



Dr. James Rothman, winnaar van de Dr. H.P. Heinekenprijs voor de Biochemie en Biofysica:

## ‘HET GING NET ZO IN GIST ALS IN EEN HERSENCEL!’



Soms heeft onderzoek trekjes van een lang uitgesponnen detective, of een jacht naar de schat. Dr. James Rothman vond aanwijzingen, werd op dwaalsporen gezet, kreeg nieuwe puzzelstukjes in handen, legde ze naast weer andere en haalde uiteindelijk de buit binnen: de ontdekking hoe binnenin cellen opdrachten op de goede plaats terechtkomen. Gaat dat nog eens helpen uitzaaiingen bij kanker te voorkomen?

‘Het was iets waar elke onderzoeker een moord voor zou doen, een resultaat dat je maar eens in je leven kan verwachten.’ Het klinkt wat ingehouden – hij is niet zo exuberant – maar dr. James Rothman (49) glundert nog steeds bij de herinnering. Tegelijk hoor je in zijn stem een heel klein beetje spijt dat die ene keer al geweest is en achter hem ligt. Het kan niet anders dan overweldigend zijn om na heel veel jaren beetje bij beetje kennis verwerven ineens alles op zijn plaats te zien vallen en te weten: dit gaat op voor alles wat leeft, voor iedere planten-

en dieren cel die ook maar iets voorstelt. Zonder dit is leven uitgesloten.

Rothmans onderzoeksterrein ligt binnenin cellen. Een wereld op zich, met eigen wetten en eigen beperkingen. De centrale vraag: hoe is die zaak georganiseerd, hoe weet een cel wat hij moet doen? En niet een keertje, maar steeds weer. In zijn sobere kamertje in het New Yorkse Sloan-Kettering Instituut voor kankeronderzoek waarvan hij vice-voorzitter is, stelt Rothman het zo: ‘Als je de piramides van Gizeh ziet, denk je dat is fantastisch, wat een geweldige organisatie. Maar dat is maar één keer gebeurd, terwijl een cel innerlijk zo georganiseerd moet zijn dat hij steeds opnieuw het goede doet, en steeds opnieuw kan delen. Dat is nog eens extra gecompliceerd.’

### GEGREPEN

Het was eind jaren zestig, en Rothman studeerde medicijnen. De elektronenmicroscopie was net een beetje gewoon geworden, en werd nu op ruime schaal gebruikt in het biologisch onderzoek. ‘Pas op dat moment werd de rol van alle verschillende compartimenten in cellen precies geïdentificeerd’, vertelt Rothman. ‘Ik was er geheel door gegrepen.’ Naast een kern hebben cellen nog een heel stel onderdelen, die allemaal omgeven zijn door een membraan. Rothman: ‘Dat elke cel een buitenmembraan heeft om het cytoplasma en alles wat erin zit bij elkaar te houden, snapt iedereen, maar ook binnenin rondom ieder compartiment zit er een. Die compartimenten in een cel heten overigens organellen.’ En om die te ‘bereiken’ moet je als het ware door hun membraan heen.

Rothman legt uit: ‘In een cel is er één enkele fabriek, het ribosoom. Daar worden alle enzymen gemaakt, en enzymen zijn de proteïnen die chemische reacties in gang zetten. Dat kan van alles zijn en is ook afhankelijk van het type cel. In de pancreas gaat het bijvoorbeeld om de aanmaak van insuline, voor de ontwikkeling van organen heb je groeifactoren nodig, en de doorgifte van signalen tussen zenuwcellen gaat met behulp van neurotransmitters. Op de een of andere manier moeten cellen dus al die organellen herkennen en zorgen dat de goede enzymen op de goede plaats komen, zodat de juiste chemische reacties kunnen optreden.’

### PAKKETJE

Het proteïnevervoer binnen een cel gaat per blaasje. Die blaasjes vormen zich als een soort ballonnetjes of zakjes uit het membraan van het ribosoom, ze botten als het ware uit, en laten dan los. Er zijn veel verschillende soorten blaasjes en ze bevatten vaak duizenden moleculen die op de juiste bestemming moeten worden afgeleverd. Die aflevering geschiedt door wat membraanfusie genoemd wordt: het blaasje fuseert met het membraan van het organel waar het wezen moet. De inhoud van het pakketje kan dan naar binnen, en vervolgens gaat het blaasje weer terug naar waar het vandaan kwam,

waar het weer nieuwe lading kan ophalen enzovoort. Maar hoe blaasjes weten waar ze moeten zijn en hoe die fusie in zijn werk gaat, was een van de grote vragen uit de biologie.

Dat werd Rothmans speurtocht. 'Ik wilde toen ik eind jaren zeventig een eigen lab kreeg verder dan het niveau van de microscoop', vertelt hij, 'want wat je daardoor ziet is altijd statisch.' Hij vond een manier om het proces van blaasjesvorming, transport en membraanfusie in de reageerbuis, dus buiten de cel te laten plaatsvinden, daarna kon hij ook de skepsis bij vakgenoten overwinnen.

### PULP

Lachend zegt hij: 'Biochemici zijn gewend nogal bot te werk te gaan. Je neemt wat materiaal, mengt en prakt het tot pulp en vervolgens hoop en bid je dat je niet alles hebt kapotgemaakt en dat wat je overhoudt niet alleen maar een bijproduct is van wat je net gedaan hebt. Maar in de loop van de jaren tachtig hebben we eerst onszelf – uiteraard – en toen de rest van de wereld helemaal overtuigd dat we dat complexe proces inderdaad voortaan in de reageerbuis konden reproduceren. Dat heeft heel veel deuren geopend, ook voor ander onderzoek.' Daarmee was alleen nog niet de opeenvolgende reeks chemische reacties gevonden die ten grondslag ligt aan dat hele blaasjes-mechanisme. 'Toen we eenmaal een opstelling hadden die werkte, konden we op zoek naar bij het fusieproces betrokken enzymen. Maar er zijn heel veel enzymen', gaat Rothman verder. 'Het eerste dat we door een gelukkig toeval ontdekten was een molecuul dat we NSF hebben genoemd. Dat bleek noodzakelijk te zijn in het proces.'

'Maar niet, zoals we eerst dachten, voor de eigenlijke membraanfusie. Dat fuseren bleek namelijk ook zonder NSF te kunnen. Uiteindelijk kwamen we erachter dat je NSF nodig hebt voor het steeds maar doorgaan van het proces. Zonder NSF zou zo'n blaasje op het membraan blijven zitten en nooit meer terug kunnen. Het is een soort pendeldienst, en NSF is nodig om weer een nieuw rondje te maken.'

### ALLE ORGANISMEN

Cruciaal was het moment waarop, door anderen, datzelfde NSF in gistcellen gevonden werd. Rothman ontdekte vervolgens het gen dat in gist codeert voor NSF, dus als het ware de opdracht voor de aanmaak geeft. Rothman: 'Het einde van het liedje was dat duidelijk werd dat dezelfde proteïnen in *alle* organismen betrokken zijn bij dat steeds weer terugkerende transport. Dat fusieproces was iets algemeen!'.

Een doorbraak, maar er lagen nog genoeg frustraties op de loer. Rothman en zijn team (hij maakt keer op keer duidelijk dat er van eenmansprestaties geen sprake is) isoleerden nog een andere proteïne, die ze SNAP doopten. Ook die kwam in het complete eukaryotische rijk voor, dat wil zeggen: in alle dieren en planten, en was essentieel voor het hele

fusieproces. 'Maar opnieuw was de frustratie dat ook SNAP niet direct bij de membraanfusie betrokken was', herinnert Rothman zich. 'Het was wel belangrijk, maar niet de essentie. Samen met NSF verzorgt het die recycling van de blaasjes.'

### UIT VISSEN

'Toen zijn we maar uit vissen gegaan, en hebben we NSF en SNAP als aas gebruikt. We dachten waar die ook aan binden op het membraan, dat móet een algemeen fusieprincipe zijn, gezien de brede activiteit van die twee. Dat werkte. We vonden een set proteïnen op het membraan die we SNARE hebben genoemd, van "SNARE-REceptor".' Dat organelmembranen receptoren hadden was eerder niet bekend.

Dertig jaar heeft Rothman er allemaal hard aan gewerkt, maar telkens blijken geluk hebben en toevalligheden onmisbare factoren. Hij benadrukt dat zelf: 'Als ik nou indertijd een vooruitziende blik had gehad dan had ik nu verteld: we dachten dat we het principe hadden gevonden voor synaptische doorgifte – de doorgifte van signalen tussen hersencellen – en daarom deden we het volgende experiment... Maar zo was het dus helemaal niet. We begonnen gewoon hersenmembranen te gebruiken omdat we die toevallig op het lab hadden en er flink wat SNAP en SNF in voorkwam, dus waarom die niet? We zetten drie proteïnen uit die wel bekend waren, maar waarvan we niet wisten wat ze precies deden.'

### MUURVAST

Een gouden greep. Ze bleken eindelijk de echte sleutel tot membraanfusie te bevatten. Niet alleen in hersencellen, waar ze dus de aflevering van pakketjes neurotransmitter mogelijk maken, maar naar uiteindelijk bewezen kon worden in alle cellen. Rothman spreekt van het 'SNARE-complex' dat het werk doet. Een van de drie proteïnen is gelokaliseerd op het blaasje, de andere twee op het membraan. Ze passen alleen maar op elkaar. Hebben ze elkaar gevonden dan is de fusie een feit. Ze zitten vast, muurvast zelfs. Rothman: 'Even terzijde: dat NSF en SNAP waar we mee begonnen, zijn de proteïnen die de zaak weer uit elkaar halen, waardoor het blaasje dus weer loskomt van het membraan. Dat bleek hun precieze functie.'

Toen hij het fusieproces in hersencellen uitgevist had, kwam voor Rothman zijn *finest hour*. De drie SNARE-proteïnen uit de hersencellen moesten vergeleken worden met proteïnen in andere typen cellen. Rothman: 'Heel veel mensen deden al dit soort onderzoek. Er was letterlijk een hele catalogus van genen en sequenties, maar er bestond weinig inzicht in welke proteïnen een rol speelden bij membraanfusie.'

Het grote uitproberen en vergelijken begon. En keer op keer zouden elders al beschreven proteïnen sprekend op SNARE blijken te lijken. Daarbij gaat het telkens om paren. Elk type blaasje heeft zijn





eigen SNARE-proteïne, die alleen kan binden aan bepaalde 'doel'-SNARE-proteïnen op de organelmembranen. Zo weet het dus de weg, komt het alleen op de juiste plaats zijn pakketje afleveren. Wie alle blaasjes-proteïnen kent én hun bijpassende doel-proteïnen kent het stratenplan van de binnenkant van de cel. Want het blaasjestransport vindt alleen plaats tussen 'verwante' proteïnen.

### EXPLODERENDE IDEEËN

De baanbrekende link werd gelegd in 1993, en Rothman weet het nog exact. 'De laatste resultaten kreeg ik om tien voor elf per telefoon doorgegeven, en om elf uur moest ik een lezing geven. Over iets totaal anders. Ik schijn het er nog redelijk vanaf gebracht te hebben, maar in mijn hoofd explodeerden ondertussen de ideeën. Want wat ik net gehoord had kwam erop neer dat membraanfusie in gist of in een hersencel precies hetzelfde is! Dat we dus waarschijnlijk echt een heel algemeen mechanisme hadden blootgelegd.'

'Het was geweldig. Een moment dat ik zonder aarzelen nog wel eens zou willen beleven, maar dat heel zeldzaam is. Het gebeurt ook bijna nooit dat je in een klap verschillende onderzoeksterreinen bij elkaar brengt.'

Koortsachtig werd er vervolgens gewerkt. Terwijl verdere resultaten nog binnenstroomden schreven Rothman en zijn team al aan een artikel voor het belangrijkste vakblad *Nature*. Het werd natuurlijk de *coverstory*, en het verscheen binnen een paar weken nadat het was aangeboden, zeer uitzonderlijk. Bij elkaar in een lijstje op Rothmans kamer hangen onder meer het kladje waarop hij aan de telefoon de gegevens noteerde, de brief aan *Nature* en een inmiddels al geheel vervaagde fax van de *Nature*-redacteur over correcties en aanvullingen. Nog nagenietend vertelt Rothman: 'Ik had een skivakantie gepland die ik me niet wou laten afnemen. Gelukkig vond ik ergens in een hut een fax. Dan kwam ik de berg af en dan lag er weer een.'

### VIRUSSEN

Een dergelijk alomtegenwoordig proces ontdekken is op zich al mooi genoeg vindt Rothman, gewoon om je nieuwsgierigheid naar hoe de wereld in elkaar zit te bevredigen, maar daarnaast ziet hij ook allerlei medische toepassingen in het verschiet. Bijvoorbeeld omdat gebleken is dat virussen cellen binnendringen met gebruikmaking van onderdelen van het membraanfusiemechanisme. Ze hebben zich als het ware aangepast. Er blijken bovendien inmiddels grote overeenkomsten te zijn tussen fusie binnenin en aan de buitenkant van cellen, die immers ook een buitenmembraan hebben. 'En virussen hebben maar één fusie nodig', zegt Rothman, 'Dan zijn ze binnen en kunnen ze bij het genetisch materiaal van de cel komen, en zichzelf gaan repliceren. En weer en weer.'

Virussen lijken veel meer op 'ons' dan bacteriën. 'Waarom zijn antibiotica zo'n succes?', zegt hij, 'Omdat ze bacteriën aanvallen en die zijn principiële verschillend van onze eigen cellen. Virussen zijn veel subtieler.' Maar hun geheimen moeten ze de laatste tijd een voor een prijsgeven. Dat biedt perspectieven in de strijd tegen bijvoorbeeld HIV – het aids-virus – en influenza, dat ons griep bezorgt. Maar met een beetje geluk zullen ook uitzaaiingen bij kanker het onderspit gaan delven. Want gaat het daarbij uiteindelijk niet steeds om cellen en celonderdelen die de weg kwijt zijn? 'Het gaat om routes die proteïnen afleggen, en daar kunnen onbalansen in ontstaan', vat Rothman samen. 'En kanker is de ultieme onbalans. In groei, in differentiatie, maar ook in "sociaal gedrag". Cellen komen terecht op plaatsen waar ze niet horen, dat noemen we dan uitzaaiingen, en in feite is dat het gevaarlijkste aan kanker. Met meer kennis van proteïnen en hun routes kunnen je veel gericht met medicijnen werken, en hopelijk beter gaan voorspellen wat bij wie werkt.'

Liesbeth Koenen

## HEINEKEN LECTURES 2000

Op maandag 2 oktober 2000 zullen de vijf winnaars van de Heinekenprijzen een lezing houden over hun werk.

James Rothman, Biochemie en de Biofysica  
*Principles of protein transport in cells*

Eric Kandel, Geneeskunde  
*Genes, synapses, and long-term memory*

Poul Harremoës, Milieuwetenschappen  
*Scientific incertitude in environmental analysis and decision making*

Jan de Vries, Historische Wetenschap  
*Toward a history that counts. Meaning and method in historical research*

Guido Geelen, Kunst  
*Een goed kunstwerk tilt je op uit je aardse bestaan*

Plaats: Trippenhuis, Kloveniersburgwal 29, Amsterdam

Tijd: 13.30 uur tot 17.30 uur

Inlichtingen en aanmelding: tel. 020-5510769/759