

## **Cellen in een ander licht zien**

Prof.dr.ir. A.J. Koster

Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders

### **Weefsel, cellen en eiwitten**

Ieder van u is opgebouwd uit meer dan 100 miljard cellen. Door dit kunstige bouwwerk van cellen bent u tot allerlei activiteiten in staat. U kunt eten, slapen, lopen, luisteren, nadenken en nog veel meer. Al deze cellen zijn gevormd met slechts één bouwplan voorhanden: uw DNA. En uit één cel zijn heel veel verschillende cellen ontstaan. Het eindresultaat zag u vanmorgen in spiegel. Bravo. Een knap stukje bouwwerk. Een duidelijk voorbeeld van ‘Survival of the Fittest’.

Cellen zijn zeer complex, en bestaan uit weer vele kleinere onderdelen: organellen en moleculen zoals eiwitten en DNA. Het goed functioneren van cellen, en van weefsels en organen die uit cellen zijn opgebouwd, is van groot belang voor uw gezondheid. Ziekte begint op het moment dat er iets mis is met een cel, of doordat er iets mis gaat met de communicatie tussen cellen, of door kwaadaardige indringers.

Het bestuderen van cellen, hun opbouw, hun functioneren en hun interactie met indringers als virussen en bacteriën is van groot belang voor de geneeskunde. Vele verschillende disciplines houden zich hiermee bezig, ook binnen de afdeling Moleculaire Cel Biologie, waar mijn leerstoel deel van uitmaakt.

Dames en heren, de titel van mijn leerstoel luidt: “Ultrastructurele en moleculaire beeldvorming”. Met deze lezing hoop ik u iets meer inzicht te geven in wat dit precies inhoudt.

Deze titel bevat een drietal voor u mogelijk onduidelijke woorden waar ik even stil bij wil staan. Met het eerste woord, ultrastructuur, wordt de opbouw, de structuur, van cellen bedoeld. Het tweede woord, moleculair, geeft aan dat niet alleen cellen worden

bestudeerd, maar ook de allerkleinste moleculaire onderdelen van cellen, moleculen zoals DNA, RNA, lipiden en eiwitten.

Ten slotte het derde woord, beeldvorming. Beeldvorming kan zowel letterlijk als figuurlijk gezien worden. Letterlijk, in de zin van het kunnen maken van beelden, van afbeeldingen. Hierbij staat microscopie centraal, die het mogelijk maakt de kleine cellen en eiwitten zichtbaar te maken. Hiertoe maken we gebruik van verschillende vormen van microscopie, waaronder elektronenmicroscopie.

Deze vormen van microscopie zijn complex, en er is kennis uit verschillende vakgebieden nodig. Zo is kennis van de natuurkunde en informatica nodig om de werking van de microscopen te begrijpen en te verbeteren, maar ook kennis van scheikunde en biologie om de cellen en moleculen op een bepaalde manier te kunnen bewerken zodat ze doeltreffend afgebeeld kunnen worden.

Beeldvorming kan ook in figuurlijke zin gezien worden. Het kunnen begrijpen, inbeelden, verbeelden, van de wijze waarop uw lichaam, weefsels, cellen en eiwitten opgebouwd zijn, en hoe de kleine onderdelen hun taak verrichten.

Even samenvattend. Een belangrijk doel van de leerstoel is om methoden te ontwikkelen om kleine cellen, celstructuren, en eventuele virussen en bacteriën, te kunnen onderzoeken met microscopie.

Dames en heren, heeft u er wel eens bij stil gestaan hoe belangrijk het is om iets te kunnen zien om te kunnen begrijpen hoe het werkt? Dat het heel belangrijk is om een beeld voor ogen te hebben van hoe iets eruit ziet?

Neem het plakken van een fietsband. Stelt u zich voor dat u slechts woorden tot uw beschikking heeft om aan iemand uit te leggen wat de manier is om een band te plakken. Bijvoorbeeld al sprekende door de telefoon. Met heel veel woorden, en heel veel geduld, zult u wellicht vertellen over het ventiel, de plaats waar de bandenlichters onder de buitenband gewrikt horen te worden, en over het vaak voorkomend probleem van het niet kunnen vinden van het gaatje.

Hoeveel duidelijker is uw uitleg als u er één foto bij kunt laten zien. U kunt dan bijvoorbeeld aanwijzen wat een ventiel of een bandenlichter eigenlijk zijn.

Zo zijn beelden ook van groot belang in de wetenschap en de kliniek. Voorbeelden te over. Röntgenfoto's van een gebroken been, maar ook PET scans en MRI scans worden veelvuldig in de kliniek gebruikt. Uit beelden van gezond en ziek weefsel kunnen artsen en wetenschappers vaak conclusies trekken over de toestand van dat weefsel.

U bent het waarschijnlijk met mij eens. Niet voor niets luidt een bekend Nederlands spreekwoord 'een beeld zegt meer dan duizend woorden'. Het zou dan ook zeer efficiënt zijn geweest om mijn toespraak met beelden te illustreren. Dat is in deze prachtige historische zaal niet mogelijk en daarom zal ik u met plezier met woorden vertellen over mijn vakgebied, over beeldvorming door middel van microscopie.

### **De cel als een drukke stad**

Terug naar de cel als bouwsteen van ons lichaam.

Een cel is een complex systeem. Om u met woorden, dus zonder beelden, hier een indruk te geven van wat een cel eigenlijk is, gaan we een gedachte-experiment doen.

Allereerst, cellen en hun structuren zijn te klein om met het blote oog te kunnen zien. Ten tweede komen ze voor in vele vormen en maten.

Er zijn bijvoorbeeld cellen die de wanden van uw bloedvaten bekleden als kleine platte tegeltjes met een lengte van een honderdste millimeter, 10 micrometer. Een geheel andere vorm hebben bijvoorbeeld rode bloedcellen. Deze bloedcellen zweven in de vorm van miniatuur donutjes in uw bloed. Cellen kunnen ook zeer lang zijn, meer dan een meter in lengte, zoals zenuwcellen, die van uw ruggenmerg naar uw tenen lopen. Al deze cellen bevatten op hun beurt nog veel kleinere onderdelen, zoals organellen, lipiden, eiwitten. Deze structuren en moleculen zijn steeds in beweging en vaak veranderen ze ook van vorm.

Met een beetje fantasie kunt u zich misschien een leven als een uit de kluiten gewassen eiwit voorstellen. Stel, u bent een belangrijk eiwit, een ribosoom. Uw taak in de cel is om RNA om te zetten in eiwitten. U bent heel productief, u produceert eiwitten aan de lopende band. Uw lengte is om en nabij de 20 nm, een respectabele lengte voor een belangrijk eiwit. Dit is ongeveer 100 miljoen maal kleiner dan u nu bent. En, net als u, zijn er honderden ribosomen heel hard aan het werk om uw cel van de broodnodige eiwitten te voorzien.

Hoe zou u de cel ervaren als u een ribosoom zou zijn? Hoe groot zijn dan de organellen in de cel en hoe ziet die ultrastructuur om u heen er uit? De cel is dan een drukke, volle stad ter grootte van Amsterdam. U ziet veel eiwitten om u heen die andere taken hebben, bijvoorbeeld proteasomen, die als taak hebben ongewenste eiwitten af te breken. Misschien geen fijne collega's voor u, eiwitten die afbreken en afvoeren wat u net heeft opgebouwd. Alles krioelt en is in beweging om u heen. De economie draait op volle toeren. Iedereen doet mee en er is een drukte van jewelste. Er is geen werkloosheid.

Naast de duizenden eiwitten om u heen zult u ook grotere structuren zien, organellen die de afmeting kunnen hebben van grote gebouwen en fabrieken. U ziet bijvoorbeeld energiecentrales, die in de biologie mitochondriën genoemd worden. U zult wegen zien, zelfs vele metrolijnen die de stad doorkruisen. De metrolijnen, de microtubuli, vormen lijnen waarlangs snel transport van eiwitten en organellen van de ene kant van de cel naar de andere kant plaats kan vinden.

In tegenspraak tot wat er in Amsterdam gebeurt, verzakken er geen gedeeltes van de stad tijdens de bouw van een metrolijn. Om de stad heen is een muur, het celmembraan. Deze heeft een dikte van ongeveer 5 nm, een halve meter op de schaal van de stad, met en af en toe een stadspoort om voedsel aan te voeren en afval af te voeren. We voelen ons veilig en beschermd in de stad.

Maar helaas, net als in een echte stad, kunnen er ook dingen mis gaan, en soms vindt er een catastrofe plaats. Een voorbeeld kan een infectie met een virus zijn, bijvoorbeeld het nu zo gevreesde Mexicaanse griepvirus, waarbij men zelfs een pandemie vreest.

Het vinden van manieren om goed te kunnen onderzoeken wat er in een cel of weefsel allemaal gebeurt, en wat er mis gaat bij een ziekte of een infectie, raakt de kern van mijn vakgebied. Een goed begrip kan helpen om een manier voor genezing te vinden.

### **Het afbeelden van celstructuren met licht**

Een lastig punt is dat cellen en eiwitten te klein zijn om met het blote oog te kunnen zien. Er zijn hulpmiddelen nodig.

Iemand die ruim 400 jaar geleden een dergelijk hulpmiddel ontwierp en gebruikte was Antoni van Leeuwenhoek. Van Leeuwenhoek leefde van 1632 tot 1723. Hij was van vele markten thuis. Een multidisciplinair persoon, zou men vandaag de dag zeggen. Hij was een handelaar in textiel, een glasblazer, en onderzoeker. Hij wilde allerlei zaken beter bekijken, zijn textiel waarin hij handelde, maar ook kleine levende diertjes en stukjes van planten.

Hij was niet tevreden met wat hij met het blote oog kon zien. Op de hoogte van nieuwe wetenschappelijke ontwikkelingen in Engeland, bouwde hij één van de allereerste lichtmicroscopen. Zijn microscoop was zeer eenvoudig, eigenlijk niet meer dan een loep, die hij vlak bij zijn oog moest houden. Maar zijn lens was buitengewoon goed gemaakt. Het haalde vergrotingen van 275 maal, terwijl de beste microscopen uit die tijd slechts tot 30 maal kwamen.

Hij maakte tekeningen van de vele kleine celletjes die hij zag, en hij werd wereldberoemd. Zijn instrument, de lichtmicroscoop, leidde in één klap het tijdperk van de microbiologie in. Vandaag de dag, 400 jaar later, zijn lichtmicroscopen onmisbaar geworden voor onderzoek en diagnose binnen de biologie en geneeskunde. In iedere universiteit en ziekenhuis zult u er honderden kunnen vinden.

Twee aspecten zijn opvallend in het werk van Antoni van Leeuwenhoek.

Allereerst de wisselwerking tussen nieuwe hoogwaardige instrumentatie en nieuwe baanbrekende biologische kennis. De instrumentatie was zeer belangrijk voor het verkrijgen van biologische kennis. Op een wat grotere schaal illustreert zijn werk het

belang van een goede technische infrastructuur om op een mondiaal niveau wetenschap te bedrijven. Dat is heden ten dage wat de elektronenmicroscopie betreft niet anders.

Ten tweede zijn ervaring als handelaar. Hij weigerde namelijk 50 jaar lang zijn techniek om lenzen te maken met anderen te delen. Niemand kon een betere lens maken dan hij. Zijn unieke wetenschappelijke positie behield hij door een instrument in bezit te hebben waar anderen geen toegang tot hadden. Blijkbaar is het van alle tijden dat wetenschappers soms terughoudend zijn in het openhartig delen van kennis of instrumentatie.

Één van de drie originele bewaard gebleven microscopen waarmee Antoni van Leeuwenhoek de spermacele ontdekte, is bij het veilingbedrijf Christies op 8 april jl. geveild voor meer dan 340.000 Euro. Een record voor een Nederlands wetenschappelijk instrument. Voor een iets kleiner bedrag kunt u ook één van de bewaard gebleven microscopen bewonderen in een museum, en wel in het hier vlakbij gelegen Leidse museum Boerhave.

Maar we zijn enigszins afgedwaald. Immers, het doel was om cellen en eiwitten te bestuderen. Dus, is dit mogelijk met deze lichtmicroscopen, die van Leeuwenhoek en anderen na hem hebben ontwikkeld?

Dat kunnen we bijna, maar toch niet helemaal. We kunnen de cellen wel zien, maar niet de kleinere structuren, de ultrastructuur van de cel. Het beeld met licht is te onscherp. Het is alsof u met Google Earth probeert in te zoomen op de zojuist uitgekomen tulpen in uw tuin. U ziet Nederland liggen, en stapt telkens naar een hogere vergroting op uw computerscherm. U ziet uw stad, wellicht Leiden, dan uw wijk, uw straat, en dan, wat minder scherp, uw huis. Maar helaas, als u bij een nog hogere vergroting wil kijken wordt het beeld wel groter, maar niet scherper. Uw tuin blijft een vage vlek, en u kunt zeker geen tulpen zien.

Terug naar onze cellen betekent dit dat we de vorm van cellen, en de grote structuren in de cellen kunnen zien met lichtmicroscopie, maar niet de kleinere structuren en moleculen zoals eiwitten.

Dit komt niet door slechte ogen of door matig geslepen lenzen. We kunnen ze niet zien door de beperking van het licht dat we gebruiken.

### **Zien met ander licht: met elektronen**

Maar waarom is het licht niet geschikt? Er is gedurende een paar honderd jaar door veel wetenschappers onderzoek gedaan om beter te begrijpen wat er met licht af te beelden is. Bekende namen van wetenschappers zijn Huygens, Newton en Einstein. In natuurkundige termen is zichtbaar licht straling die met het menselijke oog waar te nemen is. De energie van de straling bepaalt de kleur van het licht, variërend van blauw tot rood. Het eigenaardige is dat de kleur van het licht bepaalt hoe klein het voorwerp kan zijn dat we kunnen zien. Zo is dat voor zichtbaar licht ongeveer 500 nm, De helft van een 1000<sup>ste</sup> millimeter. Structuren kleiner dan ongeveer 500 nm zijn niet scherp af te beelden met zichtbaar licht.

Dit is jammer en frustrerend. Gelukkig is er een proefschrift dat ons uit de brand helpt. Dat proefschrift is wel enige tijd geleden geschreven, in 1924, door Louis de Broglie. Dat was best een goed proefschrift, en hij kreeg er dan ook de Nobelprijs voor de natuurkunde voor in 1929.

Uit zijn werk bleek dat het niet noodzakelijk is om zichtbaar licht voor een microscoop te gebruiken. Het is mogelijk een ander, speciaal licht zelf te maken dat wel geschikt is om mee naar te cellen te kijken. Het licht is niet zichtbaar met het oog, maar wel geschikt om mee naar cellen te kijken en om foto's mee te maken. Dat speciale licht bestaat niet uit fotonen, zoals bij zichtbaar licht, maar uit kleine geladen deeltjes, elektronen. Door een bundel elektronen als een soort lichtbundel te gebruiken zijn cellen, moleculen en zelfs atomen af te beelden. Het beeld zie je dus niet direct, maar pas na afdrukken op film, of zoals tegenwoordig, via een opname met een digitale camera op een computerscherm.

De ideeën van deze promovendus de Broglie bleken praktisch uitvoerbaar, en een paar jaar later, in 1931, werd er al een microscoop mee gebouwd door de Duitse natuurkundige Ernst Ruska. Ook hij kreeg een Nobelprijs voor de natuurkunde, maar pas 50 jaar later, in 1986.

De werking van deze microscoop lijkt op die van een ouderwetse diap projector. Een dun voorwerp, bijvoorbeeld een cel, wordt sterk vergroot geprojecteerd. Een vergroting van een miljoen keer is goed mogelijk.

Dit speciale licht, de elektronen, maakt het mogelijk om beelden te maken van biologische structuren met een scherpte beter dan 1 nm, scherper dan 1 miljoenste millimeter. 100 maal scherper dan een lichtmicroscoop.

De eerste Nederlandse commerciële elektronenmicroscoop kwam beschikbaar in 1949. Deze werd gemaakt door Jan Le Poole, en wel in Delft, in een instituut wat nu de Technische Universiteit Delft heet. En, niet geheel toevallig, is dit de plek waar ik mijn opleiding als natuurkundige heb genoten.

### **Elektronenmicroscopen in Nederland**

Voor u, als toehoorder, is deze elektronenmicroscopie mogelijk slecht voor te stellen. De complexiteit van de techniek en de interpretatie van de beelden zijn niet één, twee, drie, uit te leggen. Dat was voor mij als student in 1985 niet anders toen ik voor het eerst geconfronteerd werd met de wereld van de elektronenmicroscopie.

Met Aad van den Bos als begeleider, werkten we samen met de vakgroep Elektronenoptiek van Karel van der Mast en Pieter Kruit aan de ontwikkeling van de elektronenmicroscopie. In de onderzoeksgroep was duidelijk een lange geschiedenis aanwezig. Er heerste een sfeer van knutselen, en van bouwen met ingewikkelde instrumenten. Als student volg je dan ook eerst een practicum om zelf een dergelijke elektronenmicroscoop op te bouwen. Vergelijkbaar met meccano of lego, staan er kratten met onderdelen, elektronica. En dan, op een middag, na veel geploeter, is de elektronenmicroscoop klaar, en werkend. Het motto van Jan Le Poole was dan ook: "Begint eer ge bezint." Hij was een groot voorstander van doen en uitproberen.

Deze vroege geschiedenis op het gebied van de elektronenmicroscopie in Nederland heeft zijn sporen nagelaten. Dit uit zich bijvoorbeeld in het aanwezige bedrijfsleven waarin elektronenoptiek een grote rol speelt. De huidige FEI Company in Eindhoven, ooit een onderdeel van Philips, is wereldwijd één van de grootste spelers op het



gebied van elektronenmicroscopie, en een verre nazaat van die toenmalige Delftse elektronenmicroscopie-groep uit 1949. Honderden dure en complexe elektronenmicroscopen met een zeer duidelijke Nederlandse inbreng worden er jaarlijks gebouwd en verkocht aan universiteiten en bedrijven over de hele wereld.

Wereldwijd is de dichtheid van elektronenmicroscopie groepen per vierkante km nergens zo hoog. Er zijn een tiental hoogwaardige academische groepen zeer actief en bij de grote internationale conferenties blijken Nederlanders vaak betrokken bij toonaangevende ontwikkelingen.

Er is in Nederland ook een lange traditie in de ontwikkeling van toepassingen binnen, en tussen, de vakdisciplines biologie, scheikunde en materiaalkunde. Dit uit zich in het feit dat er grote onderzoeksprogrammas gedeeltelijk door de overheid gefinancierd worden op het gebied van nanotechnologie, nanomaterialen en nanobiologie, waar de afbeelding van structuren op nano-schaal met elektronenmicroscopie zeer belangrijk is. Deze koppeling stimuleert de samenwerking tussen natuurkundigen, scheikundigen, biologen en computerdeskundigen, wat een goede zaak is voor de ontwikkeling van innovatieve instrumentatie.

### **Toepassingsgebied Elektronenmicroscopen**

Prima, zult u misschien denken. De apparaten om naar cellen te kijken zijn ontwikkeld, we kunnen onze cellen en eiwitten zien. Eindelijk kunnen we inzoomen met Google Earth om de tulpen in de tuin te kunnen tellen. En inderdaad, voor vele type weefsel, cellen en eiwitten gaat dit heel goed.

De literatuur van de afgelopen 50 jaar laat zien dat elektronenmicroscopie van groot belang is voor de celbiologie en geneeskunde. Duizenden afbeeldingen zijn in vrijwel alle leerboeken voor biologie en geneeskunde te vinden. De beelden die we kunnen maken met elektronenmicroscopie zijn bijzonder gedetailleerd en komen goed overeen met allerlei andere manieren om cellen te bestuderen.

Ter illustratie zal ik een voorbeeld geven van onderzoek waar wij aan werken in samenwerking met de groep van Erik Snijder van de afdeling Moleculaire

Microbiologie van het LUMC. In dat onderzoek speelt virusinfectie met een RNA-virus, het SARS –virus, een grote rol.

In beelden is te zien dat zodra het virus een cel binnen is gekomen, er nieuwe organellen in de cel gevormd worden. Dat zijn bolvormige structuren waarbinnen het virus zich vermenigvuldigt. Afgeschermd door deze structuren kan de vermenigvuldiging zijn gang gaan, de rest van de cel heeft niets in de gaten. En dan, na uren, barsten de bolvormige structuren open en ontelbare virusdeeltjes overspoelen en verlaten de cel.

In ons beeld van de cel als een stad is dit een mooi uitgevoerde overwinning, Eerst stiekem binnenkomen, en dan versholen sterker worden en uiteindelijk de stad van binnen overweldigen zoals gebeurde met het Paard van Troje. De natuur is niet altijd liefelijk.

Een ander onderzoeksproject in de groep is gericht op het beter begrijpen van bloedstolling. In dit onderzoek staat het eiwit von Willebrand factor centraal, dat belangrijk is voor de hechting van bloedplaatjes aan collageenvezels en helpt ervoor te zorgen dat wondjes dichtgaan.

In verscheidene samenwerkingen proberen we met microscopie meer te begrijpen van een groot aantal verschillende onderwerpen. Bijvoorbeeld van verschillende vormen van kanker, van constitutioneel eczeem, van malaria-infectie, van antibiotica producerende bacteriën, van stamceldifferentiatie bij de vorming van bloedvaten, van de opbouw van virusdeeltjes, en nog veel meer.

[ even wat langere pauze ]

### **Ontwikkelingen in de elektronenmicroscopie**

Om aan deze grote verscheidenheid van biologische onderwerpen te kunnen werken wordt er dan ook binnen het vakgebied elektronenmicroscopie voortdurend door velen gewerkt aan het optimaliseren van methoden om cellen en eiwitten af te beelden. Dit betreft aspecten van preparatie, het fixeren of invriezen van materiaal, en het snijden van zeer dunne plakjes, al dan niet ingevroren. Het betreft ook aspecten van

immunolabeling, om eiwitten te lokaliseren. En het verbeteren van de beeldvorming, kwalitatief door correctie van beeldaberraties, en kwantitatief door betere hardware en slimmere acquisitieprotocollen.

Ikzelf heb vanaf begin jaren 90 als post-doctoraal medewerker met veel plezier kunnen werken in een drietal onderzoeksgroepen waarin automatisering en computerbesturing van elektronenmicroscopen erg belangrijk waren. Dit was in de groep van David Agard aan het UCSF in San Francisco, in de groep van Wolfgang Baumeister aan het Max-Planck-Institut voor Biochemie in Martinsried, in Duitsland, en in de groep van Arie Verkleij aan de Universiteit Utrecht. Ik heb daarbij in het bijzonder bijdragen kunnen leveren aan het mogelijk maken van drie-dimensionale elektronenmicroscopie. Met drie-dimensionale microscopie is het mogelijk delen van cellen in 3D met een scherpte van 1 nm af te beelden. Ook is het mogelijk om de structuur, de vorm, van geïsoleerde eiwitten met een resolutie van 5 Angstrom te bepalen. Methodeontwikkeling, digitalisering en automatisering waren daarbij zeer belangrijk.

Het klinkt ongelooflijk in deze tijd, maar het is pas sinds eind jaren 90 mogelijk digitale beelden op te nemen met elektronenmicroscopie. Vóór het jaar 2000 was het zo dat in alle laboratoria beelden opgenomen werden op film. Iedere elektronenmicroscopie-groep had vaak ook meerdere fotografen in dienst voor het ontwikkelen en afdrukken van films. Duizenden kwalitatief uitstekende foto's van vele cellen betrekking hebbende op verschillende ziektebeelden zijn dan ook opgenomen. Helaas zijn deze foto's niet voor iedereen beschikbaar. Net als uw fotoboeken thuis, liggen de negatieven en afdrukken in een kast.

Dat is niet alleen jammer, maar ook een verspilling van kapitaal en kennis. Immers een schat aan informatie is niet toegankelijk voor andere wetenschappers.

De digitale beelden die vandaag de dag die met elektronenmicroscopen opgenomen worden maken het mogelijk om een koppeling te maken naar het internet. In de biologie is het delen van onderzoeksgegevens, het zoeken naar gegevens via internet, op veel gebieden al jaren routine. De beelden gemaakt met elektronenmicroscopen waren tot voorkort niet op deze manier toegankelijk.

Echter, wij werken er hard aan om dit te veranderen. Het is te verwachten dat in de komende 5 jaar, beeldinformatie ontsloten kan worden met data zoekmachines op het internet zoals Google. Eén van onze lopende technologische ontwikkelingen is om grote tweedimensionale digitale beelden van cellen op te kunnen nemen, van 100.000 x 100.000 pixels, vergelijkbaar met een 10 GigaPixel camera. We kunnen hiernaar kijken op een groot beeldscherm.

Waarom doen we dat? Met een variant op Google Earth kunnen we inzoomen op onderdelen van cellen en kunnen we organellen, maar ook eiwitten zoals ribosomen, zien terwijl we ook het overzicht, waar alles zich in de cel bevindt, kunnen behouden.

Deze manier van kijken naar beelden van cellen maakt multidisciplinair samenwerken makkelijker. Collega's, artsen, studenten, nieuwe werknemers kunnen op hun gemak meekijken en wellicht meer in de beelden zien dan de elektronenmicroscopist alleen. Met deze aanpak verwachten wij dat multidisciplinaire samenwerkingen met groepen binnen het instituut of met groepen aan andere universiteiten in binnen en buitenland nog effectiever zullen verlopen.

Ook is deze aanpak geschikt voor onderwijsdoeleinden en voor borging van ervaring van kennis die nodig is bij de interpretatie van deze beelden. Het belang van borging van de ervaring en kennis van medewerkers wordt zwaar onderschat. Telkens weer wordt het wiel opnieuw uitgevonden. Onze hoop is dat de digitale opslag van de interpretatie samen met de opgenomen beelden de overdracht van kennis en ervaring verbeteren zal.

Momenteel zijn er een drietal technologische ontwikkelingen waarvan ik denk dat ze belangrijk zijn voor de elektronenmicroscopie en waar wij specifiek aan werken.

Het eerste onderwerp is het drie-dimensionaal afbeelden van celstructuren, de elektronentomografie. Nog maar tien jaar geleden waren de computers te langzaam en camera's niet goed genoeg om drie-dimensionale afbeeldingen van cellen te maken. Vandaag de dag is het routine om drie-dimensionale beelden van cellulaire structuren met een scherpte van 1 nm af te beelden.

Het is te verwachten dat tomografie op bevroren biologische structuren een grote rol zal spelen in combinatie met proteomics. Immers, de techniek om precies te kunnen zien wáár een eiwit zich in een cel op een bepaald moment bevindt, maakt het mogelijk om te onderzoeken wat de taak van dat eiwit zou kunnen zijn. Vooral in combinatie met het aanbrengen van labels met behulp van genetische manipulatie, en het identificeren van eiwitcomplexen met behulp van massaspectroscopie, zal deze aanpak zeer krachtig zijn. Deze nieuwe techniek wordt in goed Nederlands wel met ‘Visual Proteomics’ aangeduid.

Het tweede onderwerp is correlatieve microscopie. De combinatie van licht- met elektronenmicroscopie maakt het mogelijk om eerst processen in levende cellen te bestuderen en vervolgens deze cellen, na invriezen, met elektronenmicroscopie te bekijken. Het is te verwachten dat dit volledig nieuwe inzichten kan gaan bieden in de celbiologie. Naar mijn mening zal een groot deel van de toekomstige technologische ontwikkelingen gericht moeten zijn op het koppelen, integreren, van superresolutie lichtmicroscopie met elektronenmicroscopie. De koppeling zowel met betrekking tot het microscoop zelf, als voor het ontwikkelen van labels.

Het derde en laatste onderwerp is hybride microscopie. Dit is een techniek speciaal gericht op het afbeelden van ingevroren geïsoleerde eiwitcomplexen met hoge resolutie. Het inpassen van structuren verkregen met andere methoden, zoals met röntgenkristallografie en NMR spectroscopie, speelt daarbij een grote rol. Deze aanpak is geschikt voor het bestuderen van grote macromoleculen, groter dan 200 kDa, en van molecuul-molecuul interacties zoals eiwit-DNA complexen. Hoewel deze techniek in onze groep nog niet routinematig uitgevoerd wordt, verwacht ik dat dit in de toekomst wel het geval zal zijn. Bij deze ontwikkeling is het belangrijk dat zoveel mogelijk beelden in een zo kort mogelijke tijd worden opgenomen.

De kwaliteit waarmee het drie-dimensionale beeld van het molecuul verkregen wordt, is in grote mate bepaald door het aantal beelden. Bij deze techniek past een inzet van automatisering en schaalvergroting die in Nederland vaak niet als vanzelfsprekend gezien wordt. Daarentegen zijn op een aantal plaatsen in de Verenigde Staten voor deze techniek elektronenmicroscopen dag en nacht automatisch beelden aan het

opnemen. Binnen een aantal weken is er een nieuwe structuur van een groot eiwitcomplex dan bepaald. Geïnspireerd door deze ontwikkelingen is onze groep, samen met de afdeling ICT, druk bezig met een grootschalige automatisering van data acquisitie en dataverwerking zodat, als het nodig mocht zijn voor een vraagstelling, de microscopen 's-nachts of gedurende het weekend data kunnen opnemen.

[ wat langere pauze ]

### **Multidisciplinair onderzoek**

Dames en heren, wetenschappelijk onderzoek, of het nu biologie of geneeskunde betreft, is een activiteit waar zeer veel verschillende technieken worden gebruikt om cellen of weefsel te bestuderen. Een onderwerp wordt vanuit verschillende vakgebieden belicht. Dat dit belangrijk is, wordt benadrukt door Nederlandse en Europese instanties die multidisciplinair onderzoek financieel sterk stimuleren.

Elektronenmicroscopie is slechts één van die technieken en geeft beelden van de opbouw van cellen en organellen. Resultaten verkregen met de elektronenmicroscopie zullen altijd gecombineerd moeten worden met gegevens verkregen uit andere vakgebieden. Vandaag de dag is de veelzijdigheid die in Antonie van Leeuwenhoek gebundeld was in één persoon, vervangen door multidisciplinariteit in één onderzoeksinstituut.

In onze vakgroep zijn daarom natuurkundigen en computerdeskundigen aanwezig met ervaring en belangstelling voor optiek, elektronica en instrumentatie. Er zijn natuurlijk ook celbiologen aanwezig om vraagstellingen te kunnen vertalen naar een serie experimenten om beter te begrijpen wat er in een cel gaande is. Ook maken scheikundigen en structuurbiologen deel uit van de groep om de werking van cellen op moleculair niveau te kunnen begrijpen.

Echter, het verrichten van multidisciplinair onderzoek is makkelijker gezegd dan gedaan. Een voorbeeld. Tijdens mijn studie aan de Technische Universiteit Delft heb ik in een stimulerende omgeving gewerkt met technisch georiënteerde medestudenten en medewerkers. De doelstellingen en het belang van het onderzoek dat ik en mijn collega's daar binnen de afdeling deden was evident.

Een eerste verrassing tijdens mijn post-doctoraal onderzoek in de Verenigde Staten, binnen het vakdiscipline celbiologie, was dat mijn kennis en ervaring binnen die andere discipline wel werd gewaardeerd, maar zeker niet als vanzelfsprekend belangrijk werd ingeschat. Eigenlijk was er een hoge mate van onverschilligheid over wat voor speciale kennis en ervaring ik dan wel zou hebben. Tijd verdoen aan iets nieuws buiten het vakgebied, aan iets met onbewezen voordelen, was niet iets waar men op zat te wachten.

Een tweede verrassing was dat we niet dezelfde taal spraken en dat ik mij sterk zou moeten aanpassen aan de normen en waarden binnen dit nieuwe vakgebied. Maanden lang was ik bezig om mijn basiskennis biologie te vergroten. Studerend in *The Cell*, van Bruce Alberts, de “Bijbel” voor veel celbiologen, vergrootte ik mijn kennis. En inderdaad, langzaam, maar zeker, verdween de Babylonische spraakverwarring en wist ik misverstanden door een ontoereikende woordenschat te voorkomen. Wanneer ik, als natuurkundige, een woord als systeem gebruik, bedoel ik wellicht een lineaire transformatiematrix, terwijl mijn collega celbioloog wellicht denkt dat ik een cellijn genetisch aan het modificeren ben.

Deze twee aspecten, onverschilligheid en spraakverwarring spelen ook op een grotere schaal, binnen een faculteit, of tussen universiteiten. De voor de hand liggende aanpak om deze onverschilligheid te doorbreken is om wetenschappelijke publicaties te lezen en te schrijven. Echter, dat zal niet genoeg zijn. Persoonlijk contact, op internationale conferenties, maar ook op labborrels tussen afdelingen, op gezamenlijke werkbesprekingen, uitwisseling van studenten, meedenken over de indeling van een organisatie en informele labuitjes, zijn naast de wetenschappelijke publicaties, essentieel voor vernieuwend hoogwaardig onderzoek.

Ik ondersteun dan ook van harte het beleid van de Universiteit Leiden en van het LUMC om dit soort uitwisselingen te stimuleren. Een voorbeeld is de opzet van “Medical Delta”, een samenwerkingsverband tussen de TU Delft, het Erasmus MC in Rotterdam, en het LUMC en Universiteit Leiden, om multidisciplinair onderzoek te doen en multidisciplinair onderwijs te geven en te genieten.

Ik wil benadrukken dat mogelijkheden op individueel-niveau nog sterker gestimuleerd zouden kunnen worden. Bijvoorbeeld, dat het vanzelfsprekend zou zijn als onderzoekers periodiek, bijvoorbeeld om de drie jaar, voor een periode van een aantal maanden in een ander lab opgenomen zouden kunnen worden om mee te draaien in het daar lopende onderzoek. Dit zou binnen de organisatie het wederzijdse begrip over onderzoek verhogen en ook de uitwisseling van kennis en ervaring stimuleren.

[wat langere pauze]

### **Bewijsvoering en onderzoek**

Dames en heren, soms is er met multidisciplinair onderzoek sprake van een meer diepliggende kloof. Bijvoorbeeld een verschil van mening over wat een bewijs is, en wat een wetenschappelijk resultaat eigenlijk is.

Iemand die zich al enige tijd geleden bezighield met het verband tussen zien, geloven en bewijsvoering was Aristoteles. Hij was een Griekse filosoof die leefde in de 4<sup>e</sup> eeuw voor Christus en wordt met Socrates en Plato beschouwd als een van de invloedrijkste klassieke filosofen in de westerse traditie.

Aristoteles was deskundig op alle gebieden van de toenmaals bekende wetenschap, een zeer multidisciplinair man. Hij scheidde orde in de systematiek van wetenschappen, en hij benoemde de vijf type waarnemingen die we bewust met onze zintuigen kunnen doen: horen, proeven, ruiken, voelen, en zien. Het zien heeft hier tijdens deze lezing onze volledige aandacht.

Hij probeerde de wereld om zich heen als eerste empirisch, proefondervindelijk, te onderzoeken. Zijn motto was meten is weten. Hij voerde de logica in, en formuleerde wat in zijn ogen juiste wetenschappelijke redeneringen waren. Hij gebruikte de aanpak van inductie als argumentatie voor bewijsvoering.

Een voorbeeld van inductie is het volgende. U zit in een zaal in Leiden en u ziet een professor binnen komen gekleed in een zwarte toga. Deze professor wordt direct gevolgd door een tweede professor, ook met een zwarte toga. Dan een derde, een vierde, enzovoorts. Allen hebben een zwarte toga aan. Uiteindelijk zijn de professoren



op. Welke conclusie kunt u hieruit trekken? Eén conclusie zou kunnen zijn dat alle professoren in Leiden een zwarte toga dragen. In andere woorden, u probeert, uit wat u gezien heeft, een algemeen-geldende regel af te leiden.

Het riskante van deze aanpak is, dat u niet kunt garanderen dat de regel echt algemeen geldig is. Immers, u bekijkt losse individuele gevallen, Een tegenvoorbeeld voor de algemeen-geldende regel kunt u gemist hebben. Misschien dat er wel een professor naast u zit, die geen zwarte toga aan heeft? Maar ja, hoe herkent u deze?

Ook in de microscopie is bewijsvoering door middel van inductie erg verleidelijk. Immers, bij het bekijken van beelden zijn onze hersens druk bezig ordening te brengen in wat we zien. En al snel zien we een patroon, gebaseerd op voorgaande gevallen, dat op een gegeven moment als de waarheid gezien wordt. Inductie is dus één van de manieren om nieuwe ontdekkingen te doen, door goed te kijken, nadenken en een patroon zien over hoe iets in elkaar steekt. Maar, is inductie ook de manier om iets te bewijzen?

De wetenschapsfilosoof Karl Popper is een autoriteit op dit gebied. Hij leefde van 1902 tot 1994. Hij formuleerde de eis die gesteld hoort te worden aan een zinvolle wetenschappelijke hypothese.

Een hypothese is alleen dan zinvol, als het mogelijk is om een experiment uit te voeren waarmee de hypothese ontkracht zou kunnen worden. Een voorbeeld is de zwaartekrachttheorie die voorspelt dat als u iets loslaat dat dit voorwerp naar beneden valt. U kunt telkens proefondervindelijk vast stellen of dit het geval is. Op het moment dat u iets loslaat en het valt omhoog heeft u mogelijkwijze de zwaartekrachttheorie ontkracht.

De consequentie van deze aanpak van Popper is dat van een wetenschappelijke hypothese nooit te bewijzen valt dat ze waar is. Op zijn best dat de hypothese waarschijnlijk is.

In de biologie biedt het bestaande bouwwerk van hypothesen veel minder houvast dan in de natuurkunde. Een reden hiervoor is dat de moleculaire cel biologie een relatief

jong vakgebied is. Bijvoorbeeld, de structuur van het DNA is nog maar zo'n 50 jaar geleden, in 1953, ontrafeld. Ook zijn cellen grote complexe systemen, waarvan nog van veel onbekend is hoe het werkt. Met de beschikbaarheid van nieuwe technologieën is er een voortdurende vloed van nieuwe meetgegevens aan cellen, die er toe leidt dat er in hoog tempo hypotheses worden ontkracht, en weer nieuwe worden voorgesteld. Het gevolg is dat de dynamiek binnen celbiologisch onderzoek zeer groot is. Biologie is met recht levend.

Tijdens mijn verblijf in San Francisco begreep ik wat deze dynamiek in de praktijk betekent. Nadat ik maanden gestudeerd had in dat biologie boek, *The Cell* van Alberts, dacht ik dat ik klaar was, up-to-date met de biologie. Echter, dat bleek al snel niet het geval. Mijn collega's keken me wat meewarend aan, wist ik dan niet dat dat boek gebaseerd was op wel 5 jaar oud onderzoek?. Veel in het tekstboek was al lang verouderd. Oude wetenschappelijke theorieën waren immers toch allang herroepen door nieuwe theorieën, die alweer een paar maanden geleden waren gepubliceerd?

[ langere pauze ]

Met andere woorden in de biologie geldt de volgende stelling: "De in het verleden gehaalde resultaten bieden geen garantie voor de toekomst." Waar hebben wij dat meer gehoord?

Al sprekende over de dynamiek wil ik graag een nieuwe hypothese over de in zwart geklede professoren poneren. U weet wel, over het rijtje achter elkaar aanlopende professoren. Zou het zo kunnen zijn dat Leidse professoren moeite hebben met richting kiezen en keuzes maken, en graag een ander volgen? Dit zou kunnen verklaren dat zij achter elkaar binnen kwamen binnen lopen. Eén voorop, de anderen volgen. U kunt deze hypothese met Popper's methode goed toetsen. Als zij aan het eind van deze voordracht weggaan en ieder in een willekeurige richting de zaal verlaten, is mijn hypothese onwaar. Als zij wéér in een rij de zaal verlaten, blijft mijn hypothese staan en volgen Leidse professoren graag anderen. U kunt dit experiment tijdens het bijwonen van andere oraties naar hartenlust herhalen.

## **Dankwoord**

Geachte dames en heren studenten.

Ik hoop dat ik u een inzicht heb gegeven in wat de leerstoel “Ultrastructurele en moleculaire beeldvorming” zoal omvat. Ik hoop dat ik uw interesse heb kunnen wekken naar verschillende aspecten van het vakgebied. Zoals u misschien ook dagelijks ervaart, bent U als student of promovendus, net als in het geval van Louis de Broglie, in wetenschappelijk onderzoek vaak degene die oplossingen voor problemen zoekt en die ook vaak vindt. Het mag misschien niet altijd voor u duidelijk zijn, en ook niet voor uw directe omgeving, maar de bouwstenen van wetenschappelijk onderzoek worden door u gemaakt.

Het is mijn doel om de komende tijd een aantal aspecten van Ultrastructurele en Moleculaire Beeldvorming in het onderwijs programma van de Universiteit op te nemen en de samenhang met biologische en klinische toepassingen te benadrukken. Ik hoop sommige van u in te toekomst als student of promovendus in mijn groep te mogen begroeten.

Dames en Heren.

Deze openbare les is bijna ten einde en ik wil graag een aantal mensen bedanken. Echter, een dankwoord is bijna per definitie onvolledig. Velen van u hebben bijgedragen aan het feit dat ik hier voor u sta, dat ik aan zoveel onderzoek heb mogen bijdragen. Ik vraag begrip voor het feit dat ik niet volledig kan zijn.

Ik ben Aad van den Bos van de TU Delft zeer dankbaar voor zijn raad het model van de waarnemingen altijd voor ogen te blijven zien, Karel van der Mast van de TU Delft voor zijn pragmatische kijk op instrumentatie, David Agard van UCSF in San Francisco voor zijn stimulerende visie op microscopie en celbiologie. Wolfgang Baumeister van het Max-Planck-Instituut in Martinsried dank ik voor de steun en mogelijkheden om mij in te zetten voor cryo elektronentomografie. Mijn bijzondere

dank gaat uit naar Arie Verkleij van de Universiteit Utrecht voor zijn ondersteuning en zijn advies om vooral het glas als half vol te zien, en niet als half leeg.

Mijn wetenschappelijke ontwikkeling is in grote mate bepaald door deze bovenstaande wetenschappelijke instituten. Zeer veel dank ben ik verschuldigd aan al mijn vroegere begeleiders, collega's, postdocs, studenten en medewerkers.

Ik dank de vele collega's binnen FEI Company voor de plezierige samenwerking die wij in verschillende vormen al meer dan twintig jaar hebben. Het altijd aanwezige spanningsveld tussen industriële en academische belangen heeft toch altijd kunnen leiden naar beter onderzoek en naar betere instrumentatie.

Veel van het onderzoek dat ik in laatste 10 jaar heb mogen uitvoeren is in samenwerking geweest met verschillende onderzoeksgroepen in Nederland. Ik kan deze groepen helaas binnen dit tijdsbestek onmogelijk allemaal opnoemen. Ik kan u allen slechts zeer veel dank betuigen en de hoop uitspreken voor verdergaande samenwerkingen in de toekomst.

Ik dank het College van Bestuur van de Universiteit van Leiden, de Raad van Bestuur van het Leids Universitair Medisch Centrum, en het bestuur van Divisie 5 voor het in mij gestelde vertrouwen.

Mijn dank gaat uit naar allen die aan de totstandkoming van mijn benoeming hebben bijgedragen. Met de benoeming tot hoogleraar Ultrastructurele en Moleculaire Beeldvorming onderstreept het LUMC het grote belang hiervan voor biomedisch onderzoek en onderwijs. Ik dank de Raad van Bestuur van het LUMC voor de ruime investeringen in de infrastructuur binnen de sectie elektronenmicroscopie. De huidige infrastructuur kan zich goed meten met andere groepen op hoog internationaal niveau.

Ik dank alle collega's binnen het LUMC en de afdeling Moleculaire Celbiologie voor de plezierige werksfeer en het mogelijk maken van toekomstige wetenschappelijke samenwerkingen. In het bijzonder wil ik Hans Tanke bedanken voor zijn altijd luisterend oor, zijn adviezen en de stimulerende discussies over microscopie en over wat er bij komt kijken om een onderzoeksgroep te leiden. Henk Koerten wil ik

bedanken voor zijn onontbeerlijke steun bij het helpen opzetten van de nieuwe sectie, nadat hij deze jaren lang zelf geleid had.

Ik wil al mijn medewerkers van de sectie Elektronenmicroscopie bedanken. De afgelopen 3 jaar was een periode met veel veranderingen in de groep. Ik wil jullie bedanken voor de grote inzet om de groep een gezellige, maar ook wetenschappelijk hoogstaande, groep te laten zijn.

Zoals ook voor gezondheid omgevingsfactoren belangrijk zijn, geloof ik dat een wetenschappelijk instituut verbonden is met haar sociale omgeving. De cultuur van de stad en de woonomgeving van de medewerkers bepalen de kwaliteit van wetenschappelijk onderzoek. In dit licht dank ik al mijn kennissen, vrienden, en familieleden. In de afgelopen paar jaar hebben zij misschien niet altijd de aandacht gekregen die ik zou wensen. Hopelijk zal dit de komende tijd weer wel het geval zijn.

Mijn ouders wil ik bedanken voor hun onvoorwaardelijke steun, vertrouwen en het medeleven, ook als de zon in het leven even niet schijnt. Mijn schoonouders wil ik bedanken voor hun steun en de altijd getoonde interesse in mijn onderzoek.

Lieve Petra, lieve Susanne. Woorden schieten te kort om aan te geven hoeveel ik jullie dank voor jullie liefde, en voor jullie nuchtere kijk op zaken als ik het een en ander even niet meer in perspectief zie.

Soms vergeet ik dat de kleine dingen die ik bestudeer inderdaad maar zeer klein zijn.

Ten slotte, waarde toehoorders, wil ik u allen van harte bedanken voor uw aanwezigheid en belangstelling.

Ik heb gezegd!