

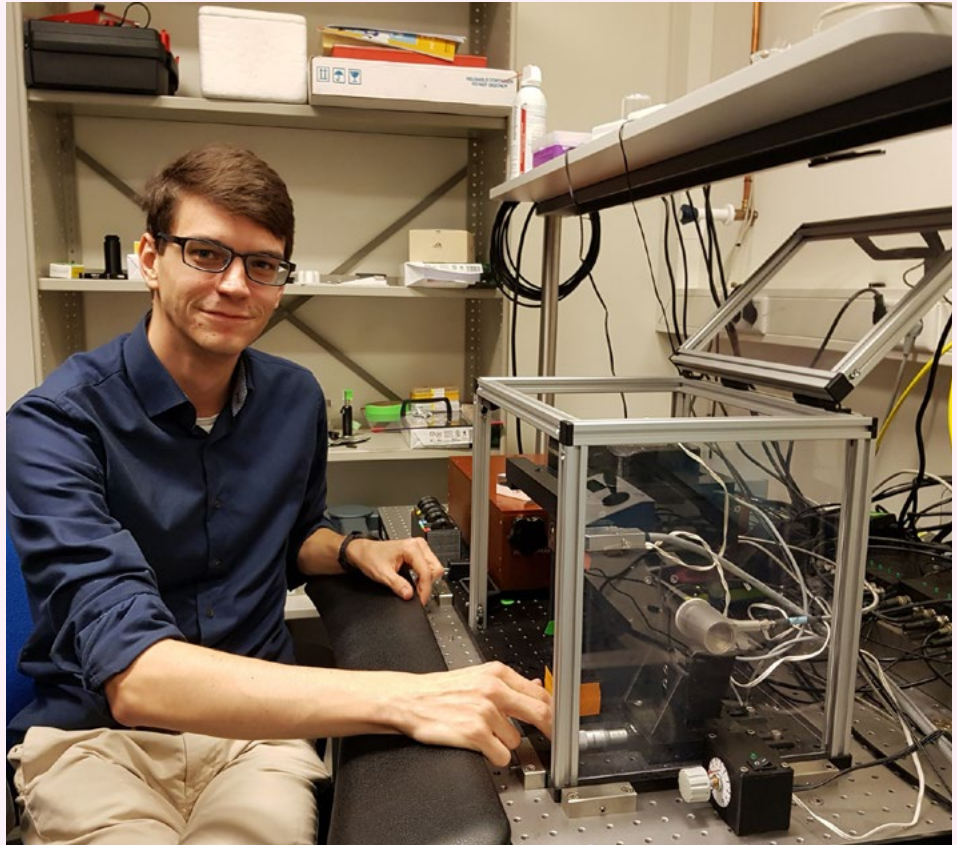
Microscoop maakt knippen in genen zichtbaar

Crispr-Cas knipt op bestelling genen. Met een zelfontwikkelde microscoop kan Koen Martens het proces op de voet volgen.

Voor Koen Martens kwam de toekenning van de Nobelprijs aan de Crispr-Cas-techniek vorige week precies op tijd. Een dag later verdedigde hij (cum laude) zijn proefschrift, waarin het genetische knipschaartje Cas9 een belangrijke rol speelt. Zijn zelf-ontwikkelde microscoop *miCube* maakt letterlijk zichtbaar hoe Cas9 het DNA afstruint. *Single-particle-tracking-microscopy* heet die techniek. Daarbij gaat het om het volgen van één enkel (macro)molecuul. Het principe van de techniek bestaat al ruim tien jaar. Martens verbeterde de techniek en paste die toe in een levende cel. Hij bouwde er bovendien een volledig *open-source*-microscoop voor. Het apparaat wordt al op acht plekken in de wereld gebruikt.

Knipperlichtjes

Individuele eiwitten kun je onder een microscoop volgen door er een lampje aan te hangen. In dit geval een knipperend fluorescerend eiwit. Martens en collega's bouwden melkzuurbacteriën zo om dat ze dCas9 (Cas zonder de knipfunctie) met zo'n lampje maken. In de bacterie zijn daardoor constant zo'n 400-500 van die knipperlichtjes actief. Dat levert een pandemonium aan knipperende lichtvlekjes op. Martens ontwikkelde daarop een nieuw algoritme dat heel nauwkeurig de locatie van de lichtjes kan bepalen. Nog meer rekenwerk leidt vervolgens tot



Koen Martens met zijn zelfontwikkelde microscoop. Foto Roelof Kleis

In principe kun je elk eiwit op deze manier in een levend systeem volgen. Dat kon tot nu nog niet

het kunnen volgen van de route van het lichtgevende eiwit in de cel. Daarbij blijkt dat het Cas9 langs het DNA springt op zoek naar de plekken waar hij moet zijn. Om precies te zijn: het zoekt PAM, korte stukjes code die onontbeerlijk zijn voor het knippen.

Eiwit volgen

Uit Martens onderzoek blijkt dat Cas9 gemiddeld 17 milliseconden aan het PAM plakt, voordat het weer loslaat en verder zoekt. Dat gebeurt zo'n 25 keer

per seconde. 'Het leuke is', zegt Martens, 'dat je hier de dynamiek tussen Cas9 en het infecterende virus kunt beschrijven. Je kunt uitrekenen hoe lang het duurt voordat één Cas9 het virus vindt, of hoeveel Cas9 er moet zijn om het virus onschadelijk te maken voordat het zich vermenigvuldigt.'

'Daarnaast kun je bijvoorbeeld voorspellen hoeveel CrisprCas9 je moet gebruiken om genen te modificeren', zegt Martens. De toepassingen van deze vorm van microscopie zijn legio. 'In principe kun je elk eiwit op deze manier in een levend systeem volgen. Dat kon tot nu nog niet.' Koenen heeft inmiddels een aanstelling als postdoc op zak aan de prestigieuze Carnegie Mellon University in Pittsburg (Pennsylvania). Daar werkt hij verder aan toepassingen van deze techniek. ^{RK}