentiële voorwaarde voor het goed functioneren van de micro-informatieoverdracht.

De vernietiging van acetylcholine vindt plaats door het enzym acetylcholinesterase. Met gecombineerde histochemische en elektronenmicroscopische technieken (elektronenmicroscopische histochemie) bleek, dat in de omgeving van de synaps het acetylcholinesterase vooral gelokaliseerd was op de buitenmembranen van de pre- en postsynaptische zenuwuiteinden. Bij de motorische eindplaat vertoonden de pre- en postsynaptische membranen vooral een hoge activiteit (zie

Eränkö, 1971). Van de splitsingsprodukten acetaat en choline wordt het choline weer opnieuw opgenomen door de membranen van het presynaptische zenuwuiteinde.

Bij de informatieoverdracht d.m.v. catecholaminen kan de inactivatie van deze transmitter plaatsvinden via twee enzymen, de catechol-O-methyltransferase en de monoamine-oxidase. In tegenstelling tot de acetylcholine-synaps bevinden deze twee inactivators zich echter binnen in het presynaptische uiteinde waardoor hun functie bij de catecholamine-inactivatie in de synapsspleet zeer gering is. Het is waarschijnlijk dat de verwijdering van de transmitter uit de synapsspleet van deze systemen tot stand komt via diffusie uit de spleet naar een actief transportmechanisme dat zich in de membraan van het presynaptische uiteinde bevindt. Hierdoor kan noradrenaline, dat eerst vrijgekomen was, opnieuw onveranderd gebruikt worden als boodschapper in een volgende cyclus van afgifte en opname. Bij deze synapsen, en zeer waarschijnlijk ook bij synapsen die van een andere neurotransmitter gebruik maken, is diffusie uit de synapsspleet en heropname van neurotransmitter in het presynaptische zenuwuiteinde de belangrijkste manier om de actie van de boodschapper te beëindigen.

Zoals reeds aangegeven werd, zijn de neurotransmitters in het zenuwuiteinde niet allen vast gebonden aan de synaptische blaasjes (zie p. 186). Een gedeelte van de transmitter lijkt los van de blaasjes in het cytoplasma van het zenuwuiteinde voor te komen. Er is echter reden om aan te nemen dat er twee populaties van blaasjes aanwezig zijn, één populatie die uiterst labiel is en zijn inhoud bij de gebruikte scheidingstechnieken snel afgeeft, en een andere waarvan de transmitter bij de scheiding vastgebonden blijft aan het blaasje. Experimentele gegevens wijzen erop, dat deze labiele blaasjes zich dicht bij het synapsoppervlak bevinden waar zij een belangrijke rol kunnen spelen bij de afgifte en snelle heropname van transmitterstoffen (zie overzicht Hall, 1972).

Voor de nieuwvorming van de chemische boodschapper zijn over het algemeen stoffen zoals tyrosine, tryptofaan, choline en glutamaat (fig. 9) noodzakelijk, die rijkelijk voorhanden zijn in het bloedplasma en andere extracellulaire vloeistoffen. De hoogste concentratie aan enzymen die noodzakelijk zijn voor de transmittervorming, vinden we in het presynaptische neuronuiteinde. Het is daarom zeer waarschijnlijk dat de transmittersynthese hoofdzakelijk in dit deel van het neuron plaats vindt. Het is daarbij moeilijk voor te stellen hoe de transmitter-

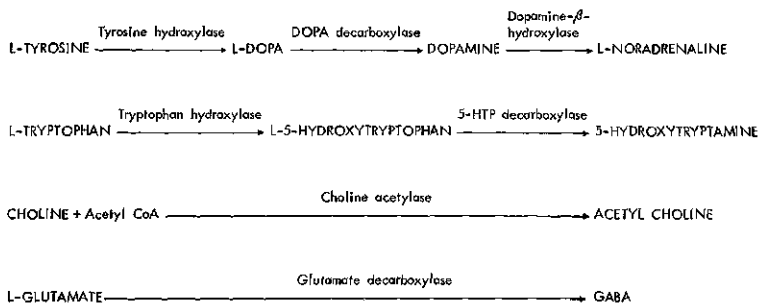


Fig. 9. *Vorming van neurotransmitters.*

biosynthese op grote afstand van dit zenuwuiteinde, bijvoorbeeld in het cellichaam (perikaryon), in staat zou zijn aan de snelle vraag aan neurotransmitters te voldoen. De hoeveelheid transmitter die aanwezig is in het presynaptische zenuwuiteinde, is namelijk slechts voldoende voor circa 1 minuut van constante informatieoverdracht, en het ver verwijderde cellichaam heeft zeker enige dagen nodig om het resultaat van zijn eventueel verhoogde neurotransmitter-aanmaak bij de synaps te laten aankomen.

Voor de synthese van acetylcholine is acetyl-CoA nodig, een stof die in de mitochondriën wordt gesynthetiseerd. De heropname van choline, noradrenaline en eventueel andere transmitters vanuit de synaptische spleet geschiedt actief door een energievragend mechanisme in de membraan, en kan met zo'n grote snelheid gebeuren, dat de concentratie neurotransmitter in het zenuwuiteinde ondanks een verhoogde afgifte constant gehouden kan worden. Zowel voor nieuwvorming van transmitters als voor de heropname vanuit de synaptische spleet en het transport naar de synaptische blaasjes is veel energie nodig. Zoals eerder genoemd werd, komt dit tot uitdrukking in de relatief hoge concentratie aan mitochondriën die zich in het zenuwuiteinde bevinden. Deze kunnen in de vorm van ATP de benodigde chemische energie verschaffen. Het is te begrijpen, dat deze afhankelijkheid van mitochondriale en dus oxidatieve energieaanmaak de synaps bijzonder gevoelig maakt voor verlagingen in het aanbod van zuurstof.

Elektrische communicatie tussen prikkelbare cellen

Membraanspecialisaties

Als gevolg van de ontwikkeling van het gebruik van micro-elektroden in de fysiologie zijn de laatste jaren voorbeelden ontdekt van een elektrische communicatie tussen prikkelbare cellen onderling. Tegen de verwachting in zijn tot nu toe slechts weinig gevallen van een elektrische informatieoverdracht van cel tot cel in het zenuwstelsel aangetoond. De chemische overdracht via transmitters is daar kennelijk de aangewezen manier. In andere weefsels daarentegen, zoals in hartspier en gladde spier, behoort de elektrische overdracht van informatie tot het normale patroon.

Een elektrische informatieoverdracht is niet denkbaar bij cellen waarvan de afstand tussen de membranen normaal is (15–20 nm) en waarbij de vloeistof tussen de membranen dezelfde ionsamenstelling heeft als intercellulair vocht. Theoretisch wordt dit verklaard door de hoge weerstand van de synaptische membranen t.o.v. de lage weerstand van de vloeistof in de synaptische spleet. Ieder elektrisch signaal (een iontransport) neemt in dit geval de gemakkelijkste route en vloeit weg naar de extracellulaire ruimten die met de synapsspleet in verbinding staan. Hierdoor bereikt het presynaptische elektrische signaal de overkant (het postsynaptische element) niet of nauwelijks (zie Katz, 1966; Furshpan & Potter, 1968).

Het is dan ook niet verwonderlijk dat vooral met de elektronmicroscopie gezocht wordt naar membraanveranderingen, die de theoretische moeilijkheid van een elektrische overdracht omzeilen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van Lanthaan-zouten, die zeer nauwe extracellulaire ruimten kunnen binnendringen en daarbij een amorf elektronendicht materiaal achterlaten (Revel & Karnovsky, 1967). Een drietal morfologische substraten voor de elektrische communicatie zijn hierbij naar voren gekomen (fig. 10). Allereerst zijn er membraanspecialisaties bekend waarbij de afstand tussen de twee membranen veel kleiner is dan normaal. Bij de dichte verbinding ('tight junction') is geen ruimte aanwezig tussen de twee tegen elkaar geplakte celmembranen, terwijl de membraanverbinding van buitenaf niet doordringbaar is voor het lanthaanzout. Een zeer nauwe opening (2 nm) tussen de twee membranen wordt gevonden bij de zogenaamde spleetverbinding ('gap junction'). Deze verbinding, die beschreven is door Revel & Karnovsky

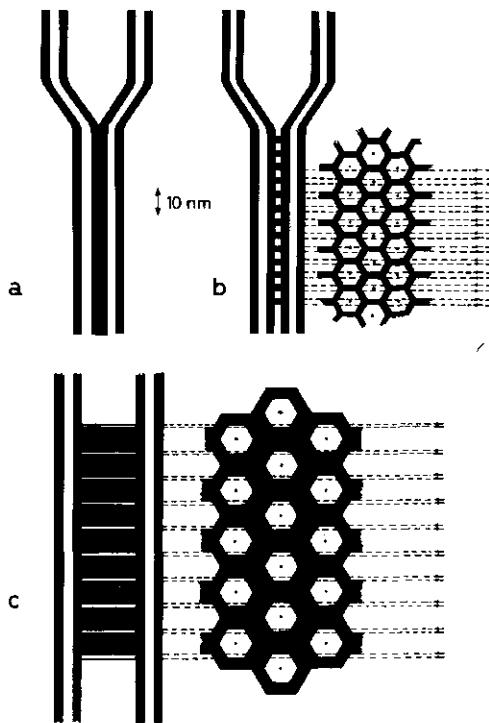


Fig. 10. Membraanapposities: a = 'tight junction': de twee trilaminaire membranen versmelten; b = 'gap junction'; c = 'septate desmosome'.

De honingraatstructuren in b en c zijn beelden van tangentiële coupes (evenwijdig aan de membranen) van de met lanthaanzouten gevulde ruimte tussen de membranen. Door deze structuren ontstaan de karakteristieke strepingen van de 'gap junction' en 'septate desmosome' bij coupes loodrecht op de membranen gesneden. De punten in de hexagonale structuren worden beschouwd als de cytoplasmatische verbindingen tussen twee cellen.

(1967) is doordringbaar voor, en zichtbaar te maken met lanthaanzouten. Hierbij bleek dat de intercellulaire ruimte in de gap junction niet alleen opgevuld was met intercellulaire vloeistof maar met een reeks eenheden die tangentieel getroffen een hexagonaal patroon vertoonden (fig. 10).

De andere membraanspecialisaties, die de criteria voor elektrische koppeling kunnen doorstaan, zijn die waarbij de intercellulaire afstand weliswaar normaal is (15–20 nm), maar waarbij de intercellulaire ruim-

te is opgevuld met specifieke structuren: de septa. Bij deze koppeling tussen membranen spreekt men over de septa-bevattende desmosomen ('septate desmosomes'). Zij komen slechts voor bij evertibraten en zouden bij deze diergroep kandidaat kunnen zijn voor de elektrische informatieoverdracht. Bij de elektrische overdracht in prikkelbare weefsels van vertebraten is echter de gap junction de functionele membraanverbinding.

De hartspier

Gedurende een aantal jaren werd de hartspier door vele onderzoekers beschouwd als een syncytium, een weefsel waarvan dus de normale cellulaire opbouw ontbreekt door de afwezigheid van celmembranen. Dit concept sloeg aan bij talrijke fysiologen, omdat het een simpele verklaring gaf van het feit dat een verandering van membraanpotentiaal die in een gedeelte van het hart werd opgewekt, zich zeer snel door de gehele hartspier kon verspreiden.

Recente elektronenmicroscopische onderzoeken toonden echter aan dat de hartspier toch uit een aantal cellulaire eenheden bestaat, ieder met een afzonderlijke kern. De membranen van achter elkaar geschakelde cellen bevonden zich op de lichtmicroscopisch duidelijk zichtbare glanslijn (intercalated disc), waarin elektronenmicroscopisch een normale intercellulaire tussenruimte van 10-20 nm te zien was. De celmembranen op de glanslijn vertoonden echter plaatselijk plekken met zeer nauw contact ('gap junction'). Ook op de lengtemembranen tussen de hartspiercellen werden zulke gap junctions aangetroffen en het is zeer waarschijnlijk, dat langs deze celcontacten potentiaalveranderingen dwars op de vezelrichting voortgeleid worden.

Fysiologisch gezien betekenen deze gap junctions in de hartspier dus dat prikkels die via de bekende vezelbundels worden voortgeleid, uiteindelijk door die hartspiercellen zelf aan elkaar worden doorgegeven. Wanneer deze verbindingen worden verbroken, gaat de transmissie tussen de hartspiercellen ook verloren.

Gladde spier

Elektrofysiologische experimenten tonen aan, dat de voortgeleiding van potentiaalverschillen in de gladde spier plaats vindt door iontransport van cel tot cel. De elektrische eigenschappen van cytoplasma

en celmembranen geven aan dat de dubbelmembraan van twee aaneengesloten cellen een zeer lage weerstand heeft t.o.v. de celmembraan zelf. Het lijkt alsof een appositie van membranen een kleinere weerstand ten gevolge heeft.

Morfologisch zijn deze plekken van lage weerstand terug te vinden als gap junctions (Revel et al., 1967). Hoewel het aantal verbindingen per cel alsmede hun specifieke weerstand nog niet is bepaald, lijkt het ook in dit geval weer zeer waarschijnlijk dat deze plekken van nauwe membraanappositie een functionele rol spelen bij de prikkelgeleiding door glad spierweefsel.

Zenuwweefsel

Het is niet verwonderlijk dat de voorbeelden van een elektrische informatieoverdracht tussen zenuwcellen juist gevonden werden in de zenuwstelsels van evertibraten. Vertegenwoordigers van deze diergroep – zoals wormen, weekdieren en arthropoden – bezitten namelijk cellichamen, axonen en dendrieten, die uitermate geschikt zijn voor fysiologische studies van zowel chemische als elektrische informatieoverdracht.

De perikarya, de presynaptische en postsynaptische einden van deze zenuwcellen zijn namelijk zodanig uitgegroeid, dat het niet al te moeilijk is in cellichaam en uitlopers micro-elektroden aan te brengen.

Metingen met intracellulaire elektroden wezen uit dat bij sommige neuronen de informatieoverdracht van het presynaptische naar het postsynaptische element momentaan verliep. Dit in tegenstelling tot de tijd van 0,5–1 msec, die verloopt bij de chemische synaps en die nodig is voor de afgifte en diffusie van neurotransmitters. Ook in grote zenuwcellen bij lagere vertebraten, zoals de supramedullaire neuronen bij sommige vissen, kon een elektrische overdracht, dus zonder transmitters, worden aangetoond.

Elektronenmicroscopisch onderzoek van dergelijke synapsen leert, dat in deze gevallen van elektrische overdracht een gap junction voor de theoretisch noodzakelijke appositie zorgt. Naast deze membraanverschillen met de chemische synaps zijn er bij de elektrische synaps geen ophopingen van synaptische blaasjes in de buurt van de synapsspleet. Voor de merkwaardige eigenschap dat ook bij de elektrische synaps de informatieoverdracht slechts in één richting kan passeren, geeft het elektronenmicroscopische beeld nog geen verklaring.

Chemische communicatie tussen niet prikkelbare cellen

Recent is het onderzoek van informatieoverdracht tussen niet prikkelbare cellen onderling. Elektrofysiologisch onderzoek met micro-elektroden toonde aan, dat cellen in volwassen weefsels, zoals epithelia (huid-, blaas-, darm- en zintuigepitheel), maar ook in lever, nier en schildklier, in staat zijn de stroom die in de ene cel wordt geïntroduceerd door te geven aan naburige cellen (fig. 11a). De cel is dus niet, zoals altijd was verondersteld, een opzichzelf staande eenheid die door een ondoordringbare celmembraan wordt afgesloten van zijn nabuurlingen, maar naast elkaar liggende cellen kunnen in ieder geval kleine ionen – de dragers van die elektrische stroom – zeer snel uitwisselen. Men spreekt in dit geval van elektrische koppeling. Latere experimenten van Loewenstein (1971) gaven aan, dat ook grotere molekulen zoals fluoresceïne (moleculair gewicht 330) en zelfs albumine (molecu-

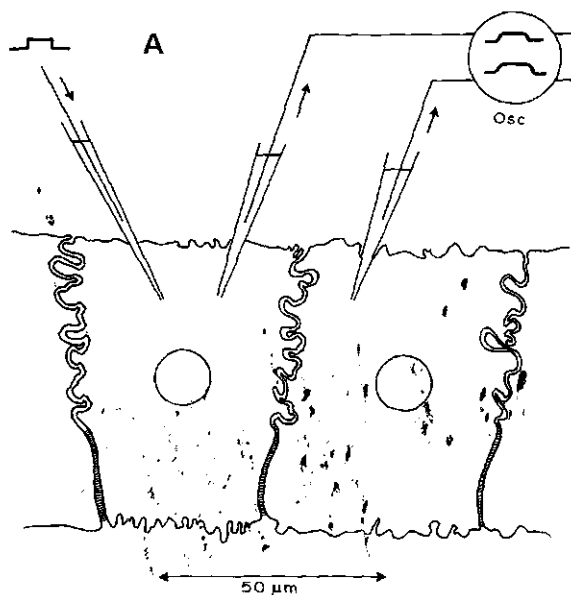


Fig. 11A. Schema van elektrisch aantonen van celcommunicatie. Bij celcommunicatie vormen de celmembranen geen barrière voor de ionenbewegingen. De stroom die in de linker cel wordt geïntroduceerd, veroorzaakt identieke membraanpotentiaalveranderingen in linker- en rechtercel. Osc = oscilloscoop.

lair gewicht 69.000) van het cytoplasma van de ene cel naar dat van de andere cel kunnen diffunderen (fig. 11B).

In de meeste gevallen waarin van een elektrische koppeling sprake was, werden elektronenmicroscopisch 'tight junctions' en 'gap junctions' aangetoond. Hoewel ook in een aantal gevallen bij evertrebratenweefsels zogenaamde 'septate desmosomes' werden gevonden (*Drosophila*: speekselklier) is het toch zeer waarschijnlijk dat analoog aan de elektrische synapsen tussen cellen van prikkelbare weefsels slechts gap junctions verantwoordelijk zijn voor de communicatie tussen niet prikkelbare cellen.

In embryonaal weefsel van vertebraten zoals van salamander (*Triturus pyrrhogaster*), kikker (*Rana pipiens*) en pad (*Xenopus laevis*) vertonen de cellen onderling reeds vanaf de eerste klieving zo'n elektrische koppeling (zie De Haan & Sachs, 1972). Bij de eerste eiklieving, op het moment dat de klievingsmembraan juist is gevormd, is de elektrische

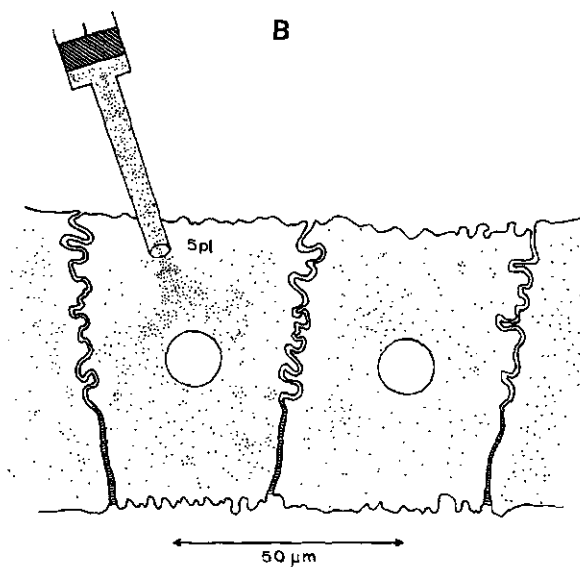


Fig. 11B. Schema van het fluorimetrisch aantonen van celcommunicatie. De diffusie van een fluorescerende stof die in de linker cel wordt geïnjecteerd, kan met behulp van een fluorescentiemicroscop gevolgd worden. Bij celcommunicatie is een snelle diffusie aanwezig naar nabuircellen ondanks celmembranen.

weerstand over deze membraan zelfs tien maal lager dan die van de oppervlaktemembraan die niet in contact is met zijn nabuurcel. Fysiologisch onderzoek in vroege embryonale stadia van de inktvis en de kip toonde aan dat ook na het morulastadium elektrische koppeling aanwezig is, niet alleen tussen de cellen van een bepaald te vormen weefsel, maar ook tussen cellen van verschillende regionen (bij de kip: neurale plaat en notochord). Later in de ontwikkeling, bij het ontstaan van de circulatie, gaan de cellulaire contacten tussen de te vormen weefsels weer verloren, en elektronenmicroscopisch onderzoek leert, dat gap junctions hierbij verdwijnen (Furshpan & Potter, 1968). De elektrische koppeling tussen embryonale cellen suggereert dat naast het transport van ionen ook grotere molekulen kunnen worden uitgewisseld. Recente experimenten bij embryonale cellen van *Fundulus* (een beentvis) geven echter aan dat het moleculair gewicht van deze stoffen klein moet zijn. Tussen deze cellen is namelijk een elektrische koppeling aan te tonen, maar fluoresceïne (moleculair gewicht 330) kan niet passeren.

Hoewel dus nog niets bekend is over de functionele betekenis van deze intercellulaire communicatie tussen cellen zowel in volwassen als in embryonaal weefsel, is het aantal hypothesen over hun betekenis legio (o.a. Furshpan & Potter, 1968). Zo denkt men aan een snel intercellulair transport van voedingsstoffen en afvalprodukten in het embryo voordat de circulatie is ontwikkeld, aan een transport van inductors of aan repressors van deling en differentiatie in het volwassen dier. Duidelijk is dat de intercellulaire verbindingen de cellen meer gelijk maken aan elkaar en dat de koppeling een rol kan spelen bij het coördineren van celactiviteiten. In dit verband is een belangrijke observatie, dat de elektrische koppeling tussen cellen in een tumorweefsel (lever- of schildkliertumor) verloren gegaan is, zodat een directe correlatie tussen afwezigheid van celcontacten en ongecontroleerde celdeling voor de hand ligt. Ook het gedrag van 'normale cellen' onder weefselweekomstandigheden suggereert dat de beweeglijkheids- en delingsmogelijkheid van deze cellen afhankelijk is van hun contacten onderling (Furshpan & Potter, 1968). Er zijn echter ook gevallen, waarin snel delend weefsel wel degelijk celcommunicatie vertoont.

Het is zeer wel mogelijk dat de vragen die rijzen betreffende de invloed van celcontacten op de gecontroleerde groei van weefsels, opgelost kunnen worden, door inzicht te verkrijgen in de aard van de stoffen die al of niet door deze intercellulaire contacten kunnen worden doorgelaten.

Cyclisch AMP als schakel en hormoon

TH. M. KONIJN

Dierlijke hormonen

Na verwijdering van de testes bij jonge hanen krimpen de felrode kam en lellen en worden flets van kleur. Deze eeuwenlange toegepaste castratie leverde de kapoentjes op, wier vlees bijzonder in trek was. Berthold heeft in de vorige eeuw deze gedaanteverandering van de gecastreerde haan nader onderzocht. Hij transplanteerde zaadballen van een haan naar een kapoen en ontdekte dat kleur en grootte van kam en lellen weer op die van de haan begonnen te lijken. Dit herstel van kam en lellen suggereerde dat bepaalde stoffen, geproduceerd door de zaadballen, via de bloedstroom naar de kop vervoerd werden. In plaats van transplantatie kan hetzelfde effect bij de kapoen bereikt worden door injectie met een testisextract. Ook bij andere dieren bleken bepaalde stoffen uit de testes een typisch mannelijk gedrag op te roepen.

Tegen het eind van de vorige eeuw werd het duidelijk dat niet alleen geslachtsorganen, maar ook andere organen stoffen bevatten die na injectie bepaalde biologische effecten veroorzaakten. Deze actieve chemische stoffen werden hormonen genoemd. Zowel bij vertebraten als bij evertebraten bleek een groot aantal verschillende hormonen werkzaam te zijn. Weldra werd duidelijk dat hormonen tezamen met het centrale zenuwstelsel zorg dragen voor de regulatie en coördinatie van allerlei processen die zich in verschillende organen en weefsels afspelen. Hormonen worden doorgaans door klieren geproduceerd onder invloed van het centrale zenuwstelsel, andere hormonen of bepaalde stofwisselingsprodukten.

Huxley verdeelde in 1935 de uit dierlijk weefsel geïsoleerde actieve stoffen in stoffen die binnen de cel geproduceerd én actief waren, en stoffen wier actieradius zich over meerdere cellen uitstrekte. Deze laatste groep werd verder onderverdeeld in van diffusie afhankelijke stoffen die alleen naburige cellen konden beïnvloeden en stoffen die via het

bloed door het hele lichaam vervoerd werden. Deze laatste verbindingen worden doorgaans hormonen genoemd, hoewel het onderscheid tussen deze door het bloed getransporteerde stoffen en de diffunderende stoffen niet altijd duidelijk is. Typische voorbeelden van door de bloedstroom vervoerde hormonen zijn adrenaline, noradrenaline, oestrogenen, androgenen en insuline. Thans zijn er meer dan honderd hormonen geïsoleerd en van de meesten is de plaats van aanmaak en lozing bekend. Hormonen zijn in bijzonder lage concentraties werkzaam (ongeveer 10^{-12} M). In dergelijke concentraties worden zij via het bloed naar andere weefsels getransporteerd, waar zij biochemische, fysiologische en morfologische veranderingen teweeg brengen.

Hun chemische structuur is in veel gevallen ontrafeld. De grootte van het hormoonmolekuul varieert aanzienlijk. De polypeptidenhormonen bevatten minder dan honderd aminozuren die aan elkaar gekoppeld zijn door peptidebindingen. Vasopressine, een hormoon dat de permeabiliteit van een aantal epitheliale membranen verhoogt, behoort tot deze groep. Het is opgebouwd uit slechts acht aminozuren.

Tot de eiwithormonen behoort o.a. het groeihormoon dat is opgebouwd uit enige honderden aminozuren.

Een derde groep hormonen, die vooral bekend zijn door hun werking op gladde spieren, zijn derivaten van aminozuren. Adrenaline en noradrenaline behoren hiertoe.

Een vierde groep hormonen wordt gevormd door bepaalde lipiden, esters van hogere alifatische zuren die evenals hormonen van de derde groep o.a. gladde spieren kunnen activeren. Tot deze groep behoren ondermeer de prostaglandinen. Deze laatsten zijn vrij recent ontdekt en komen in bijna alle weefsels voor, maar niet in bloed. Hun functie is nog niet duidelijk; waarschijnlijk reguleren zij lokaal stofwisselingsprocessen.

De sterolen vormen de laatste groep; geslachtshormonen zoals oestradiol en testosteron vallen hierbinnen. Zij zijn opgebouwd uit het cholesterol skelet (fig. 1).

Aankankelijk werden hormonen geïsoleerd uit grote hoeveelheden organen. De opbrengst was na zuivering vaak niet meer dan enkele milligrammen. Thans worden verscheidene eenvoudige hormonen, zoals vasopressine, adrenaline, noradrenaline en verschillende geslachtshormonen synthetisch bereid. Deze kunstmatige hormonen vergemakkelijken het onderzoek naar hun fysiologische en farmacologische werking aanzienlijk.

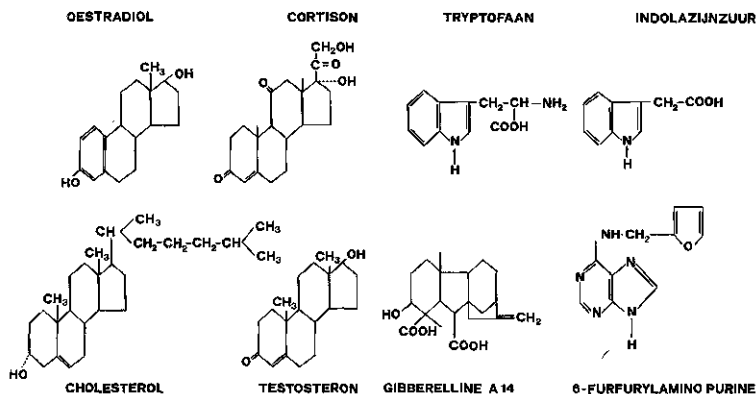


Fig. 1. Structuurformules van enkele dierlijke en plantaardige hormonen.

Plantaardige hormonen

De fyto- of plantehormonen functioneren als de chemische boodschappers tussen de verschillende delen van de plant en bevorderen o.a. groeiprocessen zoals celdeling en celstrekking. De productie van deze hormonen vindt plaats in bijzonder kleine hoeveelheden. Zodra de hormonen hun doelwitcellen bereikt hebben, kunnen ze de aanmaak van nucleïnezuren en eiwitten beïnvloeden. De hormoonconcentratie kan door milieufactoren, zoals zwaartekracht, licht en daglengte, gereguleerd worden.

De fytohormonen kunnen we onderscheiden in auxinen, cytokininen en gibberellinen, maar ook bijvoorbeeld abscissinezuur en ethyleen, die bij het proces van het afvallen van bladeren betrokken zijn, functioneren als hormonen.

Auxinen worden o.a. in de apicale delen van de stengel en van het coleoptiel, en in ontkiemende zaden aangemaakt om ondermeer de lengtegroei en de secundaire diktegroei van de stengel te bevorderen. Went gelukte het in 1926 tijdens zijn onderzoek aan de universiteit van Utrecht, om groeihormonen uit een coleoptieltopje in een agarblokje te laten diffunderen. Dit blokje bleek groeistimulerend te werken wanneer het op een andere toploze coleoptiel gezet werd. Went ontwierp door gebruik te maken van deze met auxine geïmpregneerde agarblokjes de eerste kwantitatieve fytohormonentest. De groeistimulerende

werking van dit preparaat bleek niet tot één chemische stof beperkt te zijn. Na het vaststellen van de structuur van auxine als indolazijnzuur (fig. 1), bleken ook andere stoffen die nauw verwant waren aan indolazijnzuur de groei te stimuleren; ook bij dierlijke hormonen vinden we vaak, dat verschillende chemisch nauw verwante stoffen eenzelfde werking hebben. Bij de aanmaak van indolazijnzuur is het aminozuur tryptofaan (fig. 1) waarschijnlijk een belangrijke bouwsteen. Indolazijnzuur wordt geïnactiveerd door het enzym indolazijnzuur-oxidase. Dit enzym speelt mogelijk een rol bij de regulatie van het endogene gehalte aan indolazijnzuur. Een ander lot dat indolazijnzuur kan ondergaan is binding aan een groter molekuul, waarbij zijn groei-stimulerende activiteit al of niet behouden blijft. Het transport van indolazijnzuur is duidelijk polair; het vindt in de stengel van apicaal naar basaal plaats.

De gibberellinen (fig. 1), die ook vaak nauw aan elkaar verwant zijn, komen in de hogere planten op dezelfde plaats als auxinen voor. Deze groeistoffen werden oorspronkelijk uit de schimmel *Gibberella fujikuroi* geïsoleerd. De door deze schimmel geïnfecteerde rijstplanten waren reeds lang door Japanse boeren opgemerkt door hun ongebreidelde groei. Het duurde tot 1954 voordat deze groeistimulerende stof geïdentificeerd werd als een verbinding met 19-20 koolstofatomen, verwant aan diterpenen. De plant bevat ook enzymen die gibberellinen kunnen omzetten. Dit hoeft geen inactivatie te betekenen omdat het nieuwe produkt vaak weer een gibberelline is. Binding van gibberelline aan andere celementen, wat al of geen inactivatie tot gevolg kan hebben, komt ook voor. Er zijn geen aanwijzingen voor polair transport van de gibberellinen.

De jongste loot van de familie der fytohormonen vormen de cytokininen. Deze en andere stoffen, zoals zeatine, die de celdeling stimuleren, worden vooral in de plantewortel geproduceerd. Mogelijke polariteit van het transport wordt nog onderzocht.

Werking van hormonen

Aanvankelijk veronderstelde men een bijdrage van het hormoon bij enzymreacties als co-enzym of noodzakelijk brokstuk van een enzym-molekuul (Stegwee, in: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966). Later bleken hormonen dragers van informatie te zijn (zie het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten; p. 208); deze informatie kan overgedragen worden aan de voor het hormoon specifieke cellen,

doordat het hormoon kleine veranderingen in bepaalde molekulen in de plasmamembraan aanbrengt. De uiteenlopende werkingen van hormonen mogen blijken uit de volgende voorbeelden.

Insuline

Insuline wordt in de pancreas geproduceerd in de β -cellen van de eilandjes van Langerhans. Een belangrijk effect van insuline is de stimulering van de opname van glucose uit het bloed door verschillende weefsels (o.a. vet- en spierweefsel). Het glucosegehalte in bloed wordt hierdoor verlaagd. Gebrek aan dit hormoon veroorzaakt suikerziekte. Na afgifte aan de bloedstroom bindt insuline zich aan bloedeiwitten die het hormoon kunnen beschermen tegen afbraak. Insuline activeert waarschijnlijk een transportmechanisme voor glucose dat met plasmamembranen van weefsels verbonden is. Het actieve transport heeft betrekking op de passage van glucose door de plasmamembraan van de betrokken cel en niet op de passage van glucose door de cellen van de wand van het bloedcapillair. Verondersteld wordt dat zich in de plasmamembraan een dragerstof bevindt waaraan glucose zich reversibel kan hechten. Binnen de cel gekomen wordt glucose onder invloed van het enzym hexokinase gefosforyleerd tot glucose-6-fosfaat, dat via verschillende biochemische cycli de cel ten dienste kan zijn.

Nog veel onderzoek is vereist om een goed beeld te krijgen over de werking van insuline, maar er zijn duidelijke aanwijzingen dat, bijvoorbeeld in de parenchymcellen van de lever, insuline en interactie kan aangaan met een receptor op de buitenkant van de plasmamembraan. Een hechtere binding aan de receptor gaat gepaard met een efficiëntere werking van het insuline. Misschien beïnvloedt insuline het aan de membraan gebonden adenylaatscyclase, waarover in de volgende paragraaf meer gezegd zal worden.

Glucagon

Behalve insuline wordt ook glucagon in specifieke cellen (de α -cellen) van de eilandjes van Langerhans geproduceerd. Glucagon is een antagonist van insuline en verhoogt het glucosegehalte in het bloed. Evenals insuline wordt glucagon via de bloedstroom naar zijn doelwitcellen vervoerd. Membranen van levercellen worden door glucagon geactiveerd, waarna het glycogeen, dat in de levercellen opgeslagen ligt, tot

glucose afgebroken wordt. Via het bloed komt de vrijgekomen glucose op die plaatsen in het lichaam, waar een tekort aan energie ontstaan is. Voor de mobilisatie van glucose wordt verwezen naar de volgende paragraaf.

Vasopressine

Vasopressine, belangrijk als regulator bij de waterhuishouding, activeert o.a. plasmamembranen van de cellen van de niertubuli. Waarschijnlijk stimuleert dit hormoon het aan de membraan gebonden adenylaatsynthetase.

Groeihormoon

Wanneer dit hormoon in overmaat geproduceerd wordt, veroorzaakt het een overmatige groei van verschillende weefsels, zoals van beenweefsel. Ratten, geïnjecteerd met groeihormonen kunnen in grootte verdubbelen. Gebrek aan dit hormoon resulteert in dwerggroei. Bevordering van groei onder invloed van het groeihormoon houdt waarschijnlijk verband met een toegenomen eiwitsynthese aan de ribosomen. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt doordat mRNA zich in aanwezigheid van groeihormonen gemakkelijker aan de ribosomen hecht. Daarnaast stimuleert het groeihormoon ook de RNA-synthese en de celdeling.

Hoe belangrijk een goede regeling van het suikerverbruik is voor het lichaam blijkt wel uit het feit dat ook het groeihormoon de suikerspiegel beïnvloedt. Evenals glucagon verhoogt het groeihormoon de glucose-concentratie in het bloed. Ook heeft toediening van dit hormoon prompte vetmobilisatie tot gevolg, waardoor de concentratie van vrije vetzuren in het bloed toeneemt. Bij de stimulatie van deze vetmobilisatie is het adenylaatsynthetase betrokken.

Het is duidelijk dat al de verschillende werkingen die bepaalde hormonen kunnen hebben het endocrinologisch onderzoek aanzienlijk bemoeilijken.

Steroidhormonen

Lange tijd heeft men gedacht ook het aangrijpingspunt voor de werking van steroidhormonen, waartoe de geslachtshormonen behoren, bij de

plasmamembraan of enzymsystemen te moeten zoeken. Pas in de zestiger jaren werd ontdekt dat het aangrijpingspunt van deze hormonen in de eerste plaats bij de genen gezocht moest worden. Zij stimuleren via de genen de aanmaak van enzymen. Hierin onderscheiden de steroïdhormonen zich van de hormonen die het adenylaatcyclase in de plasmamembraan activeren daar deze laatste hormonen voornamelijk de activiteit van enzymen beïnvloeden.

Cortison bijvoorbeeld (fig. 1), een steroïdhormoon dat in de cortex van de bijnier geproduceerd wordt, beïnvloedt het DNA-eiwitcomplex (chromatine) in de celkern. Sommige cytoplasmatische eiwitten zijn waarschijnlijk de receptoren voor de steroïdhormonen en vormen daarmee een complex dat, na de kern binnengedrongen te zijn, zich specifiek aan het chromatine bindt en de genexpressie beïnvloedt. Verder heeft cortison, evenals insuline, glucagon, adrenaline en het groeihormoon, een regulerende werking op het glucosegehalte in het bloed. Er zijn aanwijzingen dat andere hormonen, zoals het groeihormoon, insuline en adrenaline, naast andere wegen, ook via de genen de processen in de cel kunnen beïnvloeden.

Fytohormonen

Aanvankelijk werd verondersteld dat ook fytohormonen de transcriptie en/of translatie van genetische informatie zouden reguleren. Toen auxinen bijzonder snel bleken te werken, was men meer geneigd om in auxinen regulatoren van bepaalde membraaneigenschappen te zien. Geïsoleerde fracties van plasmamembranen van hypocotylen van sojabonen bleken na toevoeging van auxinen een stof af te scheiden die het bij de transcriptie betrokken RNA-polymerase activeerde. Andere onderzoeken toonden aan dat auxine zich bindt aan een eiwit in het plasma van de kern en dat het auxine-eiwit-complex de aanmaak van RNA stimuleert. Deze resultaten laten de vraag open, of auxinen direct op het RNA-polymerase en dus op de transcriptie van RNA inwerken, of dit via een membraan bewerkstelligen.

Cyclisch AMP als schakel

Bij de werking van hormonen bleek vaak het enzym adenylaatcyclase betrokken te zijn. Adenylaatcyclase katalyseert de omzetting van ATP tot cyclisch AMP (fig. 2). Cyclisch AMP is een klein, hittebestendig

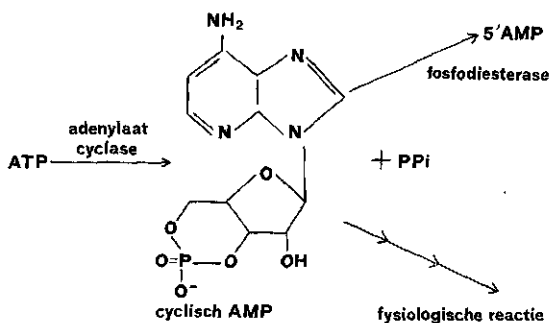


Fig. 2. Aanmaak en afbraak van cAMP.

molekuul, dat een sleutelpositie inneemt bij de regulatie van de snelheid van verschillende chemische processen in dier, plant en bacterie.

Ongeveer 15 jaar geleden isoleerden Sutherland en Rall het adenosine 3',5'-monofosfaat of cyclisch AMP, kortweg cAMP. De late ontdekking van deze voor de regulering van enzymatische processen zo belangrijke stof was gedeeltelijk te wijten aan de lage concentratie waarin cAMP in weefsels voorkomt. Op elke miljoen watermolekulen in de cel komt slechts één molekuul cAMP voor; de concentratie van het verwante ATP is 1000 maal hoger.

Sutherland en zijn medewerkers ontdekten het bestaan van dit cyclisch nucleotide in de lever toen zij de verschillende stappen nagingen die betrokken zijn bij een verhoging van het glucosegehalte in het bloed na toediening van adrenaline. Het hormoon adrenaline, in de Amerikaanse literatuur beter bekend als epinefrine, is uit de bijnier afkomstig en kan o.a. de bloedvaten van bepaalde organen, zoals de hersenen en spieren, verwijden. Het adrenalinegehalte stijgt op momenten van (psychische) spanning, zoals bij plotselinge pijn of angst of tijdens een woedeaanval; op zulke momenten kan het van levensbelang zijn om snel te reageren. De energie voor deze reactie, die zowel een aanval als een vlucht kan inzetten, wordt door het na afbraak van glycogeen snel vrijgekomen glucose geleverd.

Adrenaline beïnvloedt alleen de eerste stap bij dit proces, namelijk de omzetting van glycogeen in glucose-1-fosfaat. Toen Sutherland en Rall adrenaline toevoegden aan een preparaat met gehomogeniseerde cellen in plaats van intacte levercellen, bleek de afbraak van glycogeen toch nog plaats te vinden. Alleen nadat door centrifugeren de celmem-

branen verwijderd waren, had het toegevoegde adrenaline geen uitwerking meer. Een met adrenaline geïncubeerd plasmamembraan-preparaat, waarvan de eiwitten door koken geïnactiveerd waren, bleek na toevoeging aan een membraan-vrij preparaat de afbraak van glyco-geen weer te stimuleren. Het activerend hittebestendig molecuul was cAMP. 'Cyclisch' (c) duidt hier op de atomen van de fosfaatgroep die een ring vormen met het derde en vijfde koolstofatoom van de ribose-groep (fig. 2). Deze ring onderscheidt het cAMP van verwante stoffen, zoals ATP (adenosine trifosfaat) en ADP (adenosine difosfaat) die van belang zijn voor de energielevering tijdens de stofwisseling. Toevallig was Lipkin, die onbekend was met het baanbrekend werk in Sutherland's laboratorium, er juist in geslaagd om cAMP synthetisch te maken. De natuurlijke activator bleek identiek te zijn met het synthetisch produkt. Van Lipkin's synthetisch cAMP werd dankbaar gebruik gemaakt om de werking van dit cyclisch nucleotide na te gaan.

Het cAMP werd in alle onderzochte organismen, van bacterie tot de mens, gevonden en was in bijna elk weefsel aanwezig. Weldra bleek dat niet alleen toevoeging van het hormoon adrenaline een toename van het cAMP tot gevolg had, maar dat verschillende andere hormonen, zoals het glucagon, ook het cAMP-gehalte in de lever en in andere organen verhoogden (zie het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten; p. 208). Het cAMP bleek in vele gevallen hetzelfde effect te hebben als zou worden waargenomen na toevoeging van het hormoon. Het cAMP werd gevormd uit het verwante ATP. Deze reactie wordt gekatalyseerd door het aan de plasmamembraan gebonden adenylaatcyclase (fig. 2). Met deze gegevens in de hand stelde Sutherland's groep de volgende hypothese op over het cAMP als tweede boodschapper. Verondersteld werd dat het hormoon, dat in de bloedstroom is opgenomen, fungeert als eerste boodschapper. Het activeert adenylaatcyclase dat aan de plasmamembraan gebonden is. Dit enzym activeert op zijn beurt binnen de cel de omzetting van ATP in cAMP. Het cAMP is de tweede boodschapper die een schakel vormt in een keten van moleculaire reacties waarvan de verschillende stappen nog ontrafeld moeten worden. Het eindresultaat van een dergelijk molecuair gebeuren, zoals de opbouw van een eiwit, een toegenomen permeabiliteit of de produktie van een ander hormoon is afhankelijk van het hormoon dat deze reactieketen aan de gang zet, en van het soort cel dat gestimuleerd wordt.

Toch zijn er nog verschillende vraagtekens die we in dit eenvoudige schema kunnen plaatsen.

Hoe vindt de overdracht van de boodschap van het hormoon aan de celmembraan plaats?

Verondersteld wordt dat het enzym adenylaatcyclase uit twee delen bestaat: een regulerend deel aan de buitenkant van de plasmamembraan en een katalyserend deel aan de binnenkant. De receptorplaats voor het cAMP, die kan verschillen voor verschillende hormonen, zou deel uitmaken van het regulerende deel van het enzym. Een hormoon bindt zich aan deze receptorplaats, waarna een verandering in het katalytische gedeelte van het enzym zou optreden die het enzym in staat stelt om de omzetting van ATP in cAMP te katalyseren. De informatieprikkel, ingeleid door contact van het hormoon met de receptorplaats, wordt door dit mechanisme aanzienlijk versterkt. De concentratie van deze tweede boodschapper kan namelijk een factor hoger worden dan die van het inducerende hormoon. Het katalytisch deel van het enzymmolekuul is waarschijnlijk voor alle weefsels hetzelfde.

Hoe oefent cAMP zijn tweede boodschapperfunctie uit?

Over dit probleem is in de laatste jaren veel onderzoek verricht. Greengard toonde aan dat de 3'-binding van de fosfaatgroep met de ribose een hoeveelheid energie bevat die vergelijkbaar is met de hoeveelheid energie die vastgelegd is tussen de twee buitenste fosfaatgroepen van ATP. Het is mogelijk dat dank zij de opslag van zoveel energie in de fosfaatgroep cAMP gedurende de evolutie een belangrijke rol gespeeld heeft bij processen die de stofwisseling regelen. Waarschijnlijk is deze energie van belang bij de binding van cAMP aan zijn receptormolekulen. Enzymen van het eiwitkinasetype blijken in veel gevallen deze receptorfunctie te vervullen. Eiwitkinasen kunnen de omzetting van de inactieve vorm van bepaalde enzymen in hun actieve vorm katalyseren. ATP is hierbij de donor van een energierijke fosfaatgroep. Zowel in spierweefsel, in lever als in hersenen zijn namelijk eiwitkinasen gevonden die voor hun werking van cAMP afhankelijk zijn. Evenals het adenylaatcyclase bestaan eiwitkinasen waarschijnlijk uit twee componenten: een regulerend en een katalytisch deel. Het cAMP bindt zich aan het regulerend deel en verandert het eiwit zodanig dat het actief wordt.

De volgende stap is, het substraat voor de verschillende cAMP-afhankelijke eiwitkinasen in weefsels te identificeren. Een klassiek

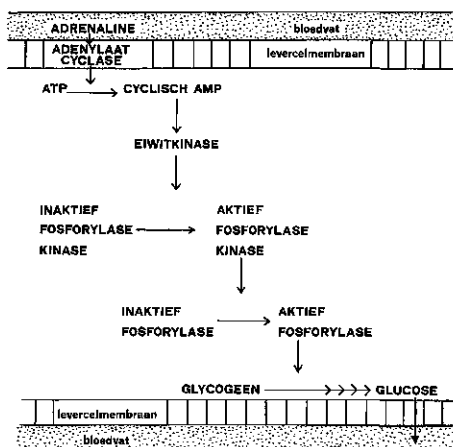


Fig. 3. Rol van cAMP bij de afgifte van glucose aan bloedvaten door de glycogeenbevattende cellen in de lever.

voorbeeld is de cAMP-afhankelijke eiwitkinase in de lever, die het inactieve fosforylase-kinase in zijn actieve vorm omzet (fig. 3). De gevormde actieve fosforylase-kinase activeert op zijn beurt de omzetting van de inactieve fosforylase b tot de actieve fosforylase a, welk enzym bijdraagt aan de afbraak van glycogeen tot glucose. Al deze verschillende stappen laten een fijnere regulatie toe dan wanneer dit hele proces tot één reactie gecomprimeerd zou zijn.

Het cAMP is niet alleen betrokken bij de afbraak van glycogeen tot glucose, maar het remt gelijktijdig de aanmaak van glycogeen door een omzetting van het actieve glycogeen synthetase in een inactieve vorm. Hierdoor wordt de glycogeenproductie geremd en komt meer ATP voor een snelle glucoseproductie vrij.

Andere processen waarbij cAMP betrokken is en waar naar het werkingsmechanisme gezocht wordt, zijn:

- de afbraak van vet tot vetzuren in de vetcellen,
- glycogenolyse (afbraak van glycogeen) in de spier,
- calciumresorptie in been,
- contractiliteit van het hart,
- waterreabsorptie en fosfaatexcretie in de nier,
- kleursverandering in de huid,
- progesteronafscheiding door het ovarium,

- prikkeloverdracht in het zenuwstelsel,
- veranderingen in tumorcellen (zie het hoofdstuk van De Man: p.99) en
- secretie (zie het hoofdstuk van Kramer).

Wat reguleert de regulator?

Voor een harmonisch samenspel van de verschillende processen die zich onder invloed van cAMP in de cel afspelen is een goede regulatie van het cAMP-gehalte vereist. De concentratie van cAMP die nodig is voor het goed uitvoeren van zijn schakelfunctie in de cel of een bepaald compartiment van de cel, wordt gewaarborgd door de volgende processen.

- De toename van cAMP in de cel hangt af van de werking van adenylaacyclase dat op zijn beurt gestimuleerd moet worden door hormonen.
- Er zijn echter ook processen waardoor de cAMP-concentratie verlaagd kan worden. Het enzym fosfodiesterase breekt snel het overtollig cAMP af tot het inactieve 5'-AMP door de 3'-binding tussen fosfaat en ribose te hydrolyseren (fig. 2). Waarschijnlijk inactieveert meer dan één fosfodiesterase het cAMP in elke cel. De activiteit van dit inactiverings-enzym zelf verandert naar gelang de hoeveelheid cAMP die geïnactiveerd moet worden. Op zijn beurt kan fosfodiesterase weer geremd worden door methylxanthines zoals theofylline, een bestanddeel van thee, en door coffeine. Uit recent onderzoek blijkt dat er ook natuurlijke remmers voorkomen, die echter nog op identificatie wachten.
- Een teveel aan intracellulair cAMP kan door diffusie of actief transport naar buiten geloosd worden, via de plasmamembraan. Relatief grote hoeveelheden cAMP worden zo door de secretiserende cellen in nieren en melkklieren geloosd. Ongeveer de helft van het cAMP in urine is in de glomeruli uit het bloedplasma gefiltreerd en de rest is uit nierweefsel afkomstig. Alleen bij de Acrasieae of cellulaire slijmschimmels is voor het cAMP een functie buiten de cel aangetoond (zie de laatste paragraaf van dit hoofdstuk).
- Zoals we hierboven al gezien hebben, wordt cAMP binnen de cel veelal aan eiwitkinasen gebonden. Dat één klein schakelmolekuul bij zoveel verschillende processen betrokken kan zijn, hangt waarschijnlijk samen met de specifieke enzymen die in een cel aanwezig zijn of het enzymatisch profiel van een cel dat van cel tot cel kan verschillen.

Wat is de functie van cAMP in organismen die geen hormonen hebben?

De enzymactiviteit in bacteriën is o.a. afhankelijk van de voedingsstoffen die ze tot hun beschikking hebben. Wanneer een bepaalde voedingsstof als koolstof- en energiebron aanwezig is, dan wordt alleen de aanmaak van die enzymen gestimuleerd die bijdragen aan de afbraak van deze voedingsstof. In geval dat aan een bacteriëncultuur alleen lactose als energiebron toegevoegd wordt, neemt de aanmaak van het enzym β -galactosidase, dat lactose in galactose en glucose splitst, aanzienlijk toe. Recent onderzoek heeft echter aangetoond, dat het substraat alléén niet voldoende is om de synthese van bepaalde enzymen te activeren. Ook het cAMP is hierbij een onmisbare component.

Bacteriën die op lactose en glucose groeien, maken veel minder β -galactosidase aan dan bacteriën die alleen op lactose groeien. Ook andere koolhydraten kunnen enzymen represseren (onderdrukken). Daar een dergelijke repressie veroorzaakt wordt door katabolieten noemt men het wel een kataboliet-repressie. *Escherichia coli*, een bacterie die algemeen in onze darmflora voorkomt, is tijdens zijn groei in een glucosemedium gerepresseerd en produceert weinig cAMP. Zodra de glucose verbruikt is, stijgt het gehalte aan cAMP in het medium aanzienlijk. Bovendien blijken dan behalve het adenylaatcyclase ook andere enzymen gederepresseerd te worden.

Pastan en Perlman vermoedden dat cAMP betrokken was bij het deblokken van de genen die noodzakelijk zijn om de gerepresseerde enzymen weer aan te maken. Ook bij deze micro-organismen bleek de eerste stap een binding van cAMP aan een eiwit te zijn. Waarschijnlijk bindt het door cAMP geactiveerde eiwit zich in het gen aan het DNA. Zoals bekend, wordt de genetische informatie aan het gen gecopieerd (transcriptie). RNA transporteert de gecopieerde genetische informatie naar de ribosomen. De ribosomen fungeren als assemblage-plaatsen waar de eiwitten opgebouwd worden uit hun bouwstenen, de aminozuren (zie Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966, en het hoofdstuk van Bootsma). Er zijn aanwijzingen dat voor het kopiëren van genetische informatie die nodig is voor de enzymatische splitsing van lactose, cAMP op de hiervoor geschetste wijze betrokken is. De werking van cAMP vertoont hierbij enige overeenkomst met die van de steroïdhormonen (zie p. 204). Hiermee is echter het vraagstuk van de activatie van genen in bacteriën nog geenszins opgelost. Slechts ongeveer 1% van de 10.000 genen die in een *Ecoli*-bacterie voorkomen,

worden gereguleerd door cAMP.

Hoe de andere genen aangezet worden om genetische informatie aan de ribosomen door te geven, is nog een raadsel. Ook weten we nog niet of bepaalde genetische informatie bij hogere organismen via cAMP gederepresseerd wordt. Het aanpassingsvermogen van een *E. coli*-cel hebben Pastan en Perlman aangetoond in een mutant die geen cAMP aanmaakt, maar toch, klaarblijkelijk via andere wegen, zich kan handhaven en vermenigvuldigen.

Een aanwijzing dat cAMP bij bacteriën behalve op gen-niveau ook elders in de cel een functie kan hebben, blijkt uit de invloed van deze stof op de vorming van flagellen en de daardoor resulterende celbeweging.

Is de 'tweede boodschapper hypothese' ook van toepassing op planten?

Er zijn aanwijzingen dat cAMP ook bij planten voorkomt maar welke rol het daar speelt is nog grotendeels onbekend.

Aanvankelijk werd verondersteld dat cytokinen de celdeling reguleren door speciale tRNA's te modificeren. Uit isotopen-proeven bleek dat cytokinine zo weinig effect op het tRNA had, dat het ofwel het tRNA helemaal niet beïnvloedt, of slechts een kleine selecte groep van tRNA-molekulen. Wood en Braun vonden dat 8-bromo-adenosine 3',5'-monofosfaat, een derivaat van cAMP, het cytokinine volledig kon vervangen bij de groei van tabakscallusweefsel. Het cAMP bleek een minder goede vervanger van cytokinine, wat vermoedelijk veroorzaakt wordt door het feit, dat het gemakkelijk door de fosfodiesterasen van de plant afgebroken wordt.

Andere onderzoekers vonden dat onder invloed van cytokinine de eiwitfosforylatie in plantenweefsels en in extracten hiervan verhoogd of geremd kan worden. De eiwitkinaseactiviteit van gezuiverde ribosomen wordt ook door cytokinen geremd. Nu het schijnt dat cAMP en cytokinen dezelfde regulerende effecten kunnen hebben, ligt het voor de hand om naar een verband tussen deze twee regulatoren te zoeken.

Bij gibberelline-geïnduceerde synthese van α -amylase in aleuronlagen van graanvruchten zijn aanwijzingen gevonden dat cAMP als tweede boodschapper fungeert. Recent onderzoek doet echter enige twijfel hierover ontstaan.

Is cAMP van belang bij medisch onderzoek?

Daar cAMP een sleutelpositie inneemt bij endocrinologische en verschillende andere levensprocessen, ligt het voor de hand dat een afwijkende produktie of werking van cAMP het goed functioneren van een organisme bemoeilijkt. Daar het onderzoek van cAMP betrekkelijk kort geleden gestart is, begint pas de laatste jaren het belang van cAMP voor het medisch onderzoek duidelijk te worden. Het is bijvoorbeeld aangetoond dat gif dat afgescheiden wordt door cholerabacteriën, darmcellen stimuleert tot een overproduktie van cAMP. Hierdoor worden deze cellen tot het afscheiden van enorme hoeveelheden zout en water aangezet. Dit kan tot fatale dehydratie van het organisme leiden.

Bepaalde afwijkingen die veroorzaakt zijn door het niet goed functioneren van de schildklier of andere klieren gaan samen met een abnormale produktie van cAMP.

In tumorcellen die afkomstig zijn van embryonaal bindweefsel is een deficiëntie van cAMP gevonden. Wanneer dergelijke cellen als celcultures gekweekt worden, vertonen ze een snellere groei en hechten zich slechter aan een substraat, waarschijnlijk doordat bepaalde grote molekulen, zoals mucopolysacchariden, langzamer gesynthetiseerd worden dan in normale gezonde cellen. Na toevoeging van cAMP verdwijnen deze karakteristieke eigenschappen van tumorcellen. Het afgenomen cAMP-gehalte was geen gevolg van de waargenomen veranderingen in de tumorcellen, maar ging daaraan vooraf. Meer onderzoek is nodig om vast te stellen of het gereduceerde cAMP-gehalte betrokken is bij het ontstaan van tumorcellen (zie het hoofdstuk van De Man: p. 99).

Wegens het belang van cAMP bij o.a. de glycogeen- en vetstofwisseling en bij de prikkeloverdracht in het zenuwstelsel mogen we wel aannemen dat bepaalde ziekten uiteindelijk hun verklaring zullen vinden in een afwijking van het cAMP-regelingsmechanisme.

Cyclisch AMP als 'hormoon'

Organismen waarbij cAMP een belangrijke rol speelt bij chemotaxis en morfogenese zijn de Acrasieae. De Acrasieae, ook wel cellulaire slijmschimmels genoemd, komen vrij algemeen in de grond voor en leven daar van bacteriën. Zij beginnen hun levenscyclus als vrijlevende amoeben. De amoeben delen zich gemiddeld om de drie uur en ver-

orberen gedurende deze tijd ongeveer duizend bacteriën. Daar bacteriën twintig minuten nodig hebben om zich te delen is de voedselbron voor de amoeben vrij snel uitgeput. Vele grondamoeben omgeven zich bij voedselschaarste met een stevig wandje en wachten op betere tijden. Hongerende amoeben van de Acrasieae daarentegen scheiden een stof af, waarmee ze naburige amoeben aantrekken. Eerst ontstaan kleine klompjes cellen. Wanneer de aggregatie in omvang toeneemt en de aangetrokken cellen grotere afstanden moeten afleggen, vormen amoeben ketens die radiaal samenkomen als spaken van een wiel met als as het oorspronkelijk gevormde groepje amoeben (fig. 4). Deze gecoördineerde amoeböide bewegingen, waar per aggregaat soms meer dan 100.000 cellen bij betrokken zijn, doen ons denken aan de massale celbewegingen zoals die waargenomen zijn gedurende de vroege ontwikkeling van embryo's. Tenslotte hopen alle amoeben zich in de as op en vormen een conus die tegen het eind van deze aggregatie omvalt en als een slakvormig organisme of pseudoplasmodium over de bodem kruipt. De cellen smelten niet samen zoals het geval is in een plasmodium van de echte slijmzwammen. Na celaggregatie blijven de amoeben van elkaar gescheiden door hun celwanden en vormen dus een pseudoplasmodium; een slakvormig lichaamje van enkele millimeters lengte.

Tegen het eind van de migratieperiode rondt het pseudoplasmodium

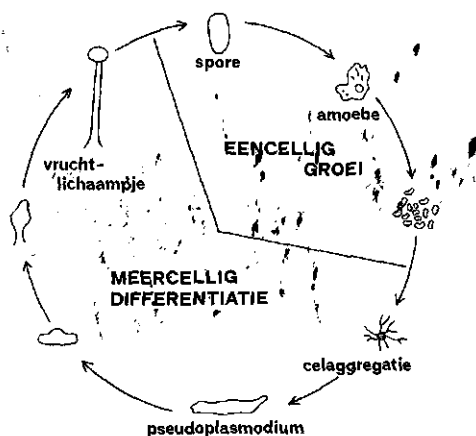


Fig. 4. Levenscyclus van *Dictyostelium discoideum*.

zich af. De cellen die eerst in de top van het pseudoplasmodium lagen, begeven zich naar het midden. Daar banen ze zich een weg door het centrum van het pseudoplasmodium en vormen, na de bodem bereikt te hebben, de eerste steelcellen. De kernen van de amoeben die voorbestemd zijn om steelcellen te vormen, desintegreren. Hun celvacuolen nemen enorm in omvang toe. Door een opwaartse kracht, waarschijnlijk veroorzaakt door de in grootte zo toegenomen steelcellen, worden de toekomstige sporen en de overige potentiële steelcellen opgetild (fig. 4). Rondom de steel scheiden cellen, die voorbestemd zijn om deel van de steel uit te maken, een cellulose bevattende slijmschede af. De toekomstige steelcellen worden over de rand van deze schede gedrukt en sterven af binnen het omhulsel dat ze zelf opgebouwd hebben. Nadat de enkele millimeters lange steel gevormd is, omgeven de overige cellen zich met ellipsvormige cellulose-wanden en vormen de sporen. Het aldus voltooide vruchtlichaampje heeft het uiterlijk van een eenvoudige schimmel. De sporen kunnen in een gunstige omgeving ontkiemen. Na het openbreken van de sporewand laat de amoebe het spore-omhulsel achter en begint zich weer te voeden met bacteriën. De gehele cyclus duurt niet langer dan twee of drie dagen.

Omdat deze eenvoudige micro-organismen zowel in het planten- als in het dierenrijk gerangschikt kunnen worden, vormen ze voor systematici een moeilijk te plaatsen groep. Verder overbruggen de Acrasieae de één- en meercellige organismen. Of zij in de evolutie van planten en dieren een rol gespeeld hebben, moet betwijfeld worden. Hun verregaande specialisatie tijdens de vorming van een vruchtlichaampje plaatste deze organismen waarschijnlijk op een dood spoor. Alleen in het eencellig-stadium wordt voedsel opgenomen en neemt de amoebenpopulatie in aantal toe. Deze organismen zijn voor biochemisch onderzoek naar differentiatie interessant omdat de eencellige groeifase duidelijk van de meercellige differentiatiefase gescheiden is.

Overgang van het eencellig naar het meercellig stadium, de celaggregatie, heeft tot nu toe de meeste aandacht getrokken en zal nu meer gedetailleerd worden beschreven.

De cellulaire slijmschimmels zijn bij uitstek geschikt om het proces van celaggregatie te onderzoeken. In het begin van deze eeuw werd al verondersteld dat celaggregatie veroorzaakt wordt door chemotaxis. Het duurde tot 1942 voordat Runyon met een eenvoudig cellofaan-membraanproefje aantoonde dat chemotaxis de drijfveer is voor celaggregatie. Hij plaatste amoeben aan weerszijden van de membraan.

De amoeben die het eerst aggregaerden induceerden bij hun tegenliggers hetzelfde aggregatiepatroon.

Dank zij werk van Shaffer in de vijftiger jaren weten we dat bij de aantrekking tenminste twee stoffen werkzaam zijn: een thermostabiel molecuul van geringe afmetingen en een thermolabiel molecuul dat waarschijnlijk een enzym is. Het chemotactisch actieve kleine molecuul wordt door het enzym geïnactiveerd, waardoor een groter concentratieverval van de aantrekkende stof kan ontstaan. De amoeben reageren op dit verschil in concentratie en kruipen naar plaatsen met een hogere concentratie ofwel naar de bron die de aantrekkende stof afscheidt.

Voor het isoleren, zuiveren en identificeren van de door amoeben afgescheiden aantrekkende stof was een kwantitatieve test voor het aantonen van deze stof noodzakelijk. Bij deze test wordt een druppel amoebensuspensie op een hydrofoob agaroppervlak gedeponeerd. Een dergelijk waterafstotend agaroppervlak wordt verkregen door agar vóór het oplossen met gedeïoniseerd water te wassen. Op een hydrofoob agaroppervlak van een bepaalde stijfheid blijven alle amoeben binnen de rand van de druppel, tenzij ze aangetrokken worden door amoeben die in een naburige druppel aggregeren (fig. 5). Amoeben trekken niet alleen elkaar aan gedurende de celaggregatie maar worden ook door hun voedselbron, de bacteriën, aangetrokken. In plaats van een amoebenaggregaat kunnen daarom ook bacteriën als bron van aantrekking gebruikt worden. Door waterextracten van bacteriën met verschillende biochemische technieken te zuiveren, konden we de aantrekkende stof voor amoeben als adenosine 3',5'-monofosfaat of cAMP identificeren (fig. 2).

Amoeben zijn bijzonder gevoelig voor het cAMP als chemotactisch signaal. Een hoeveelheid van 10^{-12} g cAMP geeft al een positieve reactie. Wanneer 10^{-12} g opgelost in water, op een afstand van 0,3 mm van de amoebendruppel geënt wordt, zullen verreweg de meeste molekulen naar alle kanten, ook in de agar, diffunderen zodat niet meer dan enkele duizenden molekulen een amoebe bereiken. Het is, zelfs bij benadering, niet bekend hoeveel van deze molekulen al afgebroken zijn door het door de cellen afgescheiden enzym fosfodiesterase, voordat ze de amoeben bereiken. De hoeveelheid cAMP die een amoebe kan activeren tot een gerichte beweging moet daarom wel bijzonder gering zijn. Nadat de chemotactische activiteit van het cAMP dat geïsoleerd was uit bacteriën was aangetoond, moest nog de afscheiding van dit cyclisch nucleotide door amoeben aangetoond worden. Alle onderzochte soor-

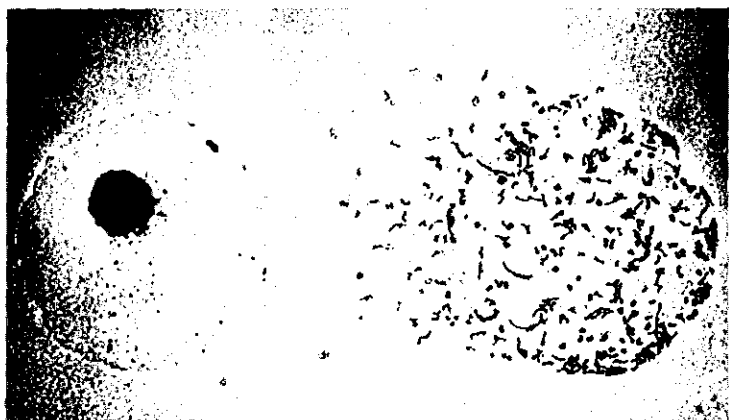


Fig. 5. Chemotaxis bij *Dictyostelium discoideum*. De celaggregatie in de linkerdruppel trekt de amoeben uit de rechterdruppel chemotactisch aan. Vergroting 60 $\times$.

ten van de Acrasieae bleken cAMP af te scheiden, terwijl merkwaardigerwijs maar enkele soorten door deze verbinding worden agetrokken.

Het isoleren van cAMP wordt aanzienlijk bemoeilijkt doordat de amoeben zelf fosfodiesterase produceren. De gevoeligheid van de amoeben voor cAMP hangt van hun ontwikkelingsstadium af. Hongerende amoeben van het soort *Dictyostelium discoideum* zijn honderd maal zo gevoelig voor cAMP als vegetatieve amoeben. De toenemende gevoeligheid voor het chemotactisch signaal gaat gepaard met een verhoogde adhesie tussen de amoeben onderling. De produktie van cAMP is bij hongerende amoeben ook met een factor honderd toegenomen. Het aantrekkingsmechanisme werkt gedurende de aggregatie dus minstens 10.000 maal zo effectief als in het vegetatieve stadium. De toegenomen afgifte van cAMP tijdens het hongerstadium heeft *Dictyostelium* met verschillende andere organismen gemeen: bacteriën produceren aanzienlijk meer cAMP wanneer de glucose in de voedingsoplossing verbruikt is (zie p. 211), en bij hogere organismen heeft een gebrek aan glucose een activatie van het adenylaatcyclase door glucagon ten gevolge. Dank zij de hogere cAMP-concentratie neemt ook het glucosegehalte in het bloed toe (zie p. 203).

Dat aantrekking van amoeben gecompliceerder is dan hiervoor is

weergegeven, hebben Gerisch en zijn medewerkers aangetoond. Zij vonden dat amoeben, die geen voedsel tot hun beschikking hebben, een remmer afscheiden voor het enzym fosfodiesterase, waardoor er tijdens de celaggregatie minder cAMP afgebroken wordt en meer beschikbaar komt als aantrekkende stof.

We zijn nu voor de opgave gesteld om het aantrekkingsmechanisme, gevolgd door een gerichte celbeweging, in moleculaire termen te vertalen. Hiervoor is de identificatie van het receptormolekuul voor cAMP op de plasmamembraan van de amoëbe noodzakelijk.

Evenals er weinig bekend is over het hormoonreceptor-mechanisme in de plasmamembraan van hogere organismen, weten we ook vrijwel niets over het cAMP-receptormechanisme in de amoëbenmembraan.

Door zijn extracellulair chemotactisch effect op amoëben mag men cAMP voor amoëben van *Dictyostelium* als eerste boodschapper beschouwen en het is dan vergelijkbaar met hormonen bij andere organismen.

Evenals het cAMP voor sommige soorten Acrasieae noodzakelijk is voor het morfogenetisch proces van de celaggregatie zijn verschillende hormonen van groot belang bij de morfogenese van andere organismen; enkele voorbeelden zijn het juvenielhormoon dat de verpopping van bepaalde insectenlarven kan blokkeren; ecdyson, dat de verpopping in dezelfde larven kan versnellen, en geslachtshormonen die voor bepaalde waterschimmels vereist zijn om tot bevruchting te komen.

Over de intracellulaire werking van cAMP bij de Acrasieae is vrijwel niets bekend. Naar analogie van de effecten van cAMP bij hogere organismen en bacteriën mogen we wel aannemen, dat cAMP ook bij de Acrasieae binnen de cel effectief is. Het feit dat bepaalde *Dictyostelium*-soorten cAMP afscheiden maar er niet door aangetrokken worden, wijst op mogelijke andere functies van cAMP dan die van een chemotactische stof. Bonner heeft aangetoond dat cAMP een rol zou kunnen spelen bij de verdere differentiatie van *Dictyostelium*, omdat een overmaat aan cAMP in een relatief groter aantal steelcellen kan resulteren. De veronderstelling dat cAMP de enige regulator voor een juiste verhouding tussen de steelcellen en sporen zou zijn, is waarschijnlijk te eenvoudig.

Een vierde functie van cAMP is die van padvinder voor amoëben naar hun voedselbron. Deze functie moet het misschien delen met folinezuur. Onlangs is een aantrekkend effect van deze verbinding voor vegetatieve amoëben van *Dictyostelium* gevonden. Deze stof komt,

evenals het cAMP, bij een grote verscheidenheid van organismen voor. Bij hogere organismen is het folinezuur bekend als een vitamine. Verder is de mogelijkheid niet uitgesloten dat de nog onbekende chemotactische stoffen voor amoeben die niet op cAMP reageren, ook functioneel zijn in andere organismen.

Besluit

Terugkerend tot de titel van dit hoofdstuk kunnen we stellen dat er overeenkomsten zijn tussen de chemotactische werking van cAMP bij de Acrasieae en de hormoonwerking bij hogere organismen. In beide gevallen wordt een boodschapper door bepaalde cellen extracellulair afgegeven, resulterend in een communicatie tussen cellen die ruimtelijk gescheiden zijn. Het cAMP en hormonen zijn in bijzonder lage concentratie werkzaam. Zowel voor cAMP als aantrekkende stof als voor verschillende hormonen zijn receptormechanismen in de plasmamembraan van voor de prikkel ontvankelijke cellen aanwezig. Wat hierna gebeurt, is een nog vrijwel onontgonnen terrein. Wel weten we dat juist het extracellulair actieve 'hormoon' voor amoeben een belangrijke intracellulaire schakel vormt bij de hogere organismen.

Celbiologie in het onderwijs

C. J. H. VAN DEN BROEK

Dit laatste hoofdstuk vloeit voort uit het verzoek, de didactische aspecten te bespreken van de vele nieuwe ontwikkelingen in de celbiologie, die in het voorafgaande werden belicht. Daarmee heeft deze bijdrage noodzakelijkerwijs een ander karakter dan de voorafgaande: terwijl deze alle een overzicht geven van recent wetenschappelijk onderzoek, moet de didact het vrijwel zonder zulk een wetenschappelijke fundering stellen. Experimenteel onderzoek over de didactiek van de biologie is er weinig, over die van de moderne celbiologie zijn mij geen experimenten bekend. Het volgende kan dan ook niet meer zijn dan een weergave van enkele gedachten en meningen, uitgekristalliseerd in de loop van bijna 20 jaar onderwijs aan 1e t/m 3e-jaars studenten geneeskunde en tandheelkunde en verscheidene jaren deelname aan eindexamens als deskundige respectievelijk gecommitteerde.

Wat, hoe en voor wie?

De voorafgaande hoofdstukken geven een uiterst boeiend beeld van de belangrijke ontwikkelingen die zich in onze tijd op vele terreinen van de celbiologie voltrekken. Het spreekt vanzelf, dat elke docent die geboeid is door de verdieping van ons begrip van fundamentele levensprocessen, die deze ontwikkeling heeft teweeggebracht, de drang voelt hiervan iets aan zijn leerlingen mee te geven. De vragen dienen dan te worden gesteld:

- Wat kunnen we hiervan overdragen?
- Wat is de beste manier om dit te doen?

Gaarne breng ik dank aan dr. J. P. D. W. Payens, secretaris van de Commissie Modernisering Leerplan Biologie en drs. H. J. Saaltink, docent in de didactiek van de biologie aan de Rijksuniversiteit te Utrecht, voor hun hulp bij de voorbereiding van deze bijdrage.

Deze vragen zijn ondergeschikt aan de prealabele vraag:

- Aan wie wordt het onderwijs gegeven?

Ter beantwoording van deze laatste vraag worden hier (ongetwijfeld met voorbijgaan van andere groeperingen) de volgende hoofdgroepen onderscheiden:

- 1 Voortgezet onderwijs: HAVO en MAVO
- 2 VWO: Voorbereidend wetenschappelijk onderwijs: Gymnasium en Atheneum
- 3 WO-1: Wetenschappelijk onderwijs van biologische vakken voor toepassing in de geneeskunde, tandheelkunde, diergeneeskunde, landbouwwetenschappen, biotechniek enz.
- 4 WO-2: Wetenschappelijk onderwijs in de biologie, gespecialiseerd in een celbiologische of moleculair-biologische richting.

Voor deze groepen is de celbiologie van verschillende betekenis: voor groep 4 zeer groot, voor groep 1 klein. Te stellen, dat 4 alles en 1 niets van celbiologie hoeft te weten is zeker te ongenueanceerd, maar geeft de mogelijkheid, de aandacht hier te beperken tot de groepen 2 en 3. Juist voor deze groepen doen zich de problemen van introductie tot en presentatie van de celbiologie duidelijk gevoelen, omdat de belangstelling van de leerlingen uit deze groepen niet primair op dit vak is gericht. Deze problemen worden nauwelijks gevoeld ten aanzien van groep 4, die zich uit eigen interesse tot de celbiologie richt. Voor zover het vak voor groep 1 van belang is, kan de didactiek ervan uit die voor groep 2 worden afgeleid.

We beperken ons dus tot de groepen 2 en 3. Voor beide geldt, dat de celbiologie inzichten kan aandragen van fundamenteel belang voor ons huidige begrip van levensverschijnselen; voor elk van beide groepen moet worden gezocht naar de mate van diepgang, waarmee op dit terrein begrip kan worden gekweekt en ook verlangd.

Dat 'begrip verlangd' dient nader te worden gepreciseerd. Afgezien van de intrinsieke waarde van de celbiologie als menselijk cultuurbezit, wordt deze hier voor groepen 2 en 3 gezien als een hulpvak, dat bijdraagt tot een beter begrijpen van processen, die de leerling in een eerder stadium van zijn leerproces in een oppervlakkiger, meer globale vorm heeft leren kennen. De celbiologie biedt steeds nadere detaillering en het bespreken van de didactische aspecten van de celbiologie komt in wezen neer op het bespreken van de vraag, hoe deze detaillering zó kan worden aangeboden, dat het geleerde deel gaat uitmaken van de denkwereld van de leerling, m.a.w. een geïntegreerd bestanddeel wordt

van de voorstellingswereld, waarmee de jonge mens de opleiding verlaat. Dit houdt méér in dan het aanbieden in begrijpelijke vorm: een handig docent kan zijn leerlingen ertoe brengen de meest buitenissige dingen te leren, maar als deze zaken niet in blijvende verbinding staan met de wereld waarin de leerling leeft, is het geleerde slechts een schijnweten en is het verwerven ervan een nodeloze belasting geweest.

Zoals gezegd beschikt de didactiek van de celbiologie niet over experimentele gegevens aangaande de wijze, waarop dit hoofddoel moet worden bereikt. Over de didactiek in het algemeen beschikt men langzamerhand echter over een rijke en ook op experimenteel onderzoek gefundeerde ervaring. Daarbij komt van verschillende kanten, o.a. van leerpsychologen als Ausubel (1963), de stelling naar voren, dat niets zodanig geleerd kan worden dat het een blijvend bezit is, als het niet kan worden aangehaakt aan iets dat reeds deel uitmaakt van de denkwereld van de leerling. Zo zegt Jerome Brumer (1960): 'Perhaps the most basic thing that can be said about human memory after a century of intensive research is, that unless detail is placed in a structural pattern it is rapidly forgotten.' – een 'structural pattern' welteverstaan, dat reeds het geestelijk bezit is van de onderwezene. Ook dit symposium is van deze gedachte uitgegaan: het werd immers ingezet door een kaarttekening (zie het hoofdstuk van De Voogd van der Straaten) die, aanhakend aan een bij sommige toehoorders misschien minder gedetailleerd weten, een structuurpatroon verschaft, waarin de volgende bijdragen konden worden geplaatst.

De celbiologie neemt een plaats in in een structuurpatroon, dat wordt gevormd door de rangorde van niveaus van biologische organisatie. Vrij naar de 'Biological science curriculum study' (Klinckmann, 1970) geef ik deze rangorde als volgt weer:

- 8 Totaliteit van het leven op aarde
- 7 Populaties
- 6 Organismen
- 5 Organen
- 4 Weefsels
- 3 Cellen
- 2 Celorganellen
- 1 Macromoleculaire systemen

De didactische presentatie van dit structuurpatroon kan in principe bij elk van deze niveaus aangrijpen. In sommige biologie-curricula van middelbare scholen wordt bij niveau 7 of 8 begonnen en van daaruit

naar de lagere niveaus afgedaald. In universitaire kringen is het van oudsher gebruikelijk, de voorstelling omtrent levensprocessen op te bouwen van eenvoudiger naar meer ingewikkelder organisatieniveaus, in de gepresenteerde schaal dus van beneden naar boven.

Voordat nader over de didactiek van de celbiologie, die zich voornamelijk afspeelt op het niveau van de celorganellen, kan worden gesproken, dient te worden gezien of (a) dit niveau al zodanig deel uitmaakt van de voorstellingswereld van de leerling, dat hier direct kan worden begonnen, of (b) het moet worden benaderd vanuit een ander niveau dat meer tot deze voorstellingswereld behoort. Ik acht veronderstelling (a) uiterst twijfelachtig en daarom een bezinning op (b) nodig. Ten aanzien van (b) meen ik, dat de situatie bij het VWO en het WO zoveel verschilt, dat van hieraf de beide groepen afzonderlijk moeten worden gezien.

Celbiologie in het VWO

Nòch het eindexamenprogramma VWO-HAVO-MAVO (1970), nòch de daarop gegeven interpretatie (1972) noemen de celbiologie als zodanig; aanduiding van onderwerpen op celbiologisch terrein zijn spaarzaam. Binnen het geheel van de biologie wordt de celbiologie blijkbaar als een nogal sterke detaillering gezien. Een detaillering uiteraard van het naasthogere niveau: de cel. De vraag moet dus worden gesteld of de cel – en dan een enigszins geäbstraheerd begrip van de cel, waarin een zekere verscheidenheid van functionele manifestaties is verwerkt – daartoe in voldoende mate deel uitmaakt van de voorstellingswereld van de leerling VWO.

De cel als uitgangspunt

Uit talloze eindexamens heb ik de indruk gekregen, dat het de kandidaten VWO algemeen bekend is dat hogere organismen uit cellen zijn opgebouwd. De vraag of dit een uit het hoofd geleerd feit is dan wel een zelf verworven ervaring, is soms moeilijk te beantwoorden. Bij velen geldt het laatste zeker voor de plantecellen. Met een eenvoudig practicum plantenanatonomie wordt bereikt, dat dit gegeven door eigen ontdekking wordt verworven. De plantecel is bovendien door zijn wand, vacuole en chlorofylkorrels duidelijk gestructureerd en geeft daarmee enkele aanknopingspunten voor processen die zich daarin afspelen;

plasmolyseproefjes geven dankbaar aanvaarde mogelijkheden voor demonstratie of – nog liever – zelf doen op een practicum.

Wordt op een examen gevraagd: 'Teken eens een cel', dan komt bijna zonder uitzondering de gestrekte, turgescente plantecel op papier: dit is het beeld dat de meeste leerlingen zich van de cel in het algemeen hebben gevormd. Zien wij dan echter naar hetgeen in dit symposium over de celbiologie is verteld, dan wordt het wel duidelijk dat dit beeld van de gespecialiseerde plantecel slechts voor betrekkelijk weinig van de besproken celbiologische processen een geschikt structuurpatroon kan leveren. Daarvoor zou nodig zijn een bekendheid met althans een aantal celtypen, waaruit een abstractie van 'de cel' in zijn algemeenheid kan worden afgeleid. Ik heb de indruk, dat de plantecel, juist door zijn bruikbaarheid voor sommige didactische doeleinden, het verweryen van zulk een algemeen celbeeld in de weg staat.

Zulk een meer algemeen celbeeld komt niet vanzelf: het maakt zeker geen deel uit van de dagelijkse werkelijkheid die de leerling omgeeft. Zulk een celbeeld moet daarom op zijn beurt worden geplaatst in een structuurpatroon, waarvan dit wel het geval is. Opnieuw is er dan de keuze uit de 8 niveaus, gegeven in de tweede paragraaf. Ik meen dat we dan met de lagere niveaus: celorganellen, macromoleculaire systemen of zelfs met moleculen in dit opzicht niet veel opschieten. Ook de hoogste niveaus acht ik als aangrijpingspunt minder geschikt: de totaliteit van het leven op aarde en populaties zijn voor de leerling eveneens abstracties waarbij hij zich weinig kan voorstellen.

Het niveau waarbij dit bij uitstek wel het geval is, is het organisme: vooral het eigen lichaam en zijn functioneren, het eigen welbevinden en ziekzijn, zijn zaken waarbij ieder zich direct betrokken zal voelen. Ik acht het dan ook uit didactische overwegingen voor leerlingen van een middelbare school de aangewezen weg, op dit niveau te beginnen, dan eerst de orgaansystemen en organen naar bouw en functie (voorlopig zonder veel detail) te leren kennen om tenslotte voor nadere uitleg de cel en zijn werkwijze daarbij te betrekken. Dit betekent, dat celbiologische zaken pas goed kunnen worden geplaatst, als de verbindingsdraad: organisme → orgaan → cel stevig wordt geknoopt.

Helaas geeft de wijze, waarop de cel geplaatst is in het overzicht van het Examenprogramma biologie MAVO-HAVO-VWO (1970) alsook in de Interpretatie daarvan (1972) weinig aansporing tot het volgen van deze didactische opzet. We lezen hier namelijk:

'B. Eenheid uit verscheidenheid.

1. Cel – weefsel – orgaan – organisme

2. (enz)'

Ik acht het denkbaar, dat hier de in universitaire kringen gebruikelijke opbouw te klakkeloos is overgenomen.

De verbinding organisme → orgaan → cel moet niet alleen worden gelegd, maar moet ook worden onderhouden. Het is niet voldoende, de cel éénmaal te introduceren om daarna, verheugd eindelijk bij het ware niveau te zijn aangeland, een groot deel van de biologie vanuit cel-niveau te behandelen. Biologieboeken die dit ook doen, zijn niet moeilijk te vinden. Het verbindingsdraadje is dan echter te dun en het breekt als er veel aan wordt opgehangen!

Een voorbeeld uit de eindexamenpraktijk op ander, maar aanverwant terrein: bij vragen over genetica komen prompt de zogenaamde schaakbordjes op papier en de examinandus weet aan de hand van deze abstracties eenvoudige genetische problemen zeer wel te lijf te gaan. Vraagt men dan echter, waarom zulk een schaakbord mag worden gehanteerd, dan is het opvallend, hoe vaak het antwoord daarop uitblijft. Met andere woorden, de brug tussen de abstractie en de werkelijkheid: het gebeuren bij meiose en mitose, het onafhankelijk van elkaar bewegen der chromosomen, de crossing-over, enz. is verloren gegaan, zodat de abstractie niet langer als verlengstuk van de werkelijkheid wordt ervaren. Het schaakbordje is dan een braaf uit het hoofd geleerd kunstje geworden en heeft daarmee zijn waarde als symbool voor de voorstellingswereld van de leerling verloren.

Men heeft tegengeworpen, dat toch ook de scheikunde zich voortdurend van symbolen bedient. Inderdaad, en dit is dan ook een goede illustratie van het voorafgaande: ook de scheikundedocent streeft er immers naar, door middel van demonstraties en practicum te bereiken, dat de chemische symbolen worden gezien als representanten van een waargenomen werkelijkheid. Chemie zal waar mogelijk gekoppeld worden aan het zien, voelen, ruiken of proeven van stoffen; waar het biologische omzettingen betreft, zal de leraar deze relateren aan processen die de leerling uit zijn dagelijkse belevingswereld bekend zijn.

Het gevaar, dat de abstractie van de werkelijkheid vervreemdt en een eigen leven gaat leiden wordt gelukkig terdege onderkend in kringen die zich met de vernieuwing van het biologie-onderwijs bezighouden. Uit de Syllabus bij de vijfde proeftoets biologie (1973) die handelt over de voortplanting, citeer ik:

'Bij de visuele presentatie in de stofuitwerking is van het volgende prin-

cipe uitgegaan. Zover dat mogelijk is, wordt telkens begonnen bij het concrete, complete met het blote oog waarneembare organisme en wordt van daaruit geleidelijk aan afgedaald naar (vaak slechts microscopisch waarneembare) onderdelen van die organismen, soms leidend tot abstracte modellen, zoals celdelingsschema's en voortplantingscycli.

Een waarschuwing is in dit verband mogelijk op zijn plaats. Sommige docenten, met name de pas afgestudeerden, behandelen deze stof vanaf het begin vaak op een zo abstract niveau, dat de leerling geen enkele relatie met de concrete werkelijkheid kan leggen. Men begint met chromosomen, genen, gameten, kruisingsschema's en haploïde fase, alsof de beginnende leerling daarbij werkelijk iets zou kunnen denken.

Door bij de hele mens en bij de hele bloem te beginnen ontloopt men dit gevaar. De sequentie, waarin de stof in de hiervolgende pagina's zowel visueel als verbaal is aangeboden wil dan ook een handreiking zijn om – welke bronnen men verder ook nog gebruikt – steeds het concrete volledige organisme uitgangspunt en punt van aankomst te laten zijn.

Uitgangspunt en punt van aankomst, onverschillig welk boek men gebruikt, niets garandeert zozeer het onderhouden van de band tussen de wereld van alledag en de zeer kleine dimensies, waarbinnen de verklaring van de levensprocessen wordt gezocht.

Enkele hoofdlijnen van de celbiologie

Gesteld nu, dat het door steeds opnieuw relateren van functies aan de anatomische en daarna aan de microscopische bouw van de betreffende organen lukt, de leerling duidelijk te maken dat we voor het begrijpen van de werkwijze moeten afdalen tot de cel en zijn verrichtingen, dan staan we voor de vraag, welke van de talrijke celstructuren en -functies kunnen worden besproken. De moderne celbiologie is zo uitgebreid, dat een keuze moet worden gedaan. Hierbij kan men zich laten leiden door de vragen:

- Welke celfuncties geven de beste illustratie van de eenheid die aan de basis van de biologische verscheidenheid ligt?
- Welke celfuncties zijn het meest relevant voor verschijnselen die de leerlingen uit hun dagelijkse omgevingswereld bekend zijn, maar daaruit niet begrepen worden?

– Hoeveel tijd neemt een en ander en hoe liggen de prioriteiten ten opzichte van andere vragen die door de biologie moeten worden beantwoord?

Als hoofdlijnen waaruit 'de eenheid uit verscheidenheid' tussen cellen het duidelijkst naar voren komt, zou ik de volgende willen noemen, enigszins analoog aan de opbouw van dit symposiumverslag:

- 1 functiecodering
- 2 compartimentalisatie
- 3 celcontact en -herkenning
- 4 energiehantering

Functiecodering Onder deze naam wil ik al datgene samenvatten dat samenhangt met de genetische code, zijn copiëring, distributie, vertaling in specifieke eiwitten, alsook de invloeden erop.

Het bieden van een geschikt structuurpatroon lijkt hier niet al te moeilijk: men kan beginnen met te demonstreren dat een weefsel uit vele cellen bestaat, langs deze weg of via het ontstaan van het organisme tot celvermenigvuldiging komen, dan de mitose grondig behandelen en daarmee de functie van de celkern illustreren; langs deze weg komt men op de chromosomen en DNA. Het lijkt me belangrijk hierbij de dimensies in de gaten te houden.

De mitose (zie het hoofdstuk van James) wordt uiteraard op alle scholen behandeld, maar lang niet altijd duidelijk op het eindexamen verteld. Een goed super-8 filmpje, waaraan het proces herhaaldelijk kan worden gezien, lijkt voor dit onderwerp welhaast onmisbaar. Een gebrekkig begrip van de mitose leidt tot verwarring wanneer het zoveel gecompliceerder proces van de meiose moet worden verwerkt. Ik heb de indruk, dat deze verwarring op zijn beurt oorzaak is, dat de celbiologische grondslagen, waarop de wetten van Mendel berusten, bij de genetica uit het gezicht worden verloren, zoals eerder werd gesignaleerd.

De bouw van de nucleïnezuuren wordt tegenwoordig in het VWO vrij algemeen besproken. Het lijkt mij zeer goed mogelijk de essentiële betekenis van de dubbele helix als code-drager en in zijn geschiktheid voor replicatie met behoud van deze code duidelijk te maken aan leerlingen, die de chemische samenstelling van pentosen en N-basen niet beheersen. Het leren van de namen adenine, cytosine, enz. acht ik daarbij niet essentieel. Wel essentieel lijkt mij, dat de leerling begrijpt, hoe het in principe mogelijk is, dat de genetische code wordt vertaald

in een eiwitstructuur. Dat hiertoe een boodschapper-RNA en ribosomen nodig zijn, zou voor deze leerlingen echter beschouwd kunnen worden als een nadere detaillering, die voorbehouden mag blijven aan degenen die zich voor het onderwerp bijzonder interesseren en het bijvoorbeeld als keuze-onderwerp bestuderen. Het onderscheid tussen membraangebonden en vrije ribosomen en de functie van het RER zouden dan eveneens onder deze verdere detaillering kunnen worden gerangschikt, tenzij men dit wil gebruiken om althans iets te vertellen over de compartimentalisatie van de cel (zie onder de volgende paragraaf). Een meer gedetailleerde behandeling van de transcriptie DNA-RNA en de translatie RNA-eiwit is te vinden in 'Ontwikkelingen in de moleculaire biologie' (1966).

Belangrijker dan deze detaillering lijkt mij, dat het op basis van het hierboven als essentieel gekenschetste duidelijk wordt, hoe afwijkingen in DNA afwijkingen in celfunctie ten gevolge hebben, m.a.w. dat het verband met de genetica zeer duidelijk wordt gelegd. Het voorkomen van 'inborn errors of metabolism' kan begrijpelijk worden gemaakt en het belang van 'genetic counseling' aangetoond. Misschien zou voor speciaal geïnteresseerden kunnen worden behandeld, hoe men tegenwoordig uit het onderzoek van heterokaryons (zie het hoofdstuk van Bootsma) zicht krijgt op het menselijk genoom en hoe virussen met de genetische code van de cel kunnen gaan meespelen met alle gevolgen van dien (zie het hoofdstuk van De Man).

Het spreekt vanzelf, dat men op deze laatste zaken in het VWO niet diep kan ingaan. Van wezenlijk belang lijkt mij echter, dat al datgene, wat hier onder de titel 'functiecodering' is samengevat *in zijn samenhang* wordt begrepen.

Compartimentalisatie Een van de meest universele inzichten, die zijn voortgekomen uit het elektronenmicroscopische onderzoek is, dat de cel aan zijn stofwisselingsprocessen richting geeft door bepaalde stoffen binnen compartimenten af te zonderen en ze zo als het ware veilig te stellen voor de baaiert van de cytoplasmatische matrix. Opvallend is de universaliteit van deze inrichting; het kan stoffen betreffen die de cel zelf maakt en dan binnen de cel transporteert en/of opslaat (endoplasmatisch reticulum, lysomen, secreetgranula), het kunnen van buiten opgenomen stoffen zijn (fagocytose- of pinocytose-vesikels) maar ook kan de cel delen van het eigen cytoplasma door een membraan omgeven en daarmee buiten gebruik stellen en afbreken (autofagosomen).

Hoewel nog lang niet volledig doorzien, is ons omtrent de sleutelpositie van het Golgi-apparaat in de laatste jaren veel duidelijk geworden. Voor veel van deze compartimentale systemen zie men de hoofdstukken van Kramer en Daems. Ook mitochondriën en chloroplasten hebben hun eigen membraanomhulling; de celkern is een geval apart.

Op didactisch gebied worden wij gesteld voor de vraag, of het in het middelbaar onderwijs mogelijk is, veel verder te gaan dan de constatering van de compartimentalisatie als universeel verschijnsel (althans bij eukaryocyten). Demonstratie ervan is mogelijk aan de hand van de vacuole van de plantecel, maar alweer is dan de brug tussen dit extreme geval en de vele slechts elektronenmicroscopisch zichtbare vormen van compartimenten in andere cellen moeilijk te slaan. Nog moeilijker zal het zijn, uit te leggen hoe dit systeem werkt: dan komt men namelijk terecht bij de eigenschappen van biologische membranen en het is een probleem, hoe diverse werkingmogelijkheden daarvan (gewone diffusie, 'facilitated diffusion', actief transport, enz.) aan een middelbare scholier duidelijk gemaakt kunnen worden... voor zover de celbioloog het zelf allemaal al begrijpt!

Volgens sommige didacten kan een eerste benadering van het probleem van de membraanwerking gegeven worden in de vorm van de plasmolyseproeven met de plantecel. Dit kan inderdaad wel een idee geven dat er iets als een selectieve doorlaatbaarheid in de levende cel bestaat, maar dit te presenteren als de uitwerking van één enkele cytoplasmamembraan is toch wel een wat ver doorgevoerde vereenvoudiging. Beter is dan wellicht een demonstratie van schrompeling en zwelling van erythrocyten in hyper- respectievelijk hypotonisch milieu.

Teneinde de biologie meer in de vorm van praktisch werk te presenteren, streeft men in vele leergangen naar eenvoudige macroscopische experimenten, waaruit de leerling elementaire levensverschijnselen kan leren kennen. Zo beveelt Falk (1971) een practicumproef aan, waarbij een met een oplossing gevuld zakje van cellofaan of varkensblaas in water wordt gehangen en de leerling waarneemt, dat sommige stoffen deze membraan wel passeren, andere niet. Een dergelijke waarneming mag nuttig zijn om duidelijk te maken, dat bepaalde membranen bepaalde stoffen wel en andere niet doorlaten, hij is wel bijzonder ver verwijderd van de enorme specificiteit, verscheidenheid en veranderbaarheid, die de celbioloog constateert dan wel moet postuleren voor de membranen die bij het intracellulair gebeuren een rol spelen. Juist discrepanties als deze illustreren duidelijk, hoe groot de kloof is, die

onze huidige kennis van de celbiologie scheidt van hetgeen door de leerling van de middelbare school begrepen (en hier wordt niet bedoeld: uit het hoofd geleerd!) kan worden.

Zo men al iets van de compartimentalisatie van de cel wil noemen, dan lijkt één aspect daarbij onmisbaar, en wel enig besef van de dimensies, waarbinnen de processen zich moeten afspelen, enig begrip van de afstanden, die bij normale temperatuur door gewone diffusie binnen voor de stofwisseling aanvaardbare tijd moeten worden overbrugd. Het beeld, dat men zich van de compartimentalisatie van de cel maakt, dient hiermee samen te hangen.

Weer een voorbeeld uit de praktijk: op een recent eindexamen bleken de leerlingen tot in details uitstekend op de hoogte van de werking van de dwarsgestreepte spier: 'sliding mechanism', T-systeem, sarcoplasmatisch reticulum, Ca^{2+} -transport werd allemaal keurig in goede samenhang verteld. Maar na de vraag: hoe groot is nu zo'n sarcomeer? ontstond er verwarring en pas na lang aarzelen kwam er uit: zowat een millimeter. Daar had men blijkbaar nooit bij stilgestaan (al was het maar voor het raam van een slagerswinkel). Op zichzelf is die millimeter natuurlijk niet belangrijk, maar de uitspraak verraadt dat de relatie tussen dimensies en moleculaire kinetiek niet werkelijk begrepen is. Ik zal de laatste zijn om dat een VWO-leerling aan te rekenen; waar het op aankomt is, dat een niet onbelangrijke leer-inspanning op dit niveau (waar het draadje naar het rechtstreeks waarneembare geknapt is) niet heeft geleid tot werkelijk begrijpen en dus wellicht beter had kunnen worden besteed.

Celcontacten Onder dit hoofd moge ik, nogal kunstmatig, een aantal onderwerpen samennemen, die althans dit gemeen hebben, dat ze niet zozeer binnen de cel gelocaliseerd zijn maar meer te maken hebben met interactie tussen cellen.

Hieronder valt o.m. de bekleding van de celmembraan met een laagje glycoproteïne, dat te maken heeft met het als 'eigen' of 'vreemd' herkennen van cellen en daardoor van belang is voor immuniteitsreacties (zie ook het hoofdstuk van De Man). Het lijkt, gezien de gecompliceerde chemie en de nog vele onbeantwoorde vragen op dit terrein, nauwelijks zinvol iets hiervan in het VWO-programma op te nemen, ware het niet dat juist in deze glycoproteïnelaag de sleutel ligt van de bloedgroepen, die algemeen wel worden behandeld en wegens hun belang voor de dagelijkse praktijk mijns inziens terecht. Er zijn zaken, die

wegens hun praktisch belang al een vaste plaats in het biologie-onderwijs hebben verworven en waarvan de celbiologische achtergrond wel aanwijsbaar is, zonder dat in feite de mogelijkheid is gegeven, deze tot een beter begrip te doen bijdragen.

Ten aanzien van een ander voorbeeld van celcontacten, namelijk de verschillende vormen van aanhechting tussen cellen: desmosomen, gap junctions, tight junctions e.d., lijkt het vooralsnog een wijze beperking, de bespreking daarvan weg te laten voor leerlingen voor wie het celbegrip nog zo moeilijk is.

Iets anders wordt het, wanneer vergelijkbare structuren functies uitoefenen, waarvan het resultaat in de dagelijkse omgeving, waaronder begrepen het eigen lichaam, valt waar te nemen. Bij de behandeling van het zenuwstelsel kan de bespreking van synapsen en neurotransmitters (hoofdstuk van Jongkind) verhelderend werken.

Daarmee komen we op het terrein van de invloed die cellen langs chemische weg op elkaar uitoefenen. Het spreekt vanzelf dat in het biologieonderwijs aan de werking van hormonen behoorlijk aandacht wordt besteed en dat duidelijk wordt gemaakt, dat de uitwerking van een hormoon uiteindelijk berust bij de werking van de cellen, die door dat hormoon worden beïnvloed. De celbioloog denkt dan aan de verschillende wijzen, waarop de laatste stap van deze beïnvloeding wordt geëffectueerd (hoofdstuk van Konijn). Hier stuiten we echter opnieuw op talrijke nog nauwelijks begrepen punten, bijvoorbeeld de moeilijkheid, zich een receptorplaats op de celmembraan voor te stellen. Ook doet zich het bezwaar gelden van de verdere complicering die aan het bespreken van cyclisch AMP vastzit, om nog te zwijgen van de andere mogelijke aangrijpingspunten van een hormoon op een 'target cell'. Ook voor dit onderwerp dient men zich dus wel zorgvuldig af te vragen, of celbiologische detaillering verhelderend werkt dan wel ten gevolge van de te grote verfijning verwarrend gaat werken.

Energiehantering Voor de volledigheid wordt de energiehantering als vierde hoofdonderwerp hier vermeld, hoewel deze in dit symposium-verslag nauwelijks een plaats heeft gekregen. Het onderwerp ligt ook meer op het terrein van de moleculaire biologie (als men die met Van Herk (1966) niet wil beperken tot de DNA-RNA-eiwit-mode) en van de biochemie; de celbiologie speelt daarin mee als het gaat om de structuur van mitochondriën en chloroplasten. Ook op dit gebied lijkt het mij, dat de hoofdzaken van assimilatie en dissimilatie heel goed be-

handeld kunnen worden zonder op genoemde structurele bijzonderheden in te gaan. Omgekeerd zou men vrij ver in de detaillering van de bouw van mitochondriën en thylacoiden moeten afdalen om te bereiken, dat de kennis van deze structuur werkelijk bijdraagt tot een verdieping van het begrip van hetgeen er biochemisch plaatsgrijpt.

Keuze

Uit de beschouwing van deze vier hoofdlijnen van de celbiologie komt naar voren, dat er weliswaar een groot aantal onderwerpen is te vinden waarbij celbiologische aspecten kunnen worden aangedragen, maar dat bij vele ervan toch een vrij lange aanloop nodig is om ze duidelijk in een structuurpatroon te plaatsen en om te voorkomen dat men details uit het hoofd gaat leren die daardoor geen werkelijke bijdrage leveren tot het begrip van biologische processen.

De beperking in de beschikbare tijd zal dan ook noodzaken tot het doen van een keuze en deze keuze zal vooral bepaald worden door de doelstellingen van het VWO. In deze doelstellingen acht ik twee elementen van dominerende betekenis.

Ten eerste: Het VWO is voorbereidend *wetenschappelijk* onderwijs. Dit houdt in, dat de leerling althans in elementaire vorm iets moet ervaren van wat wetenschappelijk werk betekent. Er is dan ook bij degenen die werken aan de modernisering van het biologie-onderwijs een streven naar uitbreiding van het praktische onderwijs (zie bijvoorbeeld Falk, 1971) en een vervanging van de oude, deductieve methode door een inductieve. Het formuleren van een vraagstelling, het ontwerpen en uitvoeren van een experiment, het registreren en ordenen van uitkomsten, het formuleren van een conclusie zijn in het VWO van fundamenteeler waarde dan veel uit de stortvloed van feiten, waaruit het biologieleersenaal van de middelbare school veelal bestaat. Voor de leerling zelf zijn de spanning van het zelf waarnemen en de vreugde van de eigen ontdekking de ervaringen, die hem enig idee kunnen geven van wat wetenschappelijk onderzoek is. Zulke ervaringen zijn temeer gewenst, omdat in de eerste jaren van het wetenschappelijk onderwijs zoveel feitenmateriaal moet worden aangedragen, dat het praktisch onmogelijk is, dit langs inductieve weg te doen.

Het werkveld van de celbiologie van vandaag biedt weinig ruimte voor experimenten die in het VWO kunnen worden herhaald. Als sub-

stituut kan dan een wetenschappelijk onderzoek worden naverteld of in een film kort weergegeven, waarna de leerling kan worden aangespoord, zelf daaruit zijn conclusies te trekken. Het behoeft geen betoog, dat deze inductieve methode veel meer tijd kost dan de deductieve, m.a.w. dat in de beperkte beschikbare tijd minder 'stof' kan worden aangedragen en het dus eens te meer noodzakelijk is, te selecteren. Ik meen, dat men zich bij deze selectie van onderwerpen zou moeten richten naar wat ik als een tweede doelstelling van het VWO zou willen zien:

Ten tweede: Het VWO moet zoveel kennis van biologische zaken aandragen dat diegenen, die na hun eindexamen niét een richting kiezen waarin biologie als hulp- of hoofdvak voorkomt, voldoende weten om *in de praktijk van het dagelijks leven het belang van de biologische aspecten te kunnen onderkennen.*

Ik druk het wel eens, chargerend, zo uit: een abituriënt moet met verstand de krant kunnen lezen. Daarmee wordt aangeduid dat bij het selecteren van een biologie-programma voor de hogere klassen van het VWO niet in de eerste plaats moet worden gekozen voor het belang van de biologie, maar voor het belang van de leerling, van wie straks, als hij als volwassene in de maatschappij functioneert, op grond van zijn ontwikkeling een verstandig oordeel wordt verwacht, ook over zaken met biologische aspecten. Vragen als: wat is goede voeding, waarom drinkwaterfluoridering, wat is een infectie, wat is immuniteit, wat zijn bloedgroepen, in hoeverre zijn de mogelijkheden van de mens erfelijk bepaald, wat is 'genetic counseling' vragen van geslachtsverkeer, menstruatiecyclus, zwangerschap, de pil, waar komt de energie vandaan die ons in staat stelt te leven, wat zijn de grote kringlopen en hoe dreigen die te worden verstoord in onze geïndustrialiseerde maatschappij...; zulke vragen dienen dan te worden geplaatst tegenover datgene, wat over de moderne celbiologie in dit symposium is aangedragen.

Zelfs indien men recht wil doen aan de intrinsieke waarde van de celbiologie als cultuurbezit dient ook dit aspect gesteld te worden tegenover die van de vele andere waardevolle zaken, die de leerlingen kunnen worden meegegeven. Naar mijn mening blijft er dan in het VWO voor de celbiologie slechts een bescheiden bijdrage over, uitgezonderd uiteraard voor diegenen door wie celbiologische hoofdstukken als keuze-onderwerp worden bewerkt.

Hierin is dan tevens het antwoord besloten ten aanzien van de in het begin van dit hoofdstuk genoemde groep 1: MAVO-HAVO.

Celbiologie in het WO

De betekenis van de celbiologie als basisvak in het WO is van geheel andere orde dan die in het VWO. Het gaat hier niet alleen om de enkele hoofdlijnen, die uit ons inzicht van de fundamentele levensverschijnselen naar voren komen, maar het gaat er bovendien om, de student terdege op de hoogte te brengen van de ontwikkeling in de betrokken onderzoekrichtingen waaruit nieuwe toepassingsmogelijkheden op medisch, landbouwkundig, biotechnisch of aanverwant terrein kunnen voortvloeien. Men moge mij verontschuldigen, dat ik bij het bespreken van deze aspecten het oog vooral richt op de medische opleiding, waarmee ik het beste bekend ben en mij daarbij gaarne baseer op de woorden van Bittar & Bittar (1968) in de inleiding van hun boek 'The biological basis of medicine': 'It is now generally accepted, that cell biology has not only a key position among the biological sciences, but also serves at the meetingground for the physiologist, biochemist, cytologist, pathologist, and others... Cell biology offers the basis upon which life in health and disease can be properly understood... Our belief is that ultimately cellular biology will be the discipline unifying the basic medical sciences.'

Vanuit dit gezichtspunt is het dan ook terecht, dat aan alle universiteiten veel tijd wordt ingeruimd voor celbiologie in de medische en daarmee verwante opleidingen. Men kan zich echter afvragen of de vele tijd, hieraan besteed, wel maximaal rendement oplevert, wanneer men constateert, hoe zeer juist hier de eerder besproken didactische grondregel, dat nieuw feitenmateriaal moet worden geplaatst in een structuurpatroon dat de leerling reeds vertrouwd is, wordt veronachtzaamd.

Uit hetgeen op pag. 223 e.v. werd gezegd, volgt dat de abiturient van het VWO aan de universiteit aankomt met een veelal nog vaag en onvolledig begrip van de levende cel in al zijn complexiteit en wisselwerkingen en zeker nog ver verwijderd is van het beeld van de cel zoals het door De Voogd van der Straaten (pag. 11) werd gegeven. Bovendien gaat de belangstelling van de aankomende studenten in de geneeskunde, tandheelkunde, diergeneeskunde, enz. zeker niet in de eerste plaats uit naar de cel: het is logisch dat hun aandacht en studieverwachtingen

zich richten op hun toekomstig werkveld en dan vaak nog met voorbijgaan van de preventieve aspecten. Terugwijzend naar de eerder aangehaalde uitspraak van Brumer (pag. 222) lijkt het dan ook een didactische eis, de 'patiënt', dat is het totale organisme, als structuurpatroon aan te bieden, van waaruit nadere detaillering moet worden bereikt.

De opbouw van de meeste medische curricula in de basisjaren vertoont evenwel trekken die opvallend overeenkomen met de aanpak van de jonge, onervaren leraar uit het citaat op pag. 225-226. Die opbouw is doorgaans traditioneel: éérst de molekulen, dan via macromoleculaire systemen naar de werkingen van een cel, véél celbiologie vóórdát over weefsels wordt gesproken, pas uit de weefsels de organen opbouwen en pas uit het samenstel van deze laatste de mens als individu (en patiënt) leren begrijpen. Deze traditionele opbouw is voor degene, die op al deze terreinen thuis is, volstrekt logisch en goed hanteerbaar, doch druist niet alleen in tegen het gesignaleerde didactische grondbeginsel, maar is ook strijdig met de wijze, waarop bijvoorbeeld de medicus bij de uitoefening van zijn vak (zo ooit) gebruik zal maken van celbiologische inzichten. De arts ziet in de eerste plaats de patiënt; mogelijk wordt een klacht in een bepaald orgaan of orgaansysteem gelokaliseerd, in dat geval zal de gedachtensprong via weefsel naar cel worden gemaakt en zal misschien worden teruggevallen op de algemene wetmatigheden, volgens welke cellen werken.

Door deze vanzelfsprekende gedachtengang te veronachtzamen wordt bereikt, dat de student in het begin van zijn studie – die hij is ingegaan met slechts een vaag idee over de biologie op cellulair niveau – moleculaire biologie en celbiologie krijgt te verwerken in een hoge mate van complexiteit zonder voldoende relatie met datgene, waar het later in moet worden gepast of met datgene, waar zijn aandacht in de eerste plaats op gericht is. Bij gebrek aan een voor hem passend structuurpatroon ziet hij al gauw door de bomen het bos niet meer, maar leert het allemaal braaf – hij wil immers zijn papiertje halen – maar is het dan ook allemaal heel gauw weer vergeten.

Daar komt nog bij, dat vele klinische docenten hun kennis omtrent de celbiologie vele jaren geleden hebben opgedaan en zodoende, speciaal in een zich zo snel ontwikkelend vakgebied, van de laatste vorderingen niet geheel op de hoogte zijn. Zij kunnen daardoor hetgeen in het basisonderwijs werd aangedragen niet opvangen en weten bovendien vrijwel niet wat er in voorafgaande jaren is behandeld. Zodoende gaat, wat er eventueel bij de student mocht zijn blijven hangen, ook om die

reden verloren.

Wil de celbiologie werkelijk tot het denk-arsenaal van bijvoorbeeld de arts gaan behoren, dan zal vooral in dit opzicht een grondige herbezinning op de basis van het curriculum noodzakelijk zijn. Men zal moeten beginnen met datgene, dat door elke aankomende student onmiddellijk als relevant voor zijn studie wordt gezien: de mens als geheel, de met het blote oog of eenvoudige meetinstrumenten waarneembare, normale en waar mogelijk ook pathologische functies. Uiteraard kan hierbij worden voortgebouwd op hetgeen in het VWO werd verworven. De lijn: organisme → orgaan → cel behoeft nu geen nadere uitleg meer, maar men mag, dacht ik, niet verwachten dat elke aankomende student een zó duidelijke voorstelling heeft van een verscheidenheid van vooral vertebratencellen, dat celbiologische processen zonder moeite daarin kunnen worden geplaatst. Hoe de situatie zal zijn voor die studenten die de biologie, zijnde niet vereist, uit hun eindexamenpakket hebben weggelaten, moet bezorgd worden afgewacht.

In het eigen onderwijs geef ik er de voorkeur aan dat de studenten eerst de algemeen voorkomende celtypen wat minder gedetailleerd leren kennen en herkennen, maar wel de functie van die cellen zien in het grotere geheel van weefsel en orgaan. Pas geleidelijk worden ultrastructurele details in dit elementaire histologische onderwijs ingebouwd, waarbij gehoopt wordt te komen tot een nader samengaan met het onderwijs in de biochemie. Pas later, bij de microscopische anatomie, worden verdere celbiologische details aangedragen voor de celtypen die specifiek zijn voor de betreffende orgaanfunctie. Aldus wordt nagestreefd, dat steeds opnieuw de band gelegd wordt: organisme → orgaan → cel → celorgaan → macromoleculair systeem.

Gaandeweg, in de loop van bijvoorbeeld de eerste twee of drie studiejaren kan, hand in hand met elementair klinisch onderwijs, gewerkt worden aan een geleidelijke verdieping van de analyse van levensverschijnselen, zodat omstreeks het eind van het derde jaar het vereiste niveau op het gebied van de celbiologie is bereikt. Indien dit onderwijs in die drie jaren steeds en, naar valt te verwachten ook in klimmende mate, geïntegreerd is geweest met klinische bijdragen, zullen de klinici uit hun overleg met de docenten uit de basiswetenschappen wellicht zoveel over de moderne celbiologie meepikken dat dit niveau ook in hun onderwijs in stand wordt gehouden.

Dit zal ertoe kunnen leiden, dat de celbioloog ook in de latere fasen van de opleiding, bijvoorbeeld bij de specialisatie, nog bij het onderwijs

wordt betrokken en is dit eenmaal gebruikelijk, dan zal hieruit wellicht voortvloeien, dat veel 'leerstof' in de eerste jaren kan worden wegge-
laten en de nu ernstige dreiging van overbelasting wordt afgewenteld.

De hoeveelheid materiaal, die in het huidige bestel binnen korte tijd moet worden overgedragen, maakt het vrijwel onmogelijk, dit anders te doen dan via de deductieve weg. Voor een inductieve benadering, laat staan een kennis nemen van celbiologie door zelf experimenteren, is er in de basisjaren nauwelijks tijd. In sommige curricula wordt in het derde jaar gelegenheid gegeven tot het doen van een wetenschappelijke stage, maar slechts een klein deel van de studenten kiest hiervoor het terrein van de celbiologie.

Aan de ene kant accentueert deze situatie de dringende wenselijkheid van inductief onderricht in het VWO (zie pag. 232), aan de andere kant moet ook in het WO de didactiek erop gericht zijn, een vak als celbiologie als een groeiende wetenschap te presenteren en niet als een verzameling feiten die men nu eenmaal (om vaak duistere reden) moet kennen.

Een geschikte presentatievorm lijkt dan ook, de gang van zaken bij een wetenschappelijk onderzoek te weerspiegelen: eerst de vraag te stellen, dan inzicht te geven in de experimentele mogelijkheden, vervolgens het experiment te beschrijven en de uitkomsten te laten zien en tenslotte de studenten zelf daaruit hun conclusie te laten trekken. De moeilijkheid, dit te doen in een collegezaal met 200 studenten, laat ik nu maar terzijde; er zijn gelukkig andere onderwijsvormen. Voor toetsing lijken dan vragen volgens volgende modellen bruikbaar:

- 1 Beschrijf een verschijnsel dat de leerling niet onmiddellijk kan begrijpen. Vraag met welke methoden men de verklaring kan vinden.
- 2 Beschrijf een experiment. Vraag wat de student verwacht te zullen waarnemen.
- 3 Beschrijf een experiment en de uitkomst daarvan (eventueel met kwantitatieve gegevens). Vraag welke conclusie de student hieruit trekt.
- 4 Beschrijf experiment, uitkomst en een conclusie. Vraag of deze conclusie juist is en of die uit zulk een experiment getrokken mag worden. Er zijn uiteraard verdere variaties op dit thema mogelijk.

Met een presentatie volgens deze lijnen, die zou kunnen culmineren in het laten lezen van recente wetenschappelijke publikaties (wat in elk geval een onderdeel van de wetenschappelijke stage behoort te zijn), zou men kunnen bereiken, dat de uitkomsten van recent onderzoek,

vaak nog te veel als vaststaande feiten 'geleerd', gezien gaan worden als elementen in een voortdurende stroom van feit-hypothese-onderzoek-uitkomst-discussie-nieuwe hypothese, enz., waarin het wetenschappelijk bedrijf zelf als een dynamisch proces voortbestaat. Op zijn beurt kan hieruit de motivatie voortspruiten van een 'éducation permanente', die men voor elke academicus steeds meer als enige oplossing ziet.

Nog een derde element kan helpen, de celbiologie als hulpwetenschap meer gestalte te geven, en wel het telkens terugkeren van bepaalde verschijnselen in ander verband. Herhaling is een essentieel element in de didactiek. Indien, overeenkomstig de hierboven aangegeven richtlijnen, celbiologische aspecten worden besproken als detailleringen van orgaanfuncties zullen functies van celorganellen zoals: Golgi-apparaat, mitochondriën, het lysosomale systeem, plaatsen van cel-contact, telkens opnieuw, maar telkens in andere samenhang naar voren komen.

Een voorbeeld: voor enkele jaren werd door de school van Seljelid et al., (1970) aangetoond, dat de mobilisatie van schildklierhormoon uit de follikel plaats vindt via pinocytose en intracellulaire afbraak van thyreoglobuline door lysosomen. Hiermee kwam een nieuwe functie van het lysosomale systeem aan het licht, waarvan een groot aantal functies al bekend was, onder andere bij het verwerken van gefagocyteerd materiaal door makrofagen en granulocyten, de verwerking van geresorbeerd macromoleculair materiaal door niertubuli en het buiten gebruik stellen van celdelen bij involutie van de cel. Dat een dergelijke veelheid van functies in wezen berust op de gevarieerde toepassing van éénzelfde celorganel demonstreert de 'eenheid in verscheidenheid' die het boeiende kenmerk is van biologische systemen.

Wanneer dit boeiende door de meerderheid der studenten wordt ervaren kan men stellen, dat de celbiologie zijn plaats heeft verworven tussen de vele disciplines waaruit het curriculum is samengesteld.

Glossarium

Deze lijst bevat een aantal belangrijke begrippen die in de verschillende hoofdstukken voorkomen. Begrippen welke in de tekst uitvoerig worden verklaard, zijn niet opgenomen of worden slechts in het kort behandeld. Hiervoor raadplege men het register. Woorden aangeduid met een asterisk worden elders in dit glossarium besproken.

Actief transport Transport van stoffen tegen een concentratiegradiënt in, waarvoor energie (in de vorm van ATP) nodig is.

Ångström (Å) Verouderde maat. 1 Å komt overeen met 10^{-7} mm.

Antilichaam Eiwit dat gesynthetiseerd wordt in een plasmacel en dat gericht is tegen lichaamsvreemde stoffen (antigenen). De reactie tussen antilichaam en antigeen is zeer specifiek. Antilichamen komen voornamelijk voor in die fractie van de serum-eiwitten welke behoren tot de γ -globulinen. Naar hun werking onderscheidt men een aantal groepen:

- agglutinines: doen bacteriën samenklonteren,
- antitoxines: maken door bacteriën afgegeven toxische stoffen onschadelijk,
- precipitines: slaan lichaamsvreemde eiwitten neer,
- bacteriolysines: *lyseren bacteriën,
- opsonines: vergemakkelijken de *fagocytose van lichaamsvreemde stoffen door leucocyten.

Antigeen Lichaamsvreemde substantie. De *antilichaam-reactie is gericht tegen eiwit- of polysaccharidecomponenten van het antigeen.

Biomembranen Membraneuze structuren, betrokken bij transport- en syntheseprocessen binnen de cel en het transport van stoffen tussen

de cel en de extracellulaire ruimte. Zij bevatten de 'carrier'-systemen voor *actief transport en herkenningsplaatsen (receptoren) voor stoffen die betrokken zijn bij de regulatie van cellulaire processen, zoals hormonen. Biomembranen zijn opgebouwd uit ondermeer eiwitten en lipiden, en de structuur is onderhevig aan continue afbraak- en syntheseprocessen (dynamische structuur). De belangrijkste biomembranen zijn :

- de plasmamembraan,
- de kernmembraan,
- membranen rond celorganellen zoals *mitochondriën, chloroplasten, *lysosomen,
- de membranen van het *endoplasmatisch reticulum en het *Golgi-systeem.

Cel De kleinste organisatie-eenheid van enig levend organisme die – mits in een geschikte omgeving – in staat is tot een onafhankelijk bestaan van enige duur en in staat is zijn eigen substantie te vervangen.

Celfractionering Het van elkaar scheiden van verschillende cel-componenten d.m.v. fragmentatie gevolgd door centrifugatie-technieken.

Centromeer Deel van het chromosoom waar de spoeldraden van de *delingsspoel aangrijpen. Herkenbaar doordat zich hier een insnoering (primaire constrictie) bevindt.

Chemotaxis Beweging van de cel welke wordt gedirigeerd door een chemische substantie die zich buiten de cel bevindt.

Chromatine Letterlijk: kleurbare substantie. Het geheel van chromosoomfibrillen in de celkern. Het chromatine kan voorkomen in twee condensatiegraden :

- Heterochromatine: Chromosomen in gecondenseerde vorm, zoals deze ondermeer zichtbaar zijn tijdens de metafase van de celdeling (zie mitose). In deze toestand zijn ze genetisch inactief.
- Euchromatine: De chromosoomfibrillen liggen los dooréén in een diffuse kluwen. In deze toestand kunnen ze genetische informatie afgeven.

*Co-cultivat*ie Het tezamen kweken van meerdere celsoorten.

*Contactinhibit*ie Het verschijnsel dat bij cellen de groei stopt nadat zij elkaar raken. Bij het kweken van cellen op een voedingsbodem resulteert dit in een zogenaamde 'monolayer': cellen groeien nadat de voedingsbodem met één laag bedekt is niet verder. Bij *getransformeerde cellen gaat deze eigenschap verloren.

*Crinofag*ie Het opnemen van in de cel gevormde secreetkorrels door de *lysosomen, door middel van een proces van membraanversmelting. Crinofagie is een belangrijk regulerend systeem voor de secretoire activiteit van cellen.

Cytoplasma In algemene zin is dit het cellichaam buiten de celkern. Als cytoplasma in engere zin kan men beschouwen de vloeistof waarin de celorganellen zich bevinden. Dit noemt men ook wel de cytosol. De cytosol bevat verschillende enzymsystemen, zoals die voor de glycolyse (zie glucose-afbraak), de vetzuursynthese, etc.

Delingsspoel Bestaat uit twee soorten spoeldraden: van pool tot pool en van pool tot *centromeer. De polen worden vaak gevormd vanuit de zogenaamde centriolen. De spoeldraden zijn opgebouwd uit microtubuli die geassembleerd worden uit kleinere bouwstenen.

DNA Zie nucleïnezuuren.

Endocytose Door in- of uitslulping van de plasmamembraan wordt een deel van de extracellulaire ruimte afgezonderd en, omgeven door het betreffende deel van de plasmamembraan, in de cel opgenomen. Bij de endocytose onderscheidt men:

- fagocytose (phag- = woordstam voor eten); het opnemen van vaste, althans microscopisch zichtbare, partikeltjes,
- pinocytose (pinein = drinken); het opnemen van vloeistoffen.

Endoplasmatisch reticulum (ER) Structuur in de cel bestaande uit een verzameling van veelal parallelle platte ruimtes (cisternen) welke van het cytoplasma zijn afgescheiden door membranen. De ruimtes zijn onderling tot een netwerk verbonden. Het is te onderscheiden in een ruw (RER) en een glad (SER) endoplasmatisch reticulum.

Het *RER* is bedekt met *ribosomen en is in de eukaryote cel de voornaamste plaats voor de synthese van eiwitten.

Het *SER* speelt een voorname rol bij de koolhydraat- en vetstofwisseling, en is ondermeer betrokken bij intracellulair transport. Tevens is het ER een voorloper van de membraansystemen van het *Golgi-apparaat en mogelijk van de kernmembraan.

Energierijke verbindingen Verbindingen waarin voor chemische reacties bruikbare energie ligt opgeslagen. Deze energie komt vrij bij hydrolyse van deze verbindingen. Enige voorbeelden:

- Adenosinetrifosfaat (ATP). Bij hydrolyse van 1 mol ATP tot ADP komt ca. 7.000 cal vrij.
- Fosfoënolpyruvaat: vrije energie ca. 13.000 cal.
- Acetyl Coënzym A: vrije energie ca. 8.000 cal.
- Creatinefosfaat: vrije energie ca. 9.000 cal.

Epigenetisch Heeft betrekking op de expressie, *transcriptie, *translatie of interactie van het genetisch materiaal.

Episoom Een accessoir-genetisch element dat in het genoom geïntegreerd kan zijn, doch ook kan voorkomen als een vrije, semi-autonome factor.

Eukaryoten Organismen met een, door een dubbel membraan omgeven, kern met daarin de chromosomen.

Exantheem Vlekkige huidaandoening, berustend op ontsteking.

Exocytose Het proces waarbij stoffen uit de cel worden verwijderd. Deze stoffen zijn tevoren al in een door een membraan omgeven ruimte binnen de cel opgehoopt; de exocytose vindt plaats nadat deze membraan met de plasmamembraan is versmolten en ter plaatse is doorgebroken.

Fagosoom Door membraan omgeven gefagocyteerd partikeltje of een gepinocyteerd vloeistofdruppeltje.

Genetische redundantie Het verschijnsel waarbij stukken genetische informatie meer dan éénmaal in het genoom voorkomen.

Glucose-afbraak

– Anaerobe afbraak (glycolyse). Eindprodukt van deze afbraak kan zijn melkzuur, alcohol, etc. Bij dit proces wordt ATP gevormd zonder dat er behoefte is aan een elektronenacceptor, zoals O_2 .

– Aerobe afbraak. Het eerste deel is vrijwel gelijk aan glycolyse; verdere afbraak tot CO_2 en H_2O geschiedt volgens de citroenzuurcyclus en de daaraan gekoppelde ademketen. Bij dit proces is de ATP-opbrengst per mol glucose veel hoger dan bij anaerobe afbraak, de vorming is echter geheel afhankelijk van de aanwezigheid van zuurstof.

Glycocalix Een laagje macromolekulen (eiwitten en koolhydraten bevattend) op de buitenzijde van de plasmamembraan. Speelt een rol bij de opname en afgifte van stoffen door de cel.

Golgi-apparaat Het secretieorgaan van de cel, waarin de uit te scheiden celprodukten worden afgewerkt, geconcentreerd en verpakt in membranen. Het bestaat uit systemen van gladde, opééngepakte *cisternen (dictyosomen). Zie ook endoplasmatisch reticulum.

Haemolyse Proces waarbij het rode bloedpigment (haemoglobine) uit de erythrocyten wordt verwijderd, zonder dat deze ten gronde gaan.

Haemopoïse Het proces van de vorming van bloedcellen.

HeLa-cellen Voor celbiologisch en moleculair biologisch onderzoek veel gebruikte cellijn. De cellijn is oorspronkelijk afkomstig uit cellen van een tumor van de baarmoederhals die ongeveer dertig jaar geleden verwijderd werd bij de patiënte Helen Lane. Sindsdien worden HeLa-cellen op vele laboratoria voortgekweekt.

Heterokaryon Letterlijk: kern die bestaat uit verschillende delen. De naam wordt echter gegeven aan een heterokaryotische cel met twee of meer kernen, waarvan de kernen afkomstig zijn uit cellen van verschillend genetisch type.

Histonen Eiwitten die gekenmerkt worden door een hoog gehalte aan aminozuren met een basische zijketen en die voorkomen in combinatie met *nucleïne-zuren.

Hybridisatie

- Moleculaire hybridisatie. Biochemische methode, waarbij de graad van homologie tussen DNA-molekullen onderling of tussen *DNA- en *RNA-molekullen getoetst kan worden. Bij deze methode wordt gebruik gemaakt van het feit dat complementaire nucleïnezuurmolekullen een stevige onderlinge binding aangaan.
- Celhybridisatie. De fusie tussen in vitro gekweekte cellen van verschillende oorsprong.

Inductie (model van *Jacob en Monod) Een metaboliet kan vaak de synthese van de enzymen die nodig zijn voor de verwerking ervan 'induceren'. Het metaboliet, inductor genoemd, bindt zich aan het *repressormolekuul. Door deze interactie verandert het repressormolekuul van structuur, waardoor het niet meer aan de *operator-site kan binden. De structurele genen van het betreffende *operon kunnen nu worden afgelezen, en de enzymen die door deze genen worden gecodeerd worden gesynthetiseerd.

Infiltratieve groei Groei van tumorcellen die zich niet storen aan anatomische grenzen.

In vitro Letterlijk: in glas (reageerbuis). Heeft betrekking op experimenten met cellen of celbestanddelen waarbij de structuur waarin ze normaal voorkomen (in vivo) in meer of mindere mate is gestructureerd.

Isoënzymen Het voorkomen van een enzym, binnen één bepaald soort, in meer dan één structurele vorm.

Jacob en Monod-model Het model dat betrekking heeft op de regulatie van de gen-activiteit bij *prokaryoten.

Locus Specifieke plaats op het genoom.

Lymfocyt Eén van de celtypes die bij de amoëboïde leucocyten kunnen worden onderscheiden. De stamcel, waaruit de lymfocyt ontstaat, is de lymfoblast.

Lysis Proces waarbij de celwand wordt gedesintegreerd en de celinhoud vrijkomt.

Lysosoom Blaasvormig celorganel dat is omgeven door een membraan en dat is betrokken bij de intracellulaire vertering. Zij bevatten veel hydrolytische enzymen die eiwitten, vetten, etc. kunnen afbreken. Het lysosoom kan met het *fagosoom, dat via fagocytose of pinocytose materiaal binnen de cel brengt, fuseren. Indien delen van celorganellen uit de eigen cel worden 'gefagocyteerd' door het lysosoom spreekt men van autofagie.

Macrofaag Cellen die in milt, lever en beenmerg in gefixeerde toestand voorkomen. Zij kunnen overgaan in een vrije vorm en kunnen zich dan vrij in het bloed bewegen. Zij zijn in staat tot fago- en pinocytose (zie endocytose) en spelen een belangrijke rol bij afweer- en opruimreacties.

Mesosomen Complexe structuren bij *prokaryoten, ontstaan door instulpen van de plasmamembraan; mogelijke concentratieplaatsen voor enzymen van de ademhalingsketen.

Micrometer (μm) 1 μm komt overeen met 10^{-3} mm.

Microsomen Na differentiële centrifugatie sedimenteren bij hoog toerental kleine fragmenten van het endoplasmatisch reticulum en andere biomembranen. Deze fractie heeft men de microsoomfractie genoemd (letterlijk: kleine lichaampjes). (Zie ook celfractionering.)

Mitochondriën Celorganellen met een buiten- en een (geplooid) binnenmembraan. Bevat een eigen *DNA en *ribosomen. Het is de voornaamste syntheseplaats van ATP dat uit ADP wordt gevormd d.m.v. een proces dat bekend staat als oxidatieve fosforylering. In verband hiermee vinden we in het mitochondrion de citroenzuurcyclus en de ademketen (zie ook glucose-afbraak). Ook de vetzuurafbraak vindt plaats in het mitochondrion. Tevens is dit celorganel betrokken

bij diverse syntheseprocessen (zoals de synthese van bepaalde steroidhormonen).

Mitose Indirecte celdeling. Bij microscopische observatie zijn de volgende fasen te onderscheiden:

- Interfase: de toestand van de cel tussen twee delingen in.
- Profase: het zichtbaar worden van de chromosoomstructuur en *delingsspoel, hierbij verdwijnen de nucleolus en kernmembraan.
- Metafase: het rangschikken van de chromosomen in equatoriaal vlak, waarbij de twee identieke componenten (chromatiden) van elk chromosoom zichtbaar worden.
- Anafase: de chromatiden bewegen elk naar de tegenoverliggende polen van de delingsspoel; deling van het centriool. Begin van insnoering van het cellichaam.
- Telofase: de zichtbare chromosomenstructuur verdwijnt. Vorming nieuwe kernmembraan en nucleolus. Voltooiing van de deling van het cellichaam.

Mutanten Cellen of virussen die een sprongsgewijze verandering in de erfelijke informatie hebben ondergaan (mutatie). Enkele voorbeelden:

- 'Missense'-mutaties. Hierbij resulteert de verandering in de synthese van een eiwit (enzym) waarin één of meer 'foutieve' aminozuren zijn ingebouwd, waardoor dit eiwit zijn functie niet of niet goed meer kan uitoefenen. Hiertoe behoren ondermeer de 'temperatuurgevoelige' mutanten die een bepaald proces niet meer kunnen uitvoeren bij temperaturen waarbij het oorspronkelijke ('wilde') type dit nog wel kan.
- 'Nonsense'-mutaties. Hierbij wordt een eiwit (enzym) geheel of gedeeltelijk niet meer gesynthetiseerd.

Nanometer (nm) 1 nm komt overeen met 10^{-6} nm.

Necrose Afsterven van cellen en weefsels.

Nucleïnezuuren

DNA (desoxyribonucleïnezuur) komt meestal voor in een dubbelstrengsvorm (uitzonderingen worden gevonden bij bepaalde bacteriële virussen waar het DNA uit slechts één streng bestaat). Veelal is het DNA circulair. Elk van de DNA-strengen is opgebouwd uit een groot aantal nucleotiden, bestaande uit een stikstofbase, een suiker (desoxy-

ribose) en een fosfaatgroep. De genetische informatie is in het DNA vastgelegd door de nucleotiden volgorde. De nucleotiden verschillen onderling alleen in de stikstofbase; in DNA komen in hoofdzaak vier verschillende basen voor: adenine (A), guanine (G), cytosine (C) en thymine (T). De twee strengen zijn complementair aan elkaar, hetgeen wil zeggen dat tegenover een A in de ene streng, een T in de andere streng staat, en tegenover een C een G. Bij prokaryoten komt het DNA voor als een vrijwel naakte dubbelhelix met een diameter van ca. 2 nm; bij eukaryoten is de DNA draad veel dikker, doordat hij is omgeven met eiwitten en mogelijke ook met RNA en bovendien nog extra is gespiraliseerd tot een superhelix. Het wordt dan de 'elementaire fibril' genoemd en heeft een diameter van 15-20 nm.

RNA (ribosenucleïnezuur) verschilt van DNA in de volgende opzichten:

- Het bestaat (meestal) uit één streng.
 - De suiker in het nucleotide is ribose.
 - In plaats van thymine vinden we in RNA uracil.
 - Als regel is het een korter molecuul dan de meeste DNA-molekulen.
- In de cel zijn tenminste 3 soorten RNA geïdentificeerd;
- Messenger (boodschapper-)RNA (mRNA). Wordt tijdens de transcriptie als een complementaire streng op één van de twee strengen van het DNA gesynthetiseerd. Zorgt voor de overdracht van de genetische informatie naar het cytoplasma.
 - Ribosomaal RNA (rRNA). Bestanddeel van de *ribosomen. In elk ribosoom komen 3 verschillende ribosomale RNA-molekulen voor.
 - Transport-RNA (tRNA). Zorgt tijdens het *translatieproces voor binding van aminozuren aan het ribosoom-mRNA-complex.

Nucleoid Vorm van het genetische apparaat bij prokaryoten. Bestaat uit het lange dubbelstrengs DNA-filament dat sterk gevouwen is.

Nucleolus Kernorganel dat nauw betrokken is bij het synthese en het transport van ribosomaal *RNA. Doordat de nucleolus tevens betrokken is bij het transport van messenger *RNA heeft het een controlefunctie op het transport van genetische informatie naar het cytoplasma.

Oncogene Kankerverwekkend, heeft betrekking op virussen.

Operator site (model van *Jacob en Monod) Plaats waar de *repressor aangrijpt, liggend vóór de structurele genen van het *operon.

Operon (model van *Jacob en Monod) Een complex van genen op het DNA, die specificeren voor eiwitten (enzymen) die betrokken zijn bij één en hetzelfde metabole proces, en die als eenheid worden geruleerd (d.w.z. als groep worden 'ingeschakeld' bij *inductie en 'uitgeschakeld' bij *repressie). Het meest intensief bestudeerde operon is het lac-operon bij *Escherichia coli*, dat specificeert voor enzymen die betrokken zijn bij het lactose-metabolisme.

Prokaryoten Organismen die niet in het bezit zijn van een door een membraan omgeven kern.

Promoter site (model van *Jacob en Monod) Behoort tot het *operon, en ligt vóór de *operator site. Op dit stukje DNA start de *transcriptie van het betreffende operon, wanneer deze tenminste niet geblokkeerd wordt doordat de operator site bedekt is door de repressor.

Recombinatie Het uitwisselen van stukken genetische informatie tussen twee verschillende DNA-molekulen.

Repressie Doordat een 'repressormolekuul' (een eiwit) zich bindt aan de *operator site kan de genetische informatie van het betreffende *operon niet worden afgelezen, en is de synthese van de enzymen welke door dit operon worden gespecificeerd onderdrukt.

Ribosoom Celorganel, betrokken bij de *translatie. Het bestaat uit ribosomaal *RNA en een groot aantal (ca. 50) verschillende eiwitten. Tijdens de translatie bevinden zich op het messenger *RNA meerdere ribosomen: en dergelijke structuur wordt een polysoom genoemd.

RNA Zie nucleïnezuren.

Sarcoom Kwaadaardige tumor, ontstaan uit cellen afkomstig uit mesenchiaal weefsel.

Superinfectie Herinfectie van cellen welke reeds geïnfecteerd zijn met eenzelfde of een ander virus.

Svedberg (S) De Svedberg-eenheid is een maat voor de snelheid waarmee een deeltje in een centrifugaalveld sedimenteert. De S-waarde van een deeltje wordt ondermeer bepaald door het molekuulgewicht, de vorm en massa van het deeltje en de dichtheid van de vloeistof waarin het deeltje sedimenteert.

Transcriptie Het overzetten van de DNA-code in een RNA-code, met behulp van het enzym DNA-afhankelijke RNA-polymerase. Het aldus gevormde messenger *RNA wordt naar het cytoplasma getransporteerd, alwaar de *translatie plaats vindt.

Transformatie Overerfbare verandering in het biologisch gedrag van cellen, tengevolge van virusinfectie.

Translatie Het 'verhalen' van de genetische informatie in de aminozuurvolgorde van eiwitten aan het RNA-*ribosoom-complex.

Viraemie De verspreiding van virus door de bloedbaan.

Virus Letterlijk: smetstof. Kan zich alleen vermenigvuldigen door tussenkomst van een gastheer cel. Is dit een bacterie, dan spreken we van bacteriofaag.

Zwavelbrug Veel voorkomende covalente bindingsmogelijkheid tussen verschillende polypeptideketens. De binding vindt plaats tussen twee cysteïne-molekulen, aminozuren die een SH-groep bevatten. Zwavelbruggen kunnen worden verbroken door behandeling met verbindingen als mercapthoëthanol en dithiodiglycol.

Literatuur

Kaarttekening van de moderne celbiologie

(W. A. de Voogd van der Straaten)

- Bielka, H., 1973. Molekulare Biologie der Zelle. Fischer, Jena.
- Clegg, P. C., 1969. Introduction to mechanisms of hormone action. Heinemann, London.
- Dupraw, E. J., 1968. Cell and molecular biology. Academic Press, London/New York.
- Dupraw, E. J., 1970. DNA and chromosomes. Holt, Rinehart & Winston, New York.
- Ephrussi, B., 1973. Hybridization of somatic cells. Princeton University Press, Princeton.
- Fawcett, D. W., 1966. The cell, an atlas of fine structure. Saunders, Philadelphia/London.
- Fox, S. W. & K. Dose, 1972. Molecular evolution and the origin of life. Freeman, San Francisco.
- Harris, H., 1970. Cell fusion. Clarendon, Oxford.
- Kaplan, R. W., 1972. Der Ursprung des Lebens. Thieme, Stuttgart.
- Lehninger, A. L., 1970. Biochemistry. Worth, New York.
- Lentz, M. D., 1971. Cell fine structure, an atlas of drawings of whole-cell structure. Saunders, Philadelphia/London.
- Linskens, H. F., 1966. Cel-organellen. In: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie. Pudoc, Wageningen. p. 100-121.
- Mazia, D. 1961. The cell, vol. 3. Academic Press, New York.
- Mauersberger, B., 1971. Aktuelle Probleme der Zellzüchtung. Fischer, Jena. Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.
- Policard, A., 1970. Cytologie moleculaire des membranes et compartiments de la cellule animale. Masson, Paris.
- Rutten, M. G., 1971. The origin of life by natural cause. Elsevier, Amsterdam.
- Stanier, R. Y., 1970. Symposia of the Society for general microbiology 20: 1-38. Cambridge, Cambridge.
- Ursprung, H., 1968. The stability of the differentiated state, Springer, Berlin/Heidelberg/New York.
- Voogd van der Straaten, W. A. de, 1971. Over het aangrijppingspunt van oestrogene hormonen. *Tijdschr. Diergeneesk.* 96: 1135-1139.

- Voogd van der Straaten, W. A. de, 1972. Membraanfusie in de natuur en in het laboratorium. *Natuurk. Voordr. Maatsch. Diligentia* 50: 127-141.
- Wallach, D. F., 1972. The plasma membrane. Springer, Berlin/Heidelberg/New York.
- Welsch, W. & V. Storch, 1973. Einführung in Cytologie und Histologie der Tiere. Fischer, Stuttgart.
- Wolfe, S. L., 1972. Biology of the cell. Wadsworth, Belmont California.
- Yost, H. T., 1972. Cellular physiology. Prentice-Hall, London.

Prokaryoten en eukaryoten, structuur en organisatie

(J. James)

- Barr, G. C. & E. G. Bertram, 1949. A morphological distinction between neurons of the male and the female and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature, London* 163: 676.
- Borst, P., 1972. Mitochondrial nucleic acids. *Ann. Rev. Biochem.* 41: 333-376.
- Callan, H. G., 1972. Replication of DNA in the chromosomes of eukaryotes. *Proc. R. Soc., Series B.* 181: 19-41.
- Comings, D. E., 1972. The structure and function of chromatin. In: Harris & Hirschhorn (Eds): Advances in human genetics, 3, Plenum Press, New York/London. p. 237-436.
- DuPraw, E. J., 1970. DNA and chromosomes. Holt, Rinehart & Winston Inc., New York.
- Hughes, A., 1959. A history of cytology. Abelard-Schuman, London/New York.
- James, J., 1971. DNA constancy and chromatin structure in some cell nuclei of *Amphiuma*. *Histochem. J.* 4: 181-192.
- John, M. & K. R. Lewis, 1972. Somatic cell division. Oxford Biology Readers/Oxford University Press, London.
- Jordan, E. G., 1971. The nucleolus. Oxford Biology Readers/Oxford University Press, London.
- Margulis, L., 1970. Origin of eukaryotic cells. Yale University Press, New Haven/London.
- Mazia, D., 1961. How cells divide. *Scient. Am.* 205: 100-120.
- Mitchison, J. M., 1971. The biology of the cell cycle. Cambridge University Press.
- Paul, J., 1965. Cell biology. Heinemann Educational Books Ltd, London.
- Prescott, D. M., K. G. Murti & C. J. Bostock, 1973. Genetic apparatus of *Stylonychia* sp. *Nature, Lond.* 242: 576-601.
- Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.
- Raff, R. A. & H. R. Mahler, 1972. The non symbiotic origin of mitochondria. *Science, N. Y.* 177: 575-582.
- Stanier, R. Y., 1961. La place des bactéries dans le monde vivant. *Annls Inst. Pasteur, Paris* 101: 297-312.
- Watson, J. D., 1968. The double helix. Weidenfeld & Nicolson, London.

Samenspel van genoom en cytoplasma (D. Bootsma)

- Deák, I., E. Sidebottom & H. Harris, 1972. Further experiments on the role of the nucleolus in the expression of structural genes. *J. Cell Sci.* 11: 379-391.
- Eliceiri, G. L. & H. Green, 1969. Ribosomal RNA synthesis in human-mouse hybrid cells. *J. molec. Biol.* 41: 253-260.
- Ephrussi, B., 1972. Hybridization of somatic cells. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Harris, H., 1970. Cell fusion. Clarendon Press, Oxford.
- Henderson, A. S., D. Warburton & K. C. Atwood, 1972. Localisation of ribosomal DNA in the human chromosome complement. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 3394-3398.
- Johnson, R. T. & P. N. Rao, 1970. Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei. *Nature, Lond.* 226: 717-722.
- Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.
- Rao, P. N. & R. T. Johnson, 1970. Mammalian cell fusion: studies on the regulation of DNA synthesis and mitosis. *Nature, Lond.* 225: 159-164.
- Ringertz, N. R., S. A. Carlsson, T. Ege & L. Bolund, 1971. Detection of human and chick nuclear antigens in nuclei of chick erythrocytes during reactivation in heterokaryons with Hela cells. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 68: 3228-3232.
- Rörsch, A., 1966. Structuur, synthese en functies van nucleïnezuren. In: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.

Interacties tussen virus en cel (J. C. H. de Man)

- Baltimore, D., 1970. Viral RNA-dependent DNA polymerase. *Nature, Lond.* 226: 1209-1211.
- Benjamin, T. L., 1970. Host range mutants of polyoma virus. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 67: 394-399.
- Bentvelzen, P. & J. H. Daems, 1969. Hereditary infections with mammary tumor viruses in mice. *J. natn. Cancer Inst.* 43: 1025-1035.
- Bentvelzen, P., J. H. Daems, Ph' Hageman & G. Calafat, 1970. Genetic transmission of viruses that incite mammary tumor in mice. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 67: 377-384.
- Burger, M. M., K. D. Noonan, J. R. Sheppard, T. O. Fox & A. J. Levine, 1971. Requirements for formation of a surface change after viral infection and the significance of this change for growth control. In: L. G. Silvestri (Ed.): The biology of oncogenic viruses. North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 258-267.
- Crick, F., 1970. Central dogma of molecular biology. *Nature, Lond.* 227:

- Dales, S., 1962. An electron microscope study of the early association between two mammalian viruses and the host. *J. Cell. Biol.* 13: 303-322.
- Dales, S., 1963. The uptake and development of vaccinia virus in strain L. cells followed with labeled vital deoxyribonucleic acid. *J. Cell. Biol.* 18: 51-72.
- Eb, A. J. van der, 1973. Intermediates in type 5 adenovirus DNA replication. *Virology*, 51: 11-23.
- Eckhart, W., 1969. Complementation and transformation by temperature-sensitive mutants of polyoma virus. *Virology* 38: 120-125.
- Fraser, K. B. & E. M. Crawford, 1965. Immunofluorescent and electron-microscopic studies of polyoma virus in transformation reactions with BHK-21 cells. *Exp. molec. Path.* 4: 51-65.
- Gelb, L. D., D. E. Kohne & M. A. Martin, 1971. Quantitation of simian virus 40 sequences in African green monkey mouse and virus-transformed cell genomes. *J. molec. Biol.* 57: 129-145.
- Gilden, R. V., S. Oroszlan & R. J. Huebner, 1971. Coexistence of intraspecies and interspecies-specific determinants on the major structural polypeptides of mammalian C-type viruses. *Nature, Lond. (New Biol.)* 231: 107-108.
- Hanafusa, H., T. Hanafusa & T. Miyamoto, 1971. Avian leukosis-sarcoma viruses: Complementation and rescue. In: L. G. Silvestri (Ed.): *The biology of oncogenic viruses*. North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 170-175.
- Hanafusa, H., D. Baltimore, D. Smolder, K. F. Wason, A. Yaniv & S. Spiegelman, 1972. Absence of polymerase protein in virions of alpha-type rous-sarcoma virus. *Science, N.Y.* 177: 1188-1191.
- Hanafusa, H., 1972. A comment on the existence of tumor virus genes in chicken cells. In: P. Emmelot & P. Bentvelzen (Eds): *RNA Viruses and host genome in oncogenesis* North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 137-142.
- Huebner, R. J. & G. J. Todaro, 1969. Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 64: 1087-1094.
- Law, L. W., 1972. Some characteristics of tumor antigens of virus-induced neoplastic cells and their roles in oncogenesis. In: P. Emmelot & P. Bentvelzen (Eds): *RNA viruses and host genome in oncogenesis*. North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 25-47.
- Lindberg, G. U. & J. E. Darnell, 1970. SV₄₀ specific RNA in the nucleus and polyribosomes of transformed cells. *Proc. natn. Acad. Sci.* 65: 1089-1096.
- Mizutani, S., D. Boettiger & H. M. Temin, 1970. A DNA dependent DNA polymerase and a DNA endonuclease in virions of rous sarcoma virus. *Nature, Lond.* 228: 424-427.
- Mizutani, S., H. M. Temin, M. Kodama & R. T. Wells, 1971. DNA ligase and exonuclease activities in virions of rous sarcoma virus. *Nature, Lond. (New Biology)* 230: 232-235.
- Mizutani, S. & H. M. Temin, 1971. Enzymes and nucleotides in virions of rous sarcoma virus. *J. Virol.* 8: 409-416.
- Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.
- Payne, L. N., 1972. Interactions between host genome and avian RNA tumor

- viruses. In: P. Emmelot & P. Bentvelzen (Eds): RNA virus and host genome in Oncogenesis. North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 93-115.
- Pollack, R. E. & M. M. Burger, 1969. Surface-specific characteristics of a contact-inhibited cell line containing the SV₄₀ viral genome. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 62: 1074-1076.
- Sambrook, J., 1972. Transformation by polyoma virus and simian virus 40. In: G. Klein & S. Weinhouse (Eds): Advances in cancer research. Academic Press, New York/London, p. 141-180.
- Schäfer, W., F. de Noronha, J. Lange & D. P. Bolognesi, 1971. Comparative studies on group-specific antigens of RNA leukaemia virus. In: L. C. Silvestri (Ed.): The biology of oncogenic viruses. North Holland Publishing Company, Amsterdam. p. 116-123.
- Spiegelman, S., A. Burny, M. R. Das, J. Keydar, J. Schlom, M. Travnicek & K. Watson, 1970a. DNA-directed DNA polymerase activity in oncogenic RNA viruses. *Nature, Lond.* 227: 1029-1031.
- Spiegelman, S., A. Burny, M. R. Das, J. Keydar, J. Schlom, M. Travnicek & K. Watson, 1970b. Characterization of the products of RNA-directed DNA polymerase in oncogenic RNA viruses. *Nature, Lond.* 227: 563-567.
- Spiegelman, S., A. Burny, M. R. Das, J. Keydar, J. Schlom, M. Travnicek & K. Watson, 1970c. Synthetic DNA-RNA hybrids and RNA-RNA duplexes as templates for the polymerases of the oncogenic RNA viruses. *Nature, Lond.* 228: 430-432.
- Temin, H. M., 1964. Nature of the provirus of rous sarcoma. *Natn. Cancer Inst. Monogr.* 17: 557-570.
- Temin, H. M. & S. Mizutani, 1970. RNA-dependent polymerase in virions of rous sarcoma virus. *Nature, Lond.* 226: 1211-1213.
- Wall, R. & J. E. Darnell, 1971. Presence of cell and virus specific sequences in the same molecules of nuclear RNA from virus transformed cells. *Nature, Lond. (New Biology)* 232: 73-76.
- Weiser, R. S., Q. S. Myrvik & N. N. Pearsall, 1970. Fundamentals of immunology. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Westphal, H. & R. Dulbecco, 1968. Viral DNA in polyoma and SV₄₀-transformed cell lines. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 59: 1158-1165.

Secretie van groot-moleculaire stoffen

(M. F. Kramer)

- Bowless, D. J. & D. H. Northcote, 1972. The sites of synthesis and transport of extracellular polysaccharides in the root tissues of maize. *Biochem. J.* 130: 1130-1145.
- Case, R. M., M. Johnson, T. Scratcherd & H. S. A. Sherrat, 1972. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate concentration in the pancreas following stimulation by secretin, cholecystokinin-pancreozymin, and acetylcholine. *J. Physiol.* 223: 669-684.
- Dean, P. M. & E. K. Matthews, 1972. Pancreatic acinar cells: measurement of membrane potential and miniature depolarization potentials. *J. Physiol.* 225:

- Geuze, J. J., M. F. Kramer & J. C. H. de Man, 1974. Membranes of the endoplasmic reticulum and the secretory system and their role in plasma membrane regulation. In: Mammalian cell membranes, vol. 2. Butterworths, London. 1974.
- Geuze, J. J. & C. Poort, 1973. Cell membrane resorption in the rat exocrine pancreas cell after in vivo stimulation of the secretion, as studied by in vitro incubation with extracellular space markers. *J. Cell Biol.* 57: 159-174.
- Jamieson, J. D. & G. E. Palade, 1967. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell, I and II. *J. Cell Biol.* 34: 577-615.
- Jamieson, J. D. & G. E. Palade, 1968. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell, III and IV. *J. Cell Biol.* 39: 580-603.
- Jamieson, J. D. & G. E. Palade, 1971. Synthesis, intracellular transport, and discharge of secretory proteins in stimulated pancreatic exocrine cells. *J. Cell Biol.* 50: 135-158.
- Kramer, M. F. & C. Poort, 1972. Unstimulated secretion of protein from rat exocrine pancreas cells. *J. Cell Biol.* 52: 147-158.
- Kramer, M. F. & J. J. Geuze, 1974. Redundant cell membrane regulation in the exocrine pancreas cells after pilocarpine stimulation of the secretion. *Advances in cytopharmacology* 2. Raven Press, New York. (in druk).
- Melchers, F., 1971. Biosynthesis of the carbohydrate portion of immunoglobulin. *Biochem. J.* 125: 241-247.
- Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen.
- Smith, R. E. & M. G. Farquhar, 1966. Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. *J. Cell Biol.* 31: 319-347.
- Vian, B. & J. -C. Roland, 1972. Différenciation des cytomembranes et renouvellement du plasmalemme dans les phénomènes de sécrétions végétales. *J. Microsc.* 13: 119-136.
- Watson, J. D., 1968. The double helix. Weidenfeld & Nicolson, London.

Opnameprocessen en grensvlakken

(W. Th. Daems)

- Barrett, A. J., 1971. The biochemistry and function of mucosubstances. *Histochem. J.* 3: 213-221.
- Benedetti, E. C. & D. Delbauffe, 1971. The plasma membrane as a model of complex organization of biological structures. In: G. W. Richter & D. C. Scarpelli (Eds): Cell membranes, biological and pathological aspects. Williams & Wilkins Cy., Baltimore. p. 54-83.
- Bennett, H. S., 1969a. The cell surface: components and configurations. In: A. Lima-de-Faria (Ed.): Handbook of molecular cytology. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 1261-1293.
- Bennett, H. S., 1969b. The cell surface: movements and recombinations. In:

- A. Lima-de-Faria (Ed.): Handbook of molecular cytology. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 1294-1319.
- Cohn, Z. A. & M. E. Fedorko, 1969. The formation and fate of lysosomes. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. I. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 43-63.
- Cohn, Z. A., 1971. Endocytosis and the vacuolar system. In: G. W. Richter & D. C. Scarpelli (Eds.): Cell membranes, biological and pathological aspects. Williams & Wilkins Cy., Baltimore. p. 129-135.
- Coleman, R. & J. B. Finean, 1973. The cell-surface membrane. *Comp. Biochem.* 23: 99-121.
- Daems, W. Th., E. Wisse & P. Brederoo., 1969. Electron microscopy of the vacuolar apparatus. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds.): Lysosomes in biology and pathology, vol. I. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 64-112.
- Daems, W. Th., 1974a. Electronenmicroscopie; principes en toepassingen. In: M. van der Ploeg & W. Th. Daems (Eds): Methoden voor medisch-biologisch onderzoek, vol. II. Universitaire Pers Leiden.
- Daems, W. Th., 1974b. Electronenmicroscopische cytochemie. In: M. van der Ploeg & W. Th. Daems (eds.): Methoden voor medisch-biologisch onderzoek, vol. II. Universitaire Pers Leiden.
- Duve, C. de, 1963. Endocytosis. In: A. de Reuck & M. Cameron (Eds): Ciba symposium on lysosomes. J. A. Churchill Ltd., London. p. 126.
- Duve, C. de, 1969. The lysosome in retrospect. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. I. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. 3-43.
- Elbers, P. F., 1964. The cell membrane: image and interpretation. In: J. F. Danielli, (Ed.): *Recent Prog. Surf. Sci.* 2: 443-501.
- Ericsson, J. L. E., 1969. Mechanism of cellular autophagy. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. II. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 345-394.
- Farquhar, M. C., 1969. Lysosome function in regulating secretion: disposal of secretory granules in cells of the anterior pituitary gland. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. II. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 462-482.
- Hers, H. G. & F. van Hoof, 1969. Genetic abnormalities of lysosomes. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. II. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 19-40.
- Jacques, P. J., 1969a. Endocytosis. In: J. T. Dingle & H. B. Fell (Eds): Lysosomes in biology and pathology, vol. II. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 395-421.
- Jacques, P. J., 1969b. Lysosomes and homeostatic regulators. In: G. E. W. Wolsten-Holme & J. Knight (Eds): Ciba Symposium on 'Homeostatic regulators'. Churchill Ltd., London. p. 180.
- Kraemer, P. M., 1971. Complex carbohydrates of animal cells: biochemistry and physiology of the cell periphery. In: L. A. Menon (Ed.): Biomembranes, vol. I. Plenum Press, New York, p. 67-190.
- Lewis, W. H., 1931. Pinocytosis. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 49: 17.
- Marchesi, V. T., 1971. Some properties of membrane glycoproteins. In:

- G. W. Richter & D. C. Scarpelli (Eds): Cell membranes, biological and pathological aspects. Williams & Wilkins Cy., Baltimore. p. 145-150.
- McNutt, S. N. & R. S. Weinstein, 1973. Membrane ultrastructure at mammalian intercellular junctions. In: J. A. V. Butler & D. Noble (Eds): *Prog. biophys. molec. Biol.* 26: 45-102.
- Metchnikoff, C., 1883. Untersuchungen über die mesodermalen Phagocyten einiger Wirbeltiere. *Biol. Zbl.* 3: 360-366.
- Moor, H., 1969. Freeze-etching. *Int. Rev. Cytol.* 25: 391-412.
- Mühlenthaler, K., 1971. Studies on freeze-etching of cell membranes. *Int. Rev. Cytol.* 31: 1-19.
- North, R. J., 1970. Endocytosis. *Sem. Hematology* 7: 161-171.
- Northcote, D. H., 1973. The Golgi complex. In: E. E. Bittar (Ed.): Cell biology in medicine. John Wiley & Sons, New York, p. 197-214.
- Parsons, D. F. & J. R. Subjeck, 1972. The morphology of the polysaccharide coat of mammalian cells. *Biochem. biophys. Acta* 265: 85-113.
- Rambourg, A., 1971. Morphological and histochemical aspects of glycoproteins at the surface of animal cells. *Int. Rev. Cytol.* 31: 57-114.
- Richter, G. W. & D. C. Scarpelli (Eds), 1971. Cell membranes, biological and pathological aspects. Williams & Wilkins Cy., Baltimore.
- Robertson, J. D., 1973. The organization of cell membranes. In: E. E. Bittar (Ed.): Cell biology in medicine. John Wiley & Sons, New York/London/Sydney/Toronto. p. 1-48.
- Schoffeniels, E., 1969. Cellular aspects of membrane permeability. In: A. Lima-de-Faria (Ed.): Handbook of molecular cytology. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 1346-1372.
- Sjöstrand, F. S., 1971. Molecular structure and function of cellular membranes. In: G. W. Richter & D. C. Scarpelli (Ed.): Cell membranes, biological and pathological aspects. Williams & Wilkins Cy., Baltimore. p. 1-29.
- Stockem, W. & K. E. Wohlfahrt-Bottermann, 1969. Pinocytosis (endocytosis). In: A. Lima-de-Faria (Ed.): Handbook of molecular cytology. N.H. Uitgevers Mij., Amsterdam/London. p. 1373-1402.
- Wessells, N. K., B. S. Spooner, J. F. Ash, M. O. Bradley, M. A. Luduena, E. L. Taylor, J. T. Wrenn & K. M. Yamada, 1971. Microfilaments in cellular and developmental processes. *Science, N.Y.* 171: 135-143.
- Whaley, W. G., M. Dauwalder & J. E. Kephart, 1972. Golgi apparatus: Influence on cell surfaces. *Science, N.Y.* 175: 596-599.

Informatieoverdracht

(J. F. Jongkind)

- Eränkő, O. (Ed.), 1971. Histochemistry of nervous transmission. *Progr. Brain Res.* 34.
- Furshpan, E. J. & D. D. Potter, 1968. Low resistance junctions between cells in embryos and tissue culture. *Curr. Topics Devel. Biol.* 3: 95-127.
- Haan, R. L. de & H. G. Sachs, 1972. Cell coupling in developing systems. *Curr. Topics Devel. Biol.* 7: 193-228.

- Hall, Z. W., 1972. Release of neurotransmitters and their interaction with receptors. *A. Rev. Biochem.* 41: 925-952.
- Holtzman, E., S. Teichberg, S. J. Abrahams, E. Citkowitz, S. M. Crain, N. Kawai & E. R. Peterson, 1973. Notes on synaptic vesicles and related structures, endoplasmic reticulum, lysosomes and peroxisomes in nervous tissue and the adrenal medulla. *J. Histochem. Cytochem.* 21: 349-385.
- Ito, S. & N. Hori, 1966. Electrical characteristics of Triturus egg cells during cleavage. *J. gen. Physiol.* 49: 1019-1027.
- Katz, B., 1966. Nerve, muscle and synapse. McGraw Hill Book Co., New York.
- Loewenstein, W. R., 1970. Intercellular communication. *Scient. Am.* 222: 78-86.
- Nauta, W. J. H. & H. J. Karten, 1970. A general profile of the vertebrate brain with sidelights on the ancestry of cerebral cortex. In: Schmidt, F. O. (Ed.): The neurosciences, 2nd study program. Rockefeller University Press, New York.
- Revel, J. P. & M. J. Karnovsky, 1967. Hexagonal array of subunits in intercellular functions of the mouse heart and liver. *J. Cell Biol.* 33: C7-C12.
- Revel, J. P., W. Olson & M. J. Karnovsky, 1967. A twenty-Angstrom gap junction with a hexagonal array of subunits in smooth muscle. *J. Cell Biol.* 35: 112A.
- Robertis, E. D. P. de, W. W. Nowinsky & F. A. Saez, 1970. Cell biology. W. B. Saunders Co., Philadelphia/London.
- Schadé, J. P. & D. H. Ford, 1971. Basic neurology. Elsevier, Amsterdam.

Cyclisch AMP als schakel en hormoon (Th. M. Konijn)

- Black, M. & J. Edelman, 1970. Plant growth. Harvard University Press, Cambridge.
- Bonner, J. T., 1969. Hormones in social amoebae and mammals. *Scient. Am.* 220: 78-91.
- Clegg, P. C. & A. C. Glegg, 1969. Hormones, cells and organisms. Stanford University Press, Stanford.
- Greengard, P. & E. Costa, 1970. Role of cyclic AMP in cell function. Raven press, New York.
- Konijn, T. M., 1972. Cyclic AMP as a first messenger. *Adv. Cyclic nucl. Res.* 1: 17-31. Raven Press, New York.
- Krans, H. M. J., 1972. Hoe werken hormonen? *Intermediair* 8: 25-29.
- Kuyper, C. M. A., 1972. Cyclisch AMP: de tweede boodschapper. *Vakbl. Biol.* 52: 154-158.
- Newell, P. C., 1971. The development of the cellular slime mould *Dictyostelium discoideum*: A model system for the study of cellular differentiation. *Essays Biochem.* 7: 87-126.
- Pastan, E., 1972. Cyclic AMP. *Scient. Am.* 227: 97-105.
- Rasmussen, H., 1970. Cell communication, calcium ion, and cyclic adenosine monophosphate. *Science N.Y.* 170: 404-412.

- Robison, G. A., R. W. Butcher & E. W. Sutherland, 1971. Cyclic AMP. Academic Press, New York.
- Sawin, C. T., 1969. The hormones. Little Brown, Boston.
- Wareing, P. F. & I. D. J. Phillips, 1970. The control of growth and differentiation in plants. Pergamon Press, Oxford.

Celbiologie in het onderwijs

(C. J. H. van den Broek)

- Ausubel, D. P. 1963. The psychology of meaningful verbal learning. Gunne & Stratton, New York.
- Bittar, E. E. & N. Bittar, 1968. The biological basis of medicine, vol. I, p. viii. Academic Press, New York. 590 p.
- Brumer, J. 1960. The process of education. Harvard University Press, Cambridge (Mass.) p. 24.
- Eindexamenprogramma biologie MAVO-HAVO-VWO, 1970. Circulaire AVO 70-93 dd. 27 nov. 1970. Ministerie van onderwijs en wetenschappen.
- Falk, D. F. 1971. Biology teaching methods. Wiley, New York. 291 p. (Een Nederlandse bewerking door F. D. Keuchenius en H. J. Saaltink verschijnt 1974 bij Wolters-Noordhoff, Groningen.)
- Herk, A. W. H. van, 1966. Nabeschouwing. In: Ontwikkelingen in de moleculaire biologie (1966) p. 174-177.
- Interpretatie van de examenstof biologie voor het schriftelijk eindexamen MAVO-HAVO-VWO, 1972. Circulaire AVO 72-64 dd. 3 nov. 1972. Ministerie van onderwijs en wetenschappen.
- Klinckmann, E. (Ed.) 1970. Biology teachers' handbook. Biological science curriculum study. 2nd ed. Wiley, New York. 585 p.
- Ontwikkelingen in de moleculaire biologie, 1966 (ongewijzigde herdrukken in 1967, 1970 en 1972). Pudoc, Wageningen. 202 p.
- Seljelid, R., A. Reith & K. F. Nakken, 1970. The early phase of endocytosis in rat thyroid follicle cells. *Laboratory Investigation* 23: 595-605.
- Syllabus ter voorbereiding van de vijfde proeftoets biologie, 1973. Commissie modernisering leerplan biologie. Werkgroep toetsing. 40 p.

Register

- acetylcholine 131, 132, 186-189, 191
- Acrasieae 210, 213-215, 218
- actinomycine D 32
- adenosine difosfaat, zie ADP
- adenosine trifosfaat, zie ATP
- adenovirus 92, 93, 97
- adenylaacyclase 205, 207, 208, 210-211
- adenylcyclase 31
- ADP (adenosine difosfaat) 207
- adrenaline 31, 200, 206-207
- agglutineren 96
- algen 43, 47, 49
- alkoholen 26
- aminozuur 115 e.v.
 - radioactief - 121, 122, 129, 134
- aminozuurmolekuul, afmetingen - 10
- amitose 57
- amoeben 213, 214, 219
- anabole processen 30
- antigenen
 - groeps-specifieke (gs-) - 110
 - tumor-(T-) 93, 94
 - tumor-specifieke transplantatie-(TSTA) 103
- antilichaam 21
- atmosfeer 19, 20
- ATP (adenosine trifosfaat) 31, 127, 133, 191, 205-209
- ATP-ase activiteit 17
- autofagie 175
- autoradiografie 13, 64
 - elektronenmicroscopische - (EMA) 122
- auxinen 201, 205
- aviarie leucosevirus (ALV) 110
- Bacillus subtilis* 44
- bacteriën 44, 49
 - enzymactiviteit in - 211
- Barr, lichaampje van - 53
- basesequenties, homologe - 100
- biomembraan 24, 25
- boodschappermolekulen, zie transmitters
- Britten en Davidson, model van 35
- 'budding particles' 105
- calcium-ionen 37, 127, 133
- cAMP (cyclisch adenosine 3',5'-monofosfaat) 31, 99, 127, 132, 199, 205 e.v.
 - regulatie van -gehalte 210
 - schakelfunctie van - 205 e.v.
- capside 86
- carcinogenen, chemische - 99
- catecholaminen 190
- caveolae 133
- cel
 - afmetingen van - 10, 115
 - definitie van - 11
 - dynamische aspecten van - 27
 - getransformeerde - 99 e.v.
 - grensvlak van - 148 e.v.
- celaggregatie 214-218
- celbegrip 7, 11, 27, 38-42
- celbiologie 10
 - algemene en speciële - 7
- celfractionering 120, 123
- celfusie 26, 65-85
- celfysiologie 10
- celhybridisatie 65-85
- celleer 39, 40

- cellulaire energietransformaties 36 e.v.
 celtheorie 39, 40
 celtransformatie 91
 celtypen 7, 20, 224
 centrifugatie, (ultra- 14, 15, 120
 differentiële- 123, 124
 gradiënt- 124
 centriolen 22, 55
 centromeergebied 55, 56
 chemotaxis 213-218
 chloroplasten 10, 19, 25
 choline 191
 chromatine 21, 52, 75
 hetero- 53
 chromosomen 34, 51, 53, 55, 65
 cisternen 22, 25, 115-119 (zie ook
 Golgi-cisternen)
 'coated vesicles' 136, 140, 141, 161
 colchicine 15-17
 compartimentalisatie, cellulaire- 24,
 47
 computeranalyse 14
 concentratievacuolen 117-119, 135,
 136, 141
 condensatiegraad 35
 contactinhibitie 99
 crinofagie 175, 176
 cytochalasine B 84
 cytochemie, (enzym- 13
 cytokinesis 46
 cytokininen 201, 202, 212
 cytologie 10
 cytopempsis 162
 cytoplasma 12, 63 e.v., 92
- Danielli-Davson-model 153
 delingscyclus 79-81 (zie ook mitose)
 delingsspoel 15
 diacytose 162
 dictyosomen 22, 118 (zie ook Golgi-
 stapels)
Dictyostelium discoideum, levens-
 cyclus van- 214, 217
 diffusie 29
 dinoflagellaten 60
 DNA (desoxyribonucleïnezuur) 33,
- 46, 48, 51, 52, 54, 63
 extranucleair- 61
 mitochondrionaal- (mtDNA) 61
 DNA-virussen 86, 90 e.v.
 Dobell 40
 DOPA-oxidase 71
Drosophila 197
- eiwitten 63, 77, 114 e.v.
 samengestelde- 143 e.v.
 eiwitkinasen 208
 elektronenmicroscopie 10, 14, 44, 45,
 55, 120, 176, 192
 fixatie en kleuring bij- 150, 153,
 176
 vries-etsen bij- 177
 embryo 198
 endocriene systeem 178
 endocytose 149, 157
 endogeen 11
 endogenie 39
 endoplasmatisch reticulum (ER) 116
 ruw ('rough')- (RER) 18, 21, 22,
 25, 116-119, 135, 136, 166
 glad ('smooth')- (SER) 21-23,
 116
 endoplasmatische ruimte 148, 149,
 157, 166 e.v.
 endosymbiont-hypothese 62
 energietransformatie 36
 enzymen 66-83, 205 (zie ook afzon-
 derlijke namen)
 epigenetische mechanismen 113
 episomale toestand 98
 epitheelcellen 196
 ER, zie endoplasmatisch reticulum
 erythrocyten 36
 kippe- 75-84
Escherichia coli 34, 49, 211
 esterase-2 (Es-2) 73, 74
 eubacteria 47
 euchromatine 35
 eukaryoten 10, 18-20, 34, 38, 43 e.v.
 morfologie van- 20 e.v.
 evertebraten 194, 195, 197
 evolutie, cellulaire- 18 e.v., 43
 exantheen 89

- exocytose 126 e.v., 149, 188, 189
- exogenie 39
- exoplasmatische ruimte 148, 149, 167 e.v.
- 'factory' 92
- fagocyt 45
- fagocyteren 8, 92
- fagocytose 19, 25, 157, 158
- fagosoom 169, 171, 172
- fasecontrastmicroscopie 13
- ferritine 142, 143
- fibril, elementair – 51–53, 55
- flagellen 47
- fluorescentiemicroscopie 14
- folinezuur 218
- fosfodiesterase 210
- fosforglucomutase 1 (PGM₁) 66–69
- 6-fosfogluconaathydrogenase (6PGD) 66, 68, 70
- fotosynthese 48
- fungi 47
- 'gap junction' 164, 192–198
- genlokalisatie 69.
- genen 34–36, 60, 63 e.v., 107, 205, 211
- generatie-cyclus 54
- genetica 11 (zie ook genen)
- genetische redundantie 34
- genexpressie 69–85
- genofoor 46
- genoom 63 e.v.
- Gibberella fujikuroi* 202
- gibberellinen 201, 202
- glycocalyx 26, 149–151, 162
- glyco-lipoproteïnen 144
- glycoproteïnen 102, 144, 145
- glucogeen 206
- glucagon 31, 203, 207
- glucosegehalte in het bloed 203–205
- Golgi
 - apparaat 22, 23, 149, 164, 166
 - blaasjes 117–120
 - cisterne 117–120, 145
 - gebied 135, 136
 - stapel 117, 118, 120
 - systeem 117–120, 166, 167
- Haeckel 40
- HeLa-cel 36, 75–84
- helpervirus 110
- heterochromatine 34
- heterokaryon 75
- histonen 52, 54
- Hooke 38, 39
- hormonen 31 e.v., 131
 - dierlijke – 199, 201
 - groei– 204
 - plante (fyto)– 201, 202, 205
 - steroid– 204, 211
 - werking van – 202 e.v.
- 'host range' 109
- hybridisatietechnieken
 - cel– 36
 - moleculaire – 94
 - somatische – 36
- hypofysekwab 131
 - mammotrope cellen van – 129
- hypothalamus 131
- hypoanthine-guanine-fosforibosyl transferase (HGPRT) 71, 83
- immunofluorescentie 93
- immunoglobuline 135
- incubatietijd 89
- indolazijnzuur 202
- informatieoverdracht 178 e.v.
 - chemische – 180 e.v.
 - elektrische – 192 e.v.
- informatieverwerking, genetische en niet-genetische – 32 e.v.
- initiatiefase bij virusinfectie 90 e.v.
- insuline 131, 203
- 'integrator-gen' 35
- interstitiële cel van de testis 22
- isoënzymen 69
- Jacob en Monod, model van 34

karyolymfe 52
 karyoplasma 57
 katabole processen 30
 kern 21, 34, 41, 42, 46, 48, 57, 63, 92
 polyploïde – 57
 –poriën 53, 58–60
 kerntransplantatie 33
 kinocilia 47
 kippesarcoom 106

lamina densa 60
 lanthanumzouten 143, 192
 lectinen 102
 Leeuwenhoek, Van 38, 39
 leucosevirus 107, 110, 112
 lichtmicroscop 13, 44, 45
 domein van – 10
 lipiddruppels 22
 lipoproteïnen 144
 lymfklieren 7
 lymfoblasten 8
 lymfocyten 8
 lysosomen 50, 129, 141–143, 169–176
 primaire – 171
 secundaire – 174

macrofagen 8
 mamma-tumorfusie bij muizen 107,
 112
 melkzuurdehydrogenase (LDH) 69
 membraan 10, 24, 41, 115, 126, 132
 e.v., 188, 192
 bio– 24, 25
 biologische – 150 e.v.
 membraanfusie 25 e.v., 155, 157, 167,
 188
 mesokaryoten 61
 mesosomen 50, 60
 metozoa 47
 microfilamenten 133
 microsomen 124, 125
 microtubuli 15–18, 55, 133
 microvilli 150, 169
 milieu van de cel 7, 8, 28 e.v.
 mitochondriën (mitochondria) 10, 22,
 47, 61, 124

mitose 15–17, 50, 54, 55
 moleculaire processen in de cel 9
 'monolayer' 122
 morfogenese 213, 218
 motorische eindplaat 184, 185, 187
 'multivesicular bodies' (MVB) 137
 mutatie 91
 mycobacteria 47
 mycoplasma 47
 myxobacteria 47

necrose 89
 neuronen 178 e.v.
 neurotransmitters 131
 'nexus' 164
 nonhiston-eiwitten 52
 'non-permissive' cellen 98
 noradrenaline 131, 132, 186, 190,
 191, 200
 nucleoid 46, 48, 49, 60
 nucleolus 21, 81 (zie ook kern)
 'nucleolus organizer regions' 82, 84
 oncornavirussen 106
 operon 64
 organogenese 89

pancreozymin 131, 132
 'permissive' cellen 98
 peroxidase 143
 pentose-fosfaatketen 69
 'phenotypic mixing' 109, 110
 pilocarpine 135
 pinocytose 8, 25, 157, 158, 161
 macro– 157, 160, 161
 micro– 160, 161
 plasmacel 21
 plasmamembraan 149, 150, 153, 155
 e.v., 166 (zie ook membraan)
 pleuropneumonia-achtige organis-
 men (PPLO) 49
 polarisatie
 de– 132
 hyper– 132
 polyomavirus 97 e.v.

- microscopie 13
- polysomen 115
- prokaryoten 10, 18-20, 34, 38, 43 e.v.
- repressie- en inductieverschijnselen bij - 34
- 'promotor site' 95
- protozoa 47
- pseudoplasmodium 214
- receptormolekulen 131, 134
- recombinatie 69
- ribonucleïnezuur, zie RNA
- ribosomen 10, 22, 47, 49, 50, 61, 63, 70, 115, 166
- rickettsiae 47
- rijpingsfase bij virusinfectie 90 e.v.
- reflexboog 178
- 'residual body' zie restlichaampje
- RER, zie endoplasmatisch reticulum, ruw
- restlichaampje 174
- reticulair bindweefsel 8
- RNA (ribonucleïnezuur) 48, 63, 64, 81, 115
 - boodschapper- (messenger) (mRNA) 64, 69, 82, 115 e.v.
 - ribosomaal - (rRNA) 60, 70, 82
 - polymerase 205
- RNA-virussen 86, 103 e.v.
 - oncogene - 105-107, 109
- Rous-sarcoomvirus (RSV) 107, 109-111
- sarcolemma 37
- Schultze 41
- secreetkorrels 26, 120, 121, 126, 129, 133, 136
- secretie 114 e.v., 155, 166, 210
 - gestimuleerde - 130 e.v., 136
 - ongestimuleerde of nuchtere - 128
- 'septate desmosomes' 193, 194
- SER, zie endoplasmatisch reticulum, glad
- signaalstoffen 32
- skeletspiervezel 36
- spirocheten 47
- spoeldraden 15-17
 - dessamblage-ressemblage hypo- these bij - 17, 18
- spoelfiguur 55
- stereolen 200, 201
- stofwisseling, intermediaire 30
- streptomyceten 47
- SV₄₀-virus 87 e.v.
- synaps 30, 178, 182, 185
- synapsmodel
 - dynamisch - 187 e.v.
 - statisch - 180 e.v.
- synapsomen 186
- synthese, vectoriële - 117
- 'target'-organen 88, 89
- theofylline 210
- thymidine-kinase 71, 72
- 'tight junction' 30, 192, 193
- transcriptie 32, 33, 48, 66, 74
 - en eiwitsynthese 92 e.v.
 - omgekeerde - 108
- transferasen 145
- transformatie
 - door DNA-virus 98 e.v.
 - door RNA-tumorfus 107
- translatie 33, 66, 74
- transmissie, horizontale en verticale 111
- transmitters (neurotransmitters) 178 e.v.
 - vorming van - 190, 191
- transport 149
 - actief - 29, 30
 - energie 29
 - intracellulair - 116, 134
- ts- (temperatuurgevoelige) mutanten 101
- tumor 106, 179, 198, 210, 212
 - virussen 86 e.v.
- vacciniavirus 92, 93
- vasopressine 200, 204
- vertebraten 64, 197
- vetzuren 26

viraemie 88, 89	virusinfectie 86 e.v.
Virchow 40	
virion 42, 86	
virus(sen) 42 (zie ook afzonderlijke namen)	weefselkweek 14
afmetingen van – 10, 86	
oncogene – 86	X-chromosomen 53, 54, 56, 69
vegetatief – 91	
virusassemblage 96 e.v.	
virusassociatie met de cel 91	zenuwcellen, zie neuronen
virus-DNA 95 e.v.	zenuwstelsel, centrale – 178 e.v.
virusgenoom 91	zwavelbruggen 16

In dit register wordt niét verwezen naar de pagina's van het Glossarium (p. 239–249), waar een aantal begrippen in het kort worden verklaard.