

De stoffen koolmonoxide, stikstofmonoxide en zink komen in zeer kleine concentraties voor in het menselijk lichaam. Om de werking en functie van deze stoffen beter te kunnen begrijpen, is het belangrijk ze goed te kunnen detecteren. Maar dat is lastig, omdat de moleculen erg klein zijn en de concentraties laag. Promovendus drs. Toon Evers werkte aan eiwitten die als sensoren voor deze stoffen fungeren. Is er een molecuul in de buurt dan licht het eiwit door fluorescentie op in een specifieke kleur.

Knutselen met fluorescerende eiwitten

Koolmonoxide (CO in chemische termen) is vooral bekend als geruisloze sluipmoordenaar. Het reukloze gas veroorzaakt elke winter wel een paar doden door haperende ouderwetse kachels op slecht geventileerde zolder-tjes. Dat het gas ook in een gezond lichaam voorkomt, is minder bekend. In minuscule hoeveelheden weliswaar, maar toch. 'De concentratie van het koolmonoxide in bepaalde cellen van je lichaam verloopt met een op- en neergaande cyclus, parallel aan je dag- en nachtritme', legt promovendus drs. Toon Evers van de faculteit Biomedische Technologie uit. 'Een andere stof die als boodschapper fungeert, is stikstofmonoxide (NO). Ook dit wordt in zeer kleine hoeveelheden door je lichaam aangemaakt. NO zorgt voor verwijding van de bloedvaten. Viagra 'triggert' bijvoorbeeld de aanmaak van deze stof.'

Evers deed zijn promotieonderzoek in de groep Protein Engineering naar verschillende eiwitten voor het detecteren van kool- en stikstofmonoxide en zink in de cellen van het menselijk lichaam.

Dat het lichaam zelf de genoemde giftige stoffen NO en CO aanmaakt, werd pas in de jaren tachtig ontdekt. Evers: 'Het gaat om zodanig lage concentraties dat ze niet schadelijk zijn. Ze hebben alleen de functie van boodschapper. Het is daardoor wel erg moeilijk om onderzoek te doen aan deze stoffen. Er komt nog bij dat de moleculen erg klein zijn, wat het niet eenvoudiger maakt.' Evers richtte zijn pijlen op CO en NO vanwege de belangrijke functie in het lichaam en omdat er nog geen sensoreiwit voor deze stoffen bestond.

Daarnaast richtte hij zich op zink. Dat is belangrijk voor een goede gezondheid. Het heeft een katalytische werking: het versnelt reductie- of oxidatiereacties. Reacties waarbij elektronen een belangrijke rol spelen. 'Deze reacties zijn in heel veel processen in je lichaam belangrijk. Bijvoorbeeld in je hersenen', vertelt Evers. 'Of bij het

ontstaan van de ziekte van Alzheimer. Dat hangt samen met ophopingen van zink.' Maar dat je lichaam zink nodig heeft, dat staat wel vast. 'We begrijpen alleen het mechanisme nog niet precies waarmee het vanuit de voeding in de cel terecht komt. Mijn onderzoek levert gereedschap om dit soort vragen te gaan beantwoorden. De sensoreiwitten die ik heb gemaakt, zijn een gereedschap voor andere wetenschappers om zink beter zichtbaar te maken in de cel.'

Sleutelen aan eiwitten

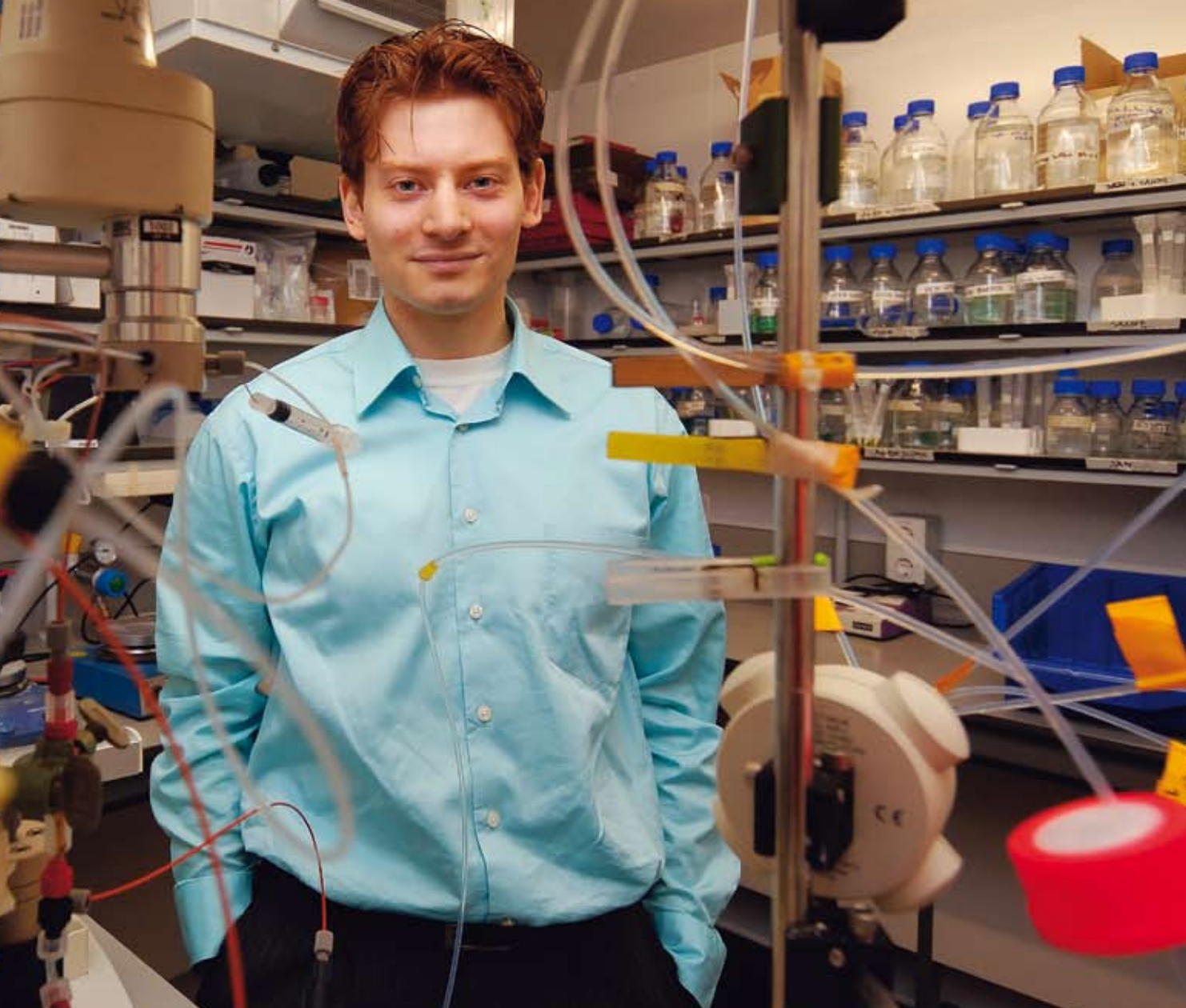
De groep Protein Engineering waarin Evers promoveerde, doet precies wat de naam zegt: sleutelen aan bestaande eiwitten en nieuwe soorten ontwerpen en maken. Doel daarvan is altijd het maken van eiwitten met nieuwe functies. Evers: 'We knopen twee eiwitten bijvoorbeeld aan elkaar, waardoor je een nieuw eiwit krijgt dat beide functies in zich verenigt. Of we veranderen één of meer van de elkaar opvolgende aminozuren, wat ook weer een andere functie oplevert. Eigenlijk doen we letterlijk aan genetische manipulatie.'

Eiwitten zijn enorm belangrijke stoffen voor het functioneren van het menselijk lichaam. Het zijn de werkpaarden en tegelijkertijd de boodschappers van de cel. Elke cel is een fabriekje voor eiwitten, een opeenvolging van aminozuren. Ze worden continu gevormd naar voorbeeld van een stukje DNA. Tussen mensen onderling zijn de meeste eiwitten hetzelfde. Zit er een klein foutje in je DNA, dan kan je lichaam een specifiek eiwit niet goed aanmaken en is er sprake van een bepaalde ziekte.

De keuze voor juist eiwitten als sensoren voor de genoemde stoffen valt te verklaren doordat andere materialen maar moeilijk door het celmembraan heen kunnen dringen. Een optie is dan de sensormoleculen ter plekke in de cel aan te maken. Je bouwt dan een stuk DNA en brengt dat in de cel. Bij de celdeling begint dat DNA

FOTO: RIEN MEULMAN





**Proventus Toon Evers maakte sersoreiwitten om
CO, NO en Zink te detecteren.**

vervolgens in de cel de gewenste eiwitten aan te maken. 'Je hoeft er dan verder niets meer aan te doen', aldus de promovendus.

Lange streng

De twee eiwitten in het sensormolecuul zitten permanent met een soort van lange streng aan elkaar vast. Het linkerdeel is fluorescent in de kleur cyaan (fluorescent wil zeggen: het zendt licht uit nadat er eerder licht van een andere kleur op is gevallen, red.), het rechterdeel in het geel. Komen de twee delen dicht bij elkaar, dan gaat hele molecuul in resonantie, wat ervoor zorgt dat de energie wordt overgedragen aan het rechterdeel. Daardoor wordt er vervolgens meer geel dan cyaan licht uitgezonden. De truc van de sensor zit er nu in dat Evers beide delen van het grote molecuul zo heeft aangepast dat beide zich graag aan zink binden. Komt het molecuul dus al rondzwervend toevallig een zinkmolecuul tegen, dan trekt dit de twee helften naar elkaar toe, resulterend in een veran-

dering van de lichtkleur. Een teken van de aanwezigheid van zink. Door goed naar de veranderende lichtkleur te kijken, is de concentratie aan zink te bepalen. De twee eiwitten die voor het meten van zink worden gebruikt, zijn afkomstig uit een kwal. De gewenste fluorescentiekleuren werden verkregen door aan dit kwal-DNA te sleutelen. De twee eiwitten werden vervolgens aan elkaar geknoopt. Evers: 'Het lijkt op knutselen met moleculen. Inmiddels hebben we bacteriën aan het werk gezet om het verbouwde DNA te reproduceren en de eiwitten te maken.' 'Het uiteindelijke doel is het meten van de zinkconcentratie in levende cellen met behulp van een fluorescentiemicroscop. En de veranderingen daarin', legt Evers uit. 'Een sersoreiwit is trouwens pas echt goed als het alleen de stof meet die je zoekt. Bij de zinksensor is dat het geval. Het reageert helemaal niet op bijvoorbeeld calcium of magnesium.' De ondergrens voor het aantonen ligt bij zink rond de 10^{-8} mol per liter. En daarvoor geldt: hoe sterker het molecuul aan zink bindt, hoe lager de ondergrens komt te liggen. En hoe hoger dus de gevoeligheid voor het meten van de stof. Evers: 'Maar we willen precies te weten komen hoe en waarom dit molecuul zink bindt. Weten we dat eenmaal, dan kunnen we het mechanisme beter maken.'