

# Onderzoekers verbreden de Horizon

Netherlands  
Genomics  
Initiative

Horizon  
Programma



- 
- A detailed microscopic image showing a dense network of plant roots. Several small, worm-like nematodes are visible, some coiled around the roots, illustrating the interaction between the plant and the soil-dwelling organisms.
- 4 Een duidelijke noodzaak – Jo Bury
  - 6 Feiten en cijfers
  - 8 Verhongerde genen – Bas Heijmans
  - 10 Zelf het medicijn aanmaken – Tamar van Dijk
  - 12 MicroRNA's: nieuwe invalshoek tegen kanker – Reuven Agami
  - 14 Verbeterde symbiose – René Geurts
  - 16 Instabiel DNA – Marcel Tijsterman
  - 18 Valorisatie staat voorop – Christine Mummery
  - 20 Spin-off uit vouwend DNA – Wouter de Laat
  - 22 De markt op met microRNA's – Eugene Berezikov
  - 24 Computereiwitten – Chris Oostenbrink



ZonMw



Netherlands Genomics Initiative

# Onderzoekers verbreden de Horizon

## Netherlands Genomics Initiative - Horizon Programma

Begin 2002 gaat het Netherlands Genomics Initiative (NGI) van start met een ambitieuze opdracht: een infrastructuur opbouwen voor internationaal toonaangevend genomics-onderzoek. Kernelement van deze nieuwe infrastructuur zijn de NGI Genomics Centra – consortia van kennisinstellingen, bedrijven en maatschappelijke organisaties die werken aan een doelgericht programma dat fundamenteel onderzoek, valorisatie en maatschappelijke verankering omvat.

Om tegelijkertijd ruimte te creëren voor creatieve ideeën buiten de NGI Genomics Centra om is het Horizon Programma opgezet. Horizon staat open voor onderzoeksvorstellen op het terrein van genomics en bioinformatica en kent twee soorten projecten: kortlopende Doorbraakprojecten gericht op het verkrijgen van een *proof of concept* en Zenith-projecten, grote projecten bedoeld voor het opzetten van een volwassen onderzoekslijn en -groep. Het Horizon Programma fungeert daarmee als een kweekvijver voor onderzoeksleders van morgen.

De eerste periode (2003-2007) van het Horizon Programma was zeer succesvol, zowel wat betreft de belangstelling vanuit het veld, de kwaliteit van de ingediende voorstellen als de resultaten van het gefinancierde onderzoek. Het programma is daarom verlengd met een tweede periode van vier jaar, waarbij het budget vrijwel is verdubbeld.

"Onderzoekers verbreden de Horizon" geeft een overzicht van de structuur en de uitvoering van het Horizon Programma. Maar de aandacht gaat vooral uit naar het fascinerende onderzoek dat binnen de context van het Horizon Programma plaatsvindt. De hier gepresenteerde onderzoeksprojecten laten zien hoe onderzoekers doorlopend hun – en daarmee ook onze – horizon verbreden.

# Een duidelijke noodzaak

Jo Bury over de achtergrond en het succes van het Horizon Programma.



‘De Nederlandse wetenschap staat erg hoog aangeschreven in de wereld. Om dat zo te houden is het belangrijk dat we blijven investeren,’ stelt Jo Bury, directeur van het Vlaams Instituut voor Biotechnologie en van 2003 tot 2007 de eerste voorzitter van de beoordelingscommissie van het Horizon Programma. ‘Om bij te kunnen blijven is snel inspringen op de nieuwste wetenschappelijke ontwikkelingen noodzakelijk. Zoals bij de combinatie van genomics en bioinformatica die aan het begin van dit decennium sterk opkwam.’

## Toepassing versnellen

‘Veel wetenschappers gingen maar langzaam mee in die snelle ontwikkeling,’ herinnert Bury zich. ‘Om onderzoekers in dit veelbelovende veld te stimuleren, ging in 2003 het Horizon Programma van start. Via het versnellen van toepassingen wilden we internationaal koploper worden op het gebied van genomics en bioinformatica. Dat is met Horizon gelukt door het creëren van een kritische massa: Nederland doet het nu goed op de beide vakgebieden. Maar de investeringen moeten doorgaan omdat de ontwikkelingen razend snel gaan en we zo weer achter de feiten aan kunnen lopen.’

De eerste wapenfeiten van het Horizon Programma waren de ‘Doorbraakprojecten’; subsidies van 100.000 euro voor een periode van 1,5 jaar om nieuwe technieken te ontwikkelen en ook om bestaande technieken uit te breiden voor snellere data generatie en data analyse. Bury: ‘Genomics en bioinformatica zijn heel technisch georiënteerde vakgebieden. De meeste

---

bestaande subsidies hebben echter geen ruimte voor de ontwikkeling van nieuwe technologie. Dat gat heeft Horizon opgevuld.'

## Geen garanties

'Je zag dat er duidelijk noodzaak was voor een programma dat innovatieve maar risicovolle projecten kon financieren,' zegt Bury. Ook daarin voorzag Horizon. Het bleek een schot in de roos, want tijdens de eerste vier rondes van het Doorbraakprogramma zijn er 423 aanvragen ingediend, waarvan er 47 gehonoreerd konden worden. We selecteerden grensverleggende projecten met een grote potentie, die in korte tijd te realiseren waren. Bovendien kozen we vaak de nieuwste lichte talentvolle wetenschappers, die hun hoofd echt boven het maaiveld uit durfden te steken.' Nu, zeven jaar later zijn de meeste van de geselecteerde projecten inderdaad succesvol gebleken en nieuwe inzichten hebben het veld in Nederland een boost gegeven.

## Kwaliteitsmerk

Na het behalen van de doelstellingen in een Doorbraakproject konden de wetenschappers vervolgens doorstromen naar een grotere Project-subsidie van een half miljoen euro. Het verkregen hebben van een Doorbraakproject was echter geen vereiste. Circa 30% van de projecten in de Project-rondes (later Zenith genoemd) was gebaseerd op een Doorbraakproject. Een percentage waar we zeer tevreden mee zijn,' stelt Bury. 'Die vervolgsubsidie geeft onderzoekers vier jaar de tijd een *proof of concept* uit te werken tot een volwassen onderzoekslijn.'

Het eerste Horizon Programma werd in 2008 voortgezet in Horizon II met drie rondes Doorbraakprojecten en twee rondes grotere subsidies van maximaal vijf jaar, de 'Zenith-projectsubsidies'. De eerste toegekende Zenith-projecten gaan in 2011 van start.

'Horizon is echt een kwaliteitsmerk geworden. Niet alleen wetenschappelijk in de vorm van hoog impact publicaties, ook op het gebied van valorisatie, het toepassen van de ontwikkelde kennis,' zegt Bury. 'De onderzoeksgroepen die deelnamen aan Horizon I vragen drie tot vijf keer meer octrooien aan dan gebruikelijk. Bovendien ontstaan er spin-off bedrijfjes uit deze groepen. Het Horizon Programma heeft ook effect op de onderzoekers zelf. Veel van hen zijn inmiddels groepsleider geworden.'

# Horizon Programma: Feiten en cijfers 2003-2012

Sinds de start van het Horizon Programma in 2003 zijn 153 projecten gehonoreerd. Een overzicht van de belangrijkste feiten en cijfers tot nu toe.

## Horizon I

Budget:	€ 12 miljoen
Periode:	2003-2007
Doorbraakprojecten:	4 rondes
Projecten:	2 rondes
Ingediend:	620 subsidieaanvragen
Gehonoreerd:	62

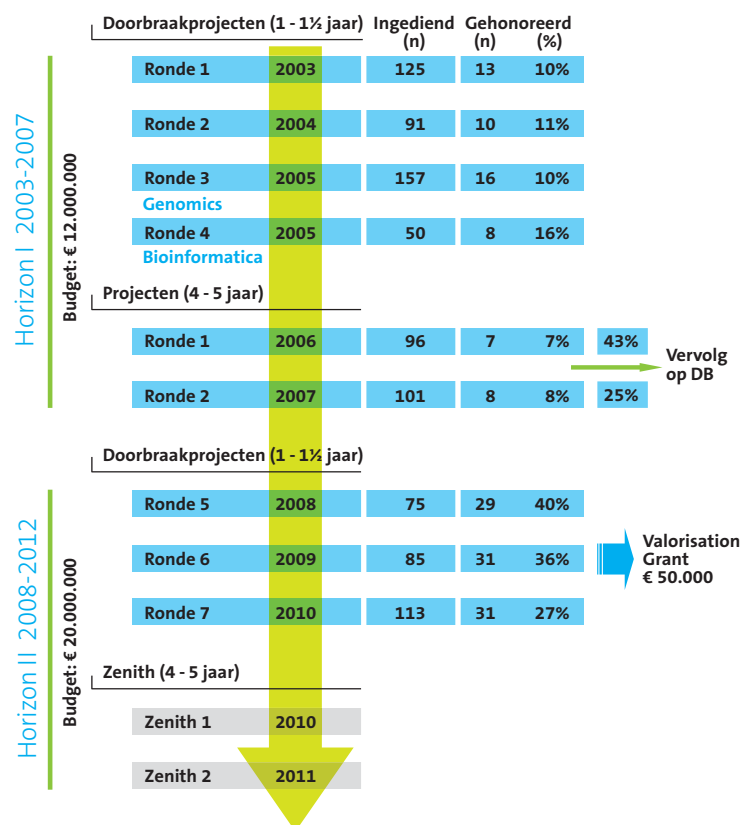
## Horizon II

Budget:	€ 20 miljoen
Periode:	2008-2012
Doorbraakprojecten:	3 rondes
Zenith Projecten:	2 rondes
Ingediend:	273 subsidieaanvragen (tot oktober 2010)
Gehonoreerd:	91 (tot oktober 2010)

In een Doorbraakproject krijgen onderzoekers de kans om een innovatief concept uit te werken en te bewijzen (*proof of concept*). De Project-rondes zijn zo opgebouwd dat onderzoekers eerder behaalde resultaten uit de Doorbraakproject-rondes verder kunnen brengen en uitwerken tot een zelfstandige onderzoekslijn of -groep. Echter, de Project-rondes waren algemeen toegankelijk; eerdere toekenning van een Doorbraaksubsidie was geen vereiste. Dat *proof of concept* veelal werd behaald is terug te zien in de cijfers van de Project-rondes. In de eerste Project-ronde is 43% van de gehonoreerde projecten gebaseerd op een Doorbraakproject en in de 2e ronde is dit een kwart van de toegekende projecten.

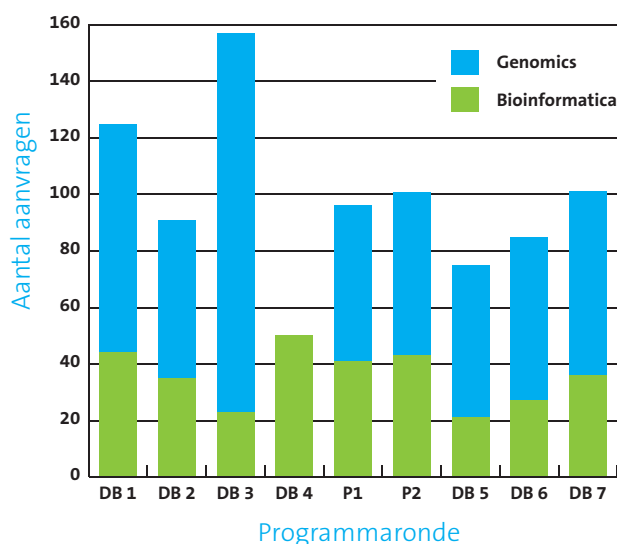
Na het succes van Horizon I werd het programma in 2008 verlengd met Horizon II dat drie Doorbraakproject-rondes en twee rondes Projecten (omgedoopt tot Zenith) omvat. Binnen Horizon II wordt veel waarde gehecht aan valorisatie van de onderzoeksresultaten. Daarom is voor laureaten uit de Horizon rondes een mogelijkheid gecreëerd om een extra subsidie van € 50.000 aan te vragen voor het verder brengen van het valorisatiepotentieel van hun resultaten. Deze extra subsidie kan onder meer worden ingezet voor het financieren van een patentaanvraag, het (laten) uitvoeren van marktonderzoek en het starten van een spin-off bedrijf.

## Overzicht Horizon Programma 2003-2012



## Horizon aanvragen met een bioinformatica component 2003-2010

DB = Doorbraakproject / P = Project



## Genomics

Genomics is de studie van het genoom - het geheel aan erfelijk materiaal van een organisme. Het eerste genomics-onderzoek dateert uit de jaren zeventig van de vorige eeuw, toen wetenschappers begonnen met het bestuderen van de genomen van bacteriofagen, bacterievirussen met een zeer klein genoom. Met het completeren van het humane genoom in 2003 raakte het genomics-onderzoek wereldwijd in een stroomversnelling.

Aanvankelijk brachten genomics-onderzoekers voornamelijk de DNA-sequentie (volgorde) van allerlei organismen in kaart, maar tegenwoordig bestuderen ze ook hoe dat DNA wordt verwerkt en gereguleerd en bijdraagt aan de vorming van het organisme. Ook grootschalige vergelijkende expressiestudies, het in kaart brengen van interacties van eiwitten (proteomics) en metabolieten (metabolomics) en 'epigenetische' analyses zijn nu een belangrijk onderdeel van genomics.

De groei van het genomics-veld wordt voor een groot deel ingegeven door het constant goedkoper en sneller worden van het sequencingproces. Van steeds meer organismen kan daardoor de DNA-volgorde worden bepaald. Bovendien groeit het aantal analysemogelijkheden sterk; denk aan het vergelijken van DNA van een (grote) groep patiënten of van de RNA-expressieprofielen van een tumor met die van een gezonde cel. Toepassing van genomics is echter niet beperkt tot de mens. Ook in andere vakgebieden draagt genomics bij aan versnelde inzichten. In bijvoorbeeld de plantenbiotechnologie kan steeds beter worden uitgezocht welke genen betrokken zijn bij eigenschappen als droogteresistentie of verminderde vatbaarheid voor infectieziektes. Veredeling kan vervolgens veel efficiënter worden toegepast.

## Bioinformatica

Bioinformatica is het vakgebied dat biologie en informatica combineert. Biologie en met name de genomics, genereert zoveel data, dat er zonder de hulp van computerkracht nauwelijks bruikbare kennis uit valt te deduceren.

Bioinformatica omvat ontwerp, implementatie en optimalisatie van databases, algoritmes en mathematische en statistische analyses die de grote stroom aan data inzichtelijk maken. Het maakt gebruik van patroonherkenning, datamining en algoritmes om bijvoorbeeld genfuncties te achterhalen, medicijn-enzym interacties te analyseren of 3D-eiwitstructuren te voorspellen.

De vierde Doorbraakproject-ronde in Horizon I was alleen toegankelijk voor bioinformatica projecten. Uit de resultaten van Horizon I bleek dat bioinformatica onherroepelijk samen gaat met genomics. Bioinformatica is een belangrijk onderdeel geworden van genomics en breder nog; de life sciences in het algemeen. Zoals blijkt uit de diagram, bevat ruim 30% van de aanvragen een bioinformatica component en dit percentage ligt bij de grotere Project-rondes zelfs nog hoger (43%).

# Verhongerde genen

---

Ondervoeding tijdens de zwangerschap kan grote invloed hebben op de gezondheid van het kind, ook op latere leeftijd. **Bas Heijmans** (Leids Universitair Medisch Centrum) laat zien hoe dit op genetisch niveau in elkaar steekt.

NRC, Noorderlicht, en zelfs buitenlandse media als de BBC en het vermaarde populairwetenschappelijk tijdschrift *New Scientist*, allemaal hebben ze breed aandacht besteed aan het onderzoek van Bas Heijmans, moleculair epidemioloog aan het LUMC. Hij probeert te achterhalen hoe het kan dat kinderen die verwekt zijn in de Hongerwinter van 1944-1945 tientallen jaren later een hogere kans op schizofrenie en een ongunstiger hart- en vaatziekten risicoprofiel hebben dan hun broers en zussen die eerder of later geboren zijn.

Omdat kinderen van dezelfde ouders die buiten de Hongerwinter waren geboren niet hetzelfde risicoprofiel hadden, kon de fout niet in de basepaarvolgorde liggen: er moest een epigenetische verandering aan de opvallende verschillen ten grondslag liggen. Zulke epigenetische aanpassingen worden onder andere aangestuurd door methylering van stukken DNA: door methylgroepen aan de base cytosine van het DNA te binden, kan een cel de expressie van genen reguleren (zie kader).

## Methylering

---

‘In ons onderzoek vonden we dat externe factoren blijvende epigenetische veranderingen kunnen veroorzaken,’ vertelt Heijmans. ‘Het bleek dat bij kinderen uit de Hongerwinter, die nu 60 jaar zijn, het groeihormoon IGF2 minder gemethyleerd was vergeleken met dat van hun broers en zussen. Een levenslang hogere expressie van het gen bij het Hongerwinterkind kan een verklaring zijn voor hun gezondheidsrisico. Inmiddels hebben we ook 15 andere genen onderzocht en daaruit bleek dat de veranderingen niet beperkt zijn tot IGF2.’ Het onderzoek van Heijmans’ groep was de eerste keer dat werd aangetoond dat een gebeurtenis tijdens de zwangerschap van de moeder een levenslang en vergaand epigenetisch effect op het DNA van een kind kan hebben.

‘Bij de start van het Doorbraakproject hadden we alleen gekeken naar dat ene gen, terwijl de verwachting is dat de Hongerwinter zijn effect heeft gehad op veel meer delen van het genoom en ook dat die effecten

substantieel groter kunnen zijn,’ zegt Heijmans. ‘We wilden dus het methylatiepatroon genoombreed bekijken en dat ook nog eens van meerdere personen naast elkaar vergelijken.’

Tot voor kort waren epigenoom-brede studies zo goed als onmogelijk. Recentelijk ontwikkelden Amerikaanse wetenschappers echter een nieuwe methode om op grote schaal DNA te sequencen na behandeling met bisulfit, het zogenaamde *reduced representation bisulfite sequencing* (RRBS). ‘Bisulfit verandert cytosine in de base uracil, maar alleen als de cytosine niet gemethyleerd is,’ vertelt Heijmans. ‘Als je vervolgens van dat genoom de basepaarvolgorde bepaalt met ultra snelle machines en die over het normale genoom legt, dan weet je precies welke gebieden gemethyleerd zijn en in welke mate.’

‘Afgelopen jaar is een promovendus naar de Verenigde Staten afgereisd om de techniek onder de knie te krijgen. Met het geld van het Horizon project is ondertussen het epigenoom bepaald van 24 in de Hongerwinter verwekte kinderen en hun 24 broers en zussen,’ vertelt Heijmans. ‘Dat leverde per persoon circa 20 miljoen stukjes DNA op, die we nu allemaal aan het inpassen en analyseren zijn.’

‘We willen zo in kaart brengen welke blijvende epigenetische veranderingen het gevolg kunnen zijn van ongunstige omstandigheden in de baarmoeder,’ zegt Heijmans. ‘Op termijn kan met zulke kennis vroeg in het leven worden vastgesteld of een problematische verlopen zwangerschap op de lange termijn gevolgen heeft voor de gezondheid als er niet wordt ingegrepen. Want epigenetische schade kan in principe later in het leven hersteld worden. Mogelijk kunnen voedingsmiddelen en medicatie hier aan bijdragen.’

Heijmans denkt in 2011 de resultaten van de epigenoom-brede studie te kunnen vertalen in een serie publicaties. ‘Laten we hopen dat het dezelfde wetenschappelijke impact heeft als ons eerder onderzoek,’ besluit hij.



# Epigenetica

Epigenetica is de verzameling van alle erfelijke invloed op de activiteit van genen die niet rechtstreeks door de DNA-volgorde wordt bepaald, maar door omkeerbare aanpassingen aan de manier waarop het DNA is ingepakt. Een belangrijk onderdeel van epigenetica is de zogenaamde methylering van DNA. Daarbij koppelt de cel methylgroepen aan de base cytosine, wat werkt als een 'dimmer' die reguleert welke genen wel en niet tot expressie komen. De dimmers worden geactiveerd voor de geboorte en dan vooral vlak na de verwekking. Eenmaal geactiveerd zorgen ze er bijvoorbeeld voor dat in levercellen geen genen aanstaan om bot aan te maken. Sommige omstandigheden, zoals ondervoeding, kunnen ook epigenetische veranderingen teweeg brengen. Zo zou het individu zich kunnen aanpassen ondanks de onveranderlijkheid van de DNA-volgorde.



## $\beta$ -thalassemie en sikkelcelanemie

$\beta$ -thalassemie en sikkelcelanemie zijn erfelijke aandoeningen waarbij het hemoglobine in de rode bloedcellen niet goed functioneert. De voornaamste functie van hemoglobine is het transporteren van zuurstof in het bloed en beide ziektes leiden dan ook tot een chronische bloedarmoede. Bij  $\beta$ -thalassemie is de oorzaak vooral van kwantitatieve aard: door een genetisch defect wordt er niet genoeg hemoglobine aangemaakt.

Sikkelcelanemie daarentegen is een kwalitatief probleem. Rode bloedcellen worden wel aangemaakt, maar zijn misvormd en werken daardoor slecht. Beide ziektes worden veroorzaakt door mutaties in de  $\beta$ -globinegenen, maar de plaats van de mutaties verschillen. De ziektebeelden komen overeen: bloedarmoede, miltproblemen en vertraagde groei en ontwikkeling. Patiënten waarbij de ziekte zich heftig manifesteert, worden zelden ouder dan 40 jaar.

# Zelf het medicijn aanmaken

Voor sommige bloedziektes zit het medicijn verborgen in het eigen DNA.

Thamar van Dijk (Erasmus Medisch Centrum) zoekt de schakelaars die deze genen weer aanzetten.

$\beta$ -globine is een essentieel onderdeel van het zuurstof- vervoerende hemoglobine in de rode bloedcellen. Ruim zes procent van de wereldbevolking loopt rond met een mutatie in één van zijn  $\beta$ -globinegenen. Als beide genen gemankeerd zijn, dan kan dit leiden tot  $\beta$ -thalassemie of sikkelcelanemie, ziektes waarbij de rode bloedcellen hun werk niet goed doen (zie kader) met alle gevolgen van dien: bloedarmoede, achtergestelde ontwikkeling en soms zelfs de dood.

Omdat het hebben van de sikkelcelmutatie in maar één van beide genen een lichte bescherming biedt tegen malaria, komt sikkelcelanemie relatief veel voor bij mensen die rond de evenaar wonen, daar waar malaria endemisch is. Deze mensen hebben geen symptomen van bloedarmoede maar hun rode bloedcellen zijn niet geheel normaal. De malariaparasiet *Plasmodium* kan zich in de licht gemankeerde bloedcellen niet goed vermenigvuldigen.  $\beta$ -thalassemie daarentegen komt vooral voor bij mensen rond de Middellandse Zee. 'Door migratie komen beide aandoeningen echter ook steeds vaker in Nederland voor,' zegt postdoc celbiologie Thamar van Dijk van het Erasmus MC. In een Doorbraakproject onderzoekt hij of het mogelijk is om het lichaam zijn eigen medicijn tegen de aandoening te laten produceren.

## Lichaamseigen medicijn

'Ons DNA bevat een serie genen die bijna identiek zijn aan de  $\beta$ -globinegenen. Als deze genen ingeschakeld kunnen worden dan zouden ze hun taak zo kunnen overnemen,' legt Van Dijk uit. Deze zogenaamde  $\gamma$ -globinegenen staan alleen aan tijdens de ontwikkeling van het embryo in de baarmoeder. Rond de geboorte worden ze uitgeschakeld, waarna de  $\beta$ -variant het werk overneemt. 'Dat heeft te maken met een veranderende zuurstofbehoefte voor en na de geboorte en een miniem verschil in zuurstofaffiniteit tussen de beide globines,' stelt Van Dijk.

'Het zou natuurlijk mooi zijn wanneer we bij patiënten met sikkelcelanemie of  $\beta$ -thalassemie de wel werkende  $\gamma$ -globinegenen weer kunnen aanzetten,' vervolgt hij. Tot voor kort was het echter nauwelijks bekend welke genen betrokken zijn bij het switchen van de globines. 'In dit project hebben we daarom de genexpressiepatronen vergeleken van bloedcellen met een lage en een hoge  $\gamma$ -globineconcentratie, bijvoorbeeld door volwassen en foetale rode bloedcellen naast elkaar te leggen. Genen die alleen tot expressie komen in cellen met een lage  $\gamma$ -globinewaarde zijn mogelijk betrokken bij het uitzetten van de  $\gamma$ -globinegenen.'

## Patent op gen

Van de 24 kandidaat-genen die uit deze screening van genexpressiepatronen kwamen, bleken er uiteindelijk zeven betrokken bij het remmen van de  $\gamma$ -globulineproductie. 'Het verlagen van de expressie van deze genen resulteerde in een verhoogde  $\gamma$ -globuline-expressie.' Twee van de genen worden op dit moment verder onderzocht: BCL11A en FOP, beide zijn transcriptiefactoren. 'Transcriptiefactoren reguleren vaak meer dan één gen, dus voordat je de expressie hiervan gaat beïnvloeden, moet je eerst weten hoe de volledige cascade van regulering in elkaar steekt,' zegt Van Dijk, 'daar zijn we nu druk mee bezig.' De analyse van FOP leverde Van Dijk en zijn vakgroep publicaties op in *Blood* en *MCB*, twee vooraanstaande tijdschriften.

Voor FOP als  $\gamma$ -globineremmer heeft van Dijk een patent aangevraagd. 'We hebben daarin alle mogelijke manieren beschreven om de expressie en functie van het gen te remmen, zoals het gebruik van shRNA's, verschillende types antilichamen en FOP-bindende eiwitten. Hopelijk gaat een bedrijf daar mee aan de slag, om uiteindelijk het lichaam een medicijn te laten maken tegen zijn eigen foutje,' besluit van Dijk.



# MicroRNA's: nieuwe invalshoek tegen kanker

Reuven Agami (Nederlands Kanker Instituut) onderzoekt hoe misgelopen microRNA-regulatie hersteld kan worden, om zo tumorvorming tegen te gaan.

Ondanks grote vooruitgang in de wetenschap blijft kanker een van de belangrijkste doodsoorzaken in de westerse wereld. Bovendien zijn de methodes om kanker te lijf te gaan, zoals bestraling en chemotherapie, ontzettend zwaar voor de patiënt. Hoogleraar genetica Reuven Agami van het NKI probeert daarom nieuwe invalshoeken te vinden om de ziekte onder controle te krijgen. Hij kijkt hiervoor naar zogenaamde microRNA's, een regulatiesysteem waar pas sinds het begin van dit millennium onderzoek naar wordt gedaan (zie kader). Zijn resultaten leveren hem en zijn vakgroep regelmatig artikelen op in hoog aangeschreven wetenschappelijke tijdschriften.

## Genoominstabiliteit

Het afgelopen decennium is steeds duidelijker geworden dat microRNA's erg belangrijk zijn in het functioneren van de cel. Automatisch betekent dit, dat als er iets misgaat met de microRNA's het verstreckende gevolgen heeft, zoals bijvoorbeeld de ontwikkeling van kanker. Met behulp van een Horizon Project onderzocht Agami daarom op grootschalig niveau welke microRNA's kankerbevorderende en kankeronderdrukkende effecten hebben. Hij gebruikte hiervoor een door hemzelf ontwikkeld reportersysteem waarmee hij alle microRNA's kan detecteren die een geselecteerd gen reguleren. 'Uit ons onderzoek bleek inderdaad dat een verhoogde expressie van bepaalde microRNA's leidde tot uitzaaiing van bijvoorbeeld borst- en hersentumoren,' zegt Agami. 'Ook bleek een te hoge productie van sommige andere microRNA's genoominstabiliteit te veroorzaken, iets wat typerend is voor het DNA in tumorcellen.'

## Overproductieve microRNA's

De onderzoeksresultaten van Agami staan onder andere beschreven in *Nature*, *Science*, *Cell* en *Nature Cell Biology*. 'De grootschalige screenings die we met de Horizon-subsidie konden uitvoeren waren erg vernieuwend en leverden een grote hoeveelheid aan baanbrekende inzichten op. We hebben een hele serie nieuwe microRNA's en hun functies gevonden en beschreven.

De volgende stap is om die overproductieve microRNA's tot stilte te manen. 'Dat kan door een stukje anti-microRNA te maken dat precies de tegenovergestelde basenvolgorde heeft als het origineel,' legt Agami uit. 'Dat tegenovergestelde stukje bindt dan aan het lichaamseigen microRNA, waardoor dat zijn werk niet kan doen.' Zo kan met synthetische anti-microRNA's het effect van microRNA's afgeremd worden. Er zijn al preklinische testen uitgevoerd die erg succesvol zijn verlopen. 'Een groot voordeel van microRNA's is dat ze zo klein zijn dat ze erg gemakkelijk de cel binnendringen, veel gemakkelijker dan bijvoorbeeld hele genen zoals die gebruikt worden bij gentherapie,' besluit Agami. 'Dat betekent dat de kans op een geslaagde therapie tegen kanker op termijn groter is.'

## MICRORNA'S

Het klassieke idee van eiwitproductie in een cel is dat DNA wordt afgeschreven tot RNA, waarna het ribosoom, op basis van het RNA, een eiwit vormt. De eiwitten reguleren vervolgens alle processen in de cel, van ademhaling tot celdeling en DNA-reparatie. Het proces van transcriptie en translatie wordt echter zeer nauw geregeld door allerlei moleculaire mechanismen waar nog steeds nieuwe varianten van worden gevonden. Een belangrijk regulatiemechanisme is dat van de microRNA's, waarvan in 1993 de eerste werd



ontdekt. Destijds dachten wetenschappers nog dat het een bijzonderheid was zonder al te veel betekenis. Pas rond het jaar 2000 bleek dat de nieuw gevonden genen ontzettend belangrijk waren en kwam het onderzoek goed op gang. Tot dusver zijn er in het genoom van de mens circa 1000 microRNA-genen geïdentificeerd. MicroRNA's zijn kleine RNA-moleculen van een 20 tot 25 nucleotiden lang. Ze bestaan uit de complementaire (tegenovergestelde) sequentie van het uiteinde van het RNA van het gen dat ze reguleren. Door die tegenovergestelde sequentie binden ze aan het RNA, wat

daardoor deels dubbelstrengs wordt en niet meer kan leiden tot eiwitproductie. Genexpressie is dus via microRNA te reguleren: microRNA kan worden ingezet om te interfereren met ziekteveroorzakende genen. Zo is een synthetisch stukje RNA dat de complementaire nucleotidevolgorde van het microRNA bevat (een anti-microRNA) in staat om cellulair microRNA te blokkeren. Die synthetische anti-microRNA-moleculen kunnen zo fungeren als medicijnen die de expressie van bijvoorbeeld tumorsuppressorgenen reguleren en zijn dan ook onderwerp van veel onderzoek.





# Groene Biotechnologie

# Verbeterde symbiose

Gewassen hebben een innige samenwerking met bacteriën nodig om aan hun stikstof te komen. René Geurts (Wageningen Universiteit) onderzoekt hoe deze symbiose tot stand komt en hoe die te verbeteren valt.

Veel onderzoek binnen het Horizon Programma richt zich op humaan en het daaraan gelinkte medische onderzoek. Maar ook de “Groene Biotechnologie”, die zich focust op landbouw en voedselproductie is een belangrijke pijler. Bijvoorbeeld in het onderzoek van René Geurts van Wageningen Universiteit en Researchcentrum. Hij onderzoekt hoe vlinderbloemigen zoals de erwt, de boon en soja hun symbiose met rhizobiumbacteriën reguleren. Deze bacteriën voorzien de plant van gebonden stikstof.

‘Vlinderbloemigen zijn eiwitrijke planten,’ zegt Geurts. ‘Al sinds mensenheugenis is het daarom een belangrijke voedingsbron voor mensen.’ Die eiwitrijkheid hebben de planten te danken aan hun symbiose met rhizobiumbacteriën die zich met miljoenen tegelijk verschansen in zogenaamde wortelknolletjes. Vanuit deze speciaal gevormde organen zetten de bacteriën moleculaire stikstof om in ammonia, zodat de plant dat kan gebruiken om eiwitten aan te maken. Als wederdienst krijgen de bacteriën suikers als voedselbron.

In de landbouw is dat ongunstig: het verlaagt de opbrengst aanzienlijk, om dat te voorkomen is bijmesten vereist. Het zou daarom gunstig zijn om het proces van wortelknolafsterven te kunnen reguleren en het proces uit te kunnen stellen. Boeren hoeven dan minder kunstmest op hun akkers te strooien, wat goedkoper en milieuvriendelijker is.

## Oklahoma

Geurts probeert daarom alle genen die betrokken zijn bij het proces te achterhalen. Met zijn eerste Horizon Doorbraakproject heeft hij een methode ontwikkeld om planteigen genen specifiek in het knolletje uit te schakelen. Ook kan hij de expressie in het knolletje opschroeven. ‘Met deze methoden beïnvloeden we de expressie van bepaalde kandidaatgenen, om vervolgens te kijken of dat een effect heeft op wortelknolafsterving,’ zegt Geurts. ‘In combinatie met andere moleculaire technieken kunnen we vervolgens de precieze rol van een dergelijk gen achterhalen.’

De methode bleek uiterst succesvol, waardoor Geurts ook kon profiteren van een grotere follow-up Projectsubsidie van Horizon. Daarin pakt hij, in een samenwerking met de *Samuel Roberts Noble Foundation* in Oklahoma (VS), zijn zoektocht naar de sleutelgenen groter aan. ‘De verwachting is dat het afsterven van de wortelknolletjes al uren voor de daadwerkelijk gebeurtenis te zien is in het expressiepatroon van allerlei genen,’ zegt hij. ‘We isoleren daarom het RNA van verschillende lijnen van onze modelplant *Medicago truncatula*, waarbij we vlak daarvoor wortelknolsenescentie geïnduceerd hebben. Zo gaan we op zoek naar die genen die aan de basis staan van het senescentieproces.’ Daaruit valt vervolgens een hele set genen te destilleren die wortelafsterving induceren of afremmen. ‘Wij zijn vooral geïnteresseerd in de transcriptiefactoren; de hoofdschakelaars van het proces,’ stelt Geurts. ‘Als je die weet te lokaliseren en aan te passen, dan kun je het hele proces onder controle krijgen. Om de functie van de transcriptiefactoren vervolgens één voor één precies te definiëren gebruiken we weer de methode die we in het Horizon Doorbraakproject hebben ontwikkeld.’



De symbiose maakt de plant onafhankelijk van stikstofbronnen in de bodem of (kunst) mest. Echter, het aanmaken en onderhouden van wortelknolletjes kost veel energie. Onder stressomstandigheden, zoals bij droogte of tijdens een infectie, komt het dan ook regelmatig voor dat de plant de knolletjes laat afsterven. Dit is het proces van het zogenaamde wortelknolsenescentie.

# Instabiel DNA

DNA ondergaat doorlopend reparatiewerkzaamheden om fouten te herstellen. Maar dat gaat niet altijd goed. **Marcel Tijsterman** (Leids Universitair Medisch Centrum) onderzoekt de zwakke plekken in het DNA.

Ons DNA heeft behoorlijk wat te verduren over de jaren heen. Continue bombardementen van omgevingsfactoren als uv-straling, zuurstof en voedsel zorgen ervoor dat er nogal eens wat misgaat: mutaties, deleties of complete breuken zijn aan de orde van de dag. Ook het proces van DNA-replicatie tijdens celdeling blijkt alles behalve betrouwbaar, waardoor er nogal eens wat fouten worden ingebouwd in ons erfelijk materiaal. Als al die schade niet hersteld zou worden, kan dat nare gevolgen hebben, zoals de ontwikkeling van kanker. Er is daarom een scala aan mechanismen geëvolueerd die er samen voor proberen te zorgen dat fouten niet gemaakt worden, of die de toch gemaakte fouten herstellen.

Marcel Tijsterman, groepsleider bij toxicogenetica aan het LUMC, identificeert en bestudeert dit soort herstel- en reparatiemechanismen. 'Als je begrijpt welke mutaties genoominstabiliteit veroorzaken, kun je daar uiteindelijk wat aan proberen te doen,' zegt hij. 'Dat kan vervolgens leiden tot nieuwe medicijnen tegen kanker.'

## Nematode

Tijsterman werkt met het modelorganisme *C. elegans*, een nematode (worm) van ongeveer een millimeter groot. 'Veel genen en mechanismen van *C. elegans* zijn evolutionair geconserveerd en ook bij de mens terug te vinden. Resultaten zijn daarom vaak extrapoleerbaar. Omdat de nematoden snel groeien, leven en delen, kun je met dit soort organismen in hoog tempo genetische proeven doen.'

'Wij kijken naar zogenaamde G4 structuren. Dit zijn DNA-fragmenten in het genoom met dichtbij elkaar vier reeksen van minimaal drie guaninenucleotiden die onderbroken worden door een willekeurige serie basenparen,' legt Tijsterman uit. 'Als het DNA bij het kopiëren tijdens celdeling tijdelijk enkelstrengs is, kunnen de regio's met de G's met zichzelf paren, met als gevolg dat structuren ontstaan die problemen opleveren tijdens DNA-replicatie. Het DNA is dan kwetsbaar en kan verloren gaan. Als een G4 structuur in een gen ligt, kan dat gen hierdoor uitgeschakeld worden, met alle nare gevolgen van dien.'

Om dit soort deleties te voorkomen, herbergt de cel allerlei stabilisatie-eiwitten die de vorming van verbindingen tussen de guanineregio's tegengaan. 'Welke genen coderen voor die stabilisatie-eiwitten is echter nauwelijks bekend,' zegt Tijsterman. Met zijn eerste Doorbraaksubsidie ontwikkelde hij daarom een ingenieus reportersysteem om die genen te identificeren. Hij ontwierp een methode waarin een gen dat codeert voor groen fluorescerend eiwit (GFP) alleen aanstaat als bepaalde G4-stabilisatiemechanismen van de cel niet werken.

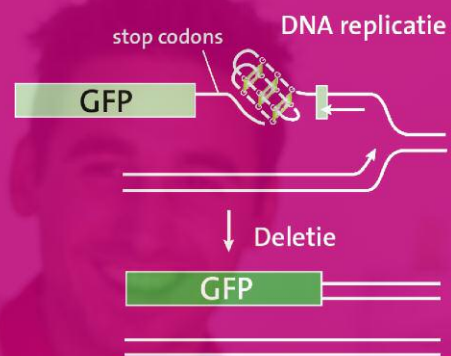
In het reportersysteem zette Tijsterman een G4 structuur vlak voor het GFP-gen, maar zodanig dat er direct achter de G4 structuur stopcodons gelegen zijn (zie figuur). Die zorgen ervoor dat er geen GFP eiwit wordt gemaakt. Dit reportersysteem werd vervolgens ingebouwd in het DNA van nematoden. Als het DNA stabiel is zal er dus nooit GFP te zien zijn. 'Het is door middel van RNA interferentie (RNAi) heel gemakkelijk om genen één voor één uit te schakelen in dit organisme' vertelt Tijsterman. 'Als één van de uitgeschakelde genen nu specifiek voor een G4-stabilisatiemechanisme codeert, dan gaat het G4-gedeelte in de reporter problemen opleveren, en vinden er deleties van stukken DNA plaats. Als deze deleties de stopcodons verwijderen dan zal het GFP- eiwit wel worden gemaakt. Gevolg: de nematoden waar dat gebeurt worden groen.'

'De ontworpen methode bleek goed te werken,' zegt Tijsterman. 'Recentelijk hebben we er nieuwe mutaties in het dog-1 gen mee geïdentificeerd, waarvan al bekend was dat het betrokken was bij genoomstabiliteit. Als dat gen niet goed werkt vinden er allerlei deleties in het genoom van *C. elegans* plaats.'

Tijsterman heeft ook een vervolgproject goedgekeurd gekregen. 'We willen nu doorstoten en met het systeem meer genen identificeren,' stelt hij. 'We hebben bovendien een afgeleid systeem ontworpen waarin we naar een ander type genoominstabiliteit kijken. Ook kijken we in menselijke cellen of de effecten die we vinden in de nematode daadwerkelijk daar te vinden zijn.'

# In frame, uit frame

Ribosomen die een RNA-molecuul omzetten in een eiwit, lezen het RNA af in triplets: drie nucleotiden vormen steeds één aminozuur. De eerste triplet is altijd AUG en is tevens het startcodon dat codeert voor een methionine. De DNA-serie AUG AAG GUA AAC levert zo een methionine – lysine – valine - asparagine eiwit op. Verdwijnt er echter één nucleotide uit de reeks, dan verschuift het hele leesraam: het eiwit raakt "uit frame". Verdwijnt de tweede A uit de bovenstaande reeks AUG AGG UAA AC, dan maakt het ribosoom er methionine - arginine - isoleucine van, een totaal ander eiwit dat nooit dezelfde functie uitvoert. Tijsterman maakt in zijn project gebruik van dit gegeven door een eiwit expres "uit frame" te zetten, zodat het alleen werkzaam wordt afgeschreven als het door een deletie weer "in frame" komt.



Bovenstaande figuur laat het DNA-reporter-systeem zien waarbij GFP alleen wordt afgeschreven als er deleties optreden. Zodra GFP wordt afgeschreven na RNAi en de nematode groen oplicht, dan weten we dat het uitgeschakelde gen te maken heeft met het G4 herstelmechanismen. Zo kunnen genen die belangrijk zijn voor genoomstabiliteit makkelijk geïdentificeerd worden.

# Valorisatie staat voorop

---

Het Horizon Programma legt de nadruk op valorisatie en dat is bijzonder, vindt [Christine Mummery](#), voorzitter van de Horizon commissie. 'Het is bijna on-Nederlands om valorisatie zo hoog op de agenda te zetten.'



**'Genomics biedt grote kansen voor de farmacie, de landbouw, de voedselvoorziening en het oplossen van milieuproblemen,' stelt Christine Mummery, hoogle-  
raar ontwikkelingsbiologie bij de afdeling Anatomie en Embryologie van het Leids Universitair Medisch Centrum en sinds 2007 voorzitter van de Horizon com-  
missie. 'Met genomics kijk je in detail naar hoe cellen in elkaar zitten. Neem bijvoorbeeld medicijnontwikkeling: pas als je het samenspel van DNA, RNA en eiwitten door en door begrijpt, kun je de oorzaak van ziektes doorgronden en gericht medicijnen ontwikkelen.'**

'Hetzelfde geldt voor bijvoorbeeld plantenveredeling: pas als je onderzoekt welk gen welke functie heeft en wanneer het tot expressie komt, kun je de opbrengst van een gewas efficiënt opschroeven. Je ziet dan ook dat genomics en de daarbij essentiële bioinformatica doordringt tot alle vakgebieden binnen de biologie.'

## Silicon Valley

---

'Wel is het belangrijk dat alle kennis die genomics oplevert niet alleen in de onderzoekswereld blijft, maar ook terecht komt bij bedrijven die met de kennis aan de slag gaan, zodat de samenleving daadwerkelijk kan profiteren van de vooruitgang,' stelt Mummery. 'Bovendien is het belangrijk voor de kenniseconomie, die Nederland zo graag wil zijn, om de kennis te vermarkten.' Binnen het Horizon Programma wordt er dan ook gelet op de valorisatiemogelijkheden van de ingediende projecten. 'Het is eigenlijk een beetje on-Nederlands om valorisatie zo hoog op de agenda te zetten. In Nederland wordt hoogwaardig onderzoek gedaan, maar aan valorisatie mankeert het nog wel eens,' vertelt Mummery.

‘Dat terwijl bijvoorbeeld de Universiteit van Wageningen zeker de potentie heeft om uit te groeien tot een soort *Silicon Valley* op het gebied van landbouw en voedselvoorziening.’

In de commissie die de aanvragen voor Horizon projecten beoordeelt is daarom expertise aanwezig met het opzetten van biotechbedrijfjes, zodat duidelijk is waar kansen voor vermarkting liggen. ‘Je ziet dat de insteek succesvol is, want de Horizon projecten hebben bovengemiddeld veel patentaanvragen opgeleverd,’ zegt Mummery. ‘Ook zijn er al enkele spin-off bedrijven opgericht en volgen er ongetwijfeld meer.’

## Techniek en software

Een van de focusgebieden van het Horizon Programma is het ontwikkelen van nieuwe technieken of het aanleren en verbeteren van technieken die elders zijn ontwikkeld. ‘Veel wetenschappelijke problemen binnen het genomics-onderzoek zijn van technische aard. Je hoort wetenschappers vaak zeggen: ‘we willen dit of dat onderzoeken, maar hebben de techniek er niet voor en het geld niet om het te ontwikkelen’, weet Mummery. ‘Horizon is daar ingestapt en biedt via korte trajecten de mogelijkheid om technieken snel te ontwikkelen en te gebruiken.’

Een tweede belangrijk aandachtsgebied is software-ontwikkeling voor bioinformaticatoepassingen. ‘Genomics levert zoveel computerdata op, dat is nauwelijks te behappen,’ stelt Mummery. ‘Veel van het huidige biologeonderzoek speelt zich dan ook af achter de computer in plaats van in het lab. DNA-sequenties, expressieprofielen, methyleringskarakteristieken, alles moet via speciale softwareprogramma’s geanalyseerd worden. Waar genomics de letters produceert, zorgt bioinformatica ervoor dat het zinnen en hoofdstukken worden. ‘Via het Horizon Programma kunnen vakgroepen hun bioinformatica-infrastructuur verbeteren of nieuwe software ontwikkelen,’ zegt Mummery. ‘Bijkomend voordeel is dat softwareprogramma’s een valorisatiepotentieel met zich meebrengen. Als ze goed zijn, kunnen ze immers gemakkelijk door onderzoekers over de hele wereld worden gebruikt.’

Door de investeringen blijft Nederland aan de top van het genomics-veld. ‘We hebben in dit land ontzettend veel goede instituten en universiteiten, met talentvolle onderzoekers die graag geziene sprekers zijn op congressen – ook in het buitenland,’ zegt Mummery. ‘We moeten blijven investeren om dat vast te houden.’

# Valorisatie Output op basis van eindrapportages

## Valorisatie Output 2003-2007

Totaal afgeronde projecten	47
Totaal publicaties 2003-2008	46
Patentaanvragen	12
Patenten geaccepteerd	> 3
Samenwerking met bedrijven	6

## Valorisatie Output 2007-2010

Totaal afgeronde projecten	44
Totaal publicaties 2008-2010	41
- Impact Factor > 5	20
- Impact Factor > 10	10
Patentaanvragen	7
Samenwerking met bedrijven	5

# Spin-off uit vouwend DNA

Een techniek die **Wouter de Laat** (Hubrecht Instituut) gebruikte om het vouwingsmechanisme van DNA te onderzoeken had een verrassende toepassing. Hij vond er een genetische oorzaak van kinderleukemie mee.

Twee meter DNA gaat er in een celkern van maar 10 micrometer breed. Om dat allemaal te laten passen is een uitermate goed regelsysteem nodig. Want, zo blijkt uit onderzoek van moleculair bioloog Wouter de Laat van het Hubrecht Instituut, de vouwing van het DNA is essentieel voor het functioneren ervan: actieve genen zoeken tijdens het vouwen een interactie met elkaar op, terwijl ook niet-actieve genen een interactie met elkaar aan gaan.

Om tot deze inzichten te kunnen komen moest De Laat zelf de benodigde technologie ontwikkelen. Dat leverde op zich al mooie publicaties op, maar de techniek bleek onverwachts veel breder inzetbaar dan gedacht: het had een verrassende toepassing in de diagnostiek omdat het translocaties kon detecteren - structurele veranderingen in het genoom die betrokken zijn bij het ontstaan van onder andere verschillende typen kanker en hartafwijkingen. De technieken die tot dusver in ziekenhuislaboratoria worden gebruikt kunnen translocaties maar moeizaam vaststellen (zie kader).

‘Ons onderzoek is eigenlijk behoorlijk fundamenteel. We wilden weten hoe schakelaars in het DNA hun doelgenen besturen, terwijl deze soms honderdduizenden basenparen verder op het chromosoom liggen,’ zegt De Laat. De hypothese was dat de vouwing van DNA hier wat mee te maken had, maar er was geen techniek voorhanden om dit te onderzoeken. De Laat verbeterde hiervoor, gefinancierd door een Horizon Doorbraaksubsidie, een bestaande techniek en doopte het de *chromosome conformation capture-on-chip* techniek, ofwel de 4C-techniek. Met deze techniek kan de organisatie van het DNA in de celkern grondig in beeld worden gebracht (zie kader).

## Buurgenen

Niet geheel verrassend kon met deze 4C-techniek worden aangetoond dat het grootste gedeelte van de genen die ruimtelijk dichtbij elkaar liggen, ook op het DNA dichtbij elkaar liggen. Echter, er zijn ook genen die weliswaar ruimtelijk dichtbij elkaar liggen, maar waar-tussen op het chromosoom een grote afstand zit, of die

zelfs op twee verschillende chromosomen liggen. ‘In eerste instantie focusten wij ons op de genen uit deze laatste twee categorieën, omdat die in ons onderzoek het interessantst waren,’ zegt De Laat.

‘Totdat wij ons realiseerden dat de vele interacties die we vonden met nabijgelegen DNA ons ook vertelden welk DNA er precies rondom het gen op het chromosoom lag. Structurele veranderingen in de DNA-volgorde pikken we zo dus op, iets wat klinisch ontzettend interessant is, omdat we er translocaties mee zouden kunnen opsporen,’ vervolgt hij. ‘We hebben met onze techniek dan ook onlangs nog nieuwe translocaties ontdekt bij kinderleukemie,’ zegt De Laat. ‘Momenteel zijn we aan het speuren naar translocaties die verantwoordelijk zijn voor borstkanker en voor bepaalde hartafwijkingen.’

De Laat heeft de 4C-techniek inmiddels gepatenteerd en is onlangs met behulp van de eerste fase van een NGI Pre-Seed Grant gestart om rond deze nieuwe techniek een bedrijf op te richten om een diagnostische tool aan te bieden. ‘Ik heb samen met een expert een businessplan opgesteld,’ vertelt De Laat. ‘Ik ga er vanuit dat we nog dit jaar gaan beginnen met het daadwerkelijk opstarten van het bedrijf om de 4C-techniek verder te ontwikkelen en in te zetten in de kliniek.’

## Translocaties:

Bij het kopiëren van DNA tijdens celdeling kan er van alles fout gaan. Dat levert structurele veranderingen op zoals deleties, inserties of translocaties, gebeurtenissen waarbij stukken DNA respectievelijk verwijderd, verdubbeld of verplaatst zijn (zie figuur). Al deze veranderingen kunnen kanker, hartaandoeningen of andere aandoeningen tot gevolg hebben. Een genetische verandering kan plaatsvinden binnen hetzelfde chromosoom, maar stukken DNA kunnen zich ook tussen chromosomen verplaatsen.

De drie typen fouten worden in de kliniek meestal opgespoord met microarraytechnieken. Daarbij wordt het DNA van de



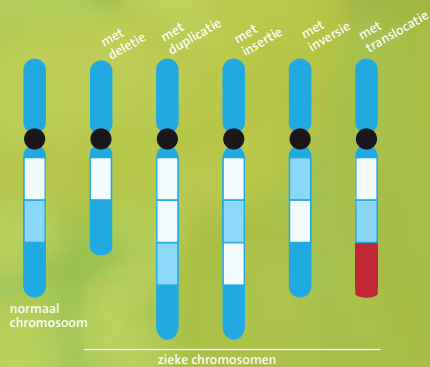
De 4C-techniek is een voortvloeisel van de al bestaande 3C-techniek. Met de oude techniek kon worden gekeken of twee specifieke DNA-sequenties al dan niet een interactie met elkaar aan gaan, maar moesten de twee DNA-stukken van te voren worden geselecteerd. Er moet dus al een vermoeden bestaan dat die twee DNA-sequenties een interactie aangaan.

De 4C-techniek laat deze stap achterwege; een onderzoeker kiest één DNA-sequentie en krijgt informatie over alle DNA-stukken waarmee die sequentie een interactie heeft. Bij de techniek wordt het DNA terwijl het gevouwen is, als het ware bevroren. Alle delen die een interactie met elkaar hebben, blijven zo bij elkaar. Vervolgens wordt het DNA in stukken geknipt, wat kleine kluwens DNA met interacterende genen oplevert. Dan wordt het DNA-stuk van interesse opgespoord en is via sequenzen de DNA-volgorde van alle andere aanwezige genen in die specifieke bevroren kluwen te bepalen. Vervolgens kan worden gekeken waar al die genen zich op het genoom bevinden. Veel van de resultaten zijn genen die ook op het genoom dicht bij elkaar zitten, maar soms zijn er enkele te vinden die op het genoom ver verwijderd van elkaar zijn, maar die door het vouwingsproces bij elkaar zijn gekomen, wellicht omdat dit voor die genen functioneel belangrijk is.

# 4C techniek

## moeilijk te vinden

patiënt en een gezond persoon in stukken geknipt en tegen stukjes DNA van een referentie DNA-profiel gelegd. Het DNA van beide personen is gelabeld met een kleur: groen en rood. Als er bij de patiënt een stuk DNA weg is, dan bindt dat niet aan het respectievelijke deel van het referentiegenoom. Er bindt dus meer 'gezond' DNA, wat zorgt voor extra rood signaal. Bij een verdubbeling is het andersom, er is dan meer groen signaal. Bij een translocatie is er echter nog steeds evenveel DNA van beide personen, en verandert de signaal-kleur niet. Dat maakt het moeilijk om translocaties op te sporen.





# Sequencen wordt steeds goedkoper

In het begin van deze eeuw werd voor het eerst de volledige DNA-volgorde van het menselijk genoom vastgesteld. Het hele project kostte circa 1 miljard euro. Nu kost het sequencen van een genoom nog maar een kleine tienduizend euro en de verwachting is dat het op zeer korte termijn zakt naar duizend euro.

Dit komt omdat de ontwikkeling van sequencing technieken razend snel gaat. De eerste sequencing apparaten konden slechts 96 monsters naast elkaar ontwikkelen, waardoor je per keer een fractie

van een heel genoom kon bepalen. Nu gaat het per miljarden en kan een genoom in een *run* van een week worden vastgesteld. Dat maakt het vele malen goedkoper. Bovendien zijn ook de voorbehandelingen van de monsters efficiënter geworden. Er hoeven minder chemicaliën gebruikt te worden wat het hele proces ook weer goedkoper maakt.

Het gevolg hiervan is dat het nu veel gemakkelijker is om genomen van meerdere mensen te bepalen, te ver-

# De markt op met microRNA's

Het ontrafelen van de functie van nieuwgevonden microRNA's is moeilijk en tijdrovend. Het bedrijf InteRNA, opgezet door Eugene Berezikov (Hubrecht Instituut), neemt deze analyse uit handen van bedrijven en onderzoeksgroepen.

Onderzoek dat wordt uitgevoerd in het kader van het Horizon Programma omvat veelal innovatief fundamenteel onderzoek. Zo ook dat van Eugene Berezikov, die in het Hubrecht Instituut in Utrecht werkt aan microRNA's. Dit zijn kleine stukjes RNA die de expressie van allerlei genen en daarmee processen in de cel reguleren (zie kader op pagina 12). Het onderzoek van zijn in 2006 gestarte Horizon Doorbraakproject leverde echter zoveel vermarktbaar resultaten op dat er twee spin-off bedrijven, InteRNA Technologies en InteRNA Genomics, uit voortvloeiden die werk bieden aan totaal tien mensen.

In de periode van zijn eerste aanvraag was het microRNA-veld nog grotendeels onontgonnen gebied. 'Er waren toen circa twee honderd genen voor microRNA in het menselijk genoom bekend,' herinnert Berezikov zich. 'Wij focusten ons simpelweg op het vinden van zoveel mogelijk nieuwe microRNA's. Zowel in het menselijk DNA als in het genoom van dieren.'

gelijken en te analyseren. Ook het vaststellen van expressie door het sequencen van RNA gaat nu veel sneller en goedkoper. Hierdoor is het mogelijk om veel data binnen te halen in korte tijd. Zoveel data, dat tegenwoordig niet meer de experimenten in het lab, maar de bioinformatica-analyses de bottleneck zijn in het wetenschappelijk proces. Veel van de Horizon subsidies worden dan ook goed gebruikt voor het optimaliseren, verbeteren en uitvoeren van deze ingewikkelde en tijdrovende computer-analyses.



In een jaar tijd verdrievoudigde Berezikov het aantal bekende microRNA's. 'Ons onderzoek viel precies in de tijd van de razendsnelle ontwikkeling binnen het *next generation sequencing* (zie kader). Door de Horizon subsidie beschikten we over geld om deze nieuwe techniek in te zetten en konden we op grote schaal de basenvolgorde bepalen van al het RNA en microRNA dat zich in bepaalde weefselcellen bevond.'

## MicroRNA's

Veel van de door Berezikov ontdekte microRNA's waren te patenteren. Ongeveer 15% van alle microRNA's die nu bekend zijn, zitten in de patentportfolio van InteRNA Technologies, het bedrijf dat de van oorsprong Russische hoogleraar samen met hoogleraar genetica Edwin Cuppen oprichtte naar aanleiding van de resultaten. 'Omdat veel van de microRNA's betrokken zijn bij het ontstaan en de verspreiding van kanker, raakte een venture capitalist geïnteresseerd in ons bedrijf. Zij waren bereid om geld te investeren in onderzoek naar welke microRNA's bij welke kanker betrokken zijn,' legt Berezikov uit. 'InteRNA Technologies heeft dus niet echt klanten, we produceren louter kennis, die uiteindelijk gebruikt kan worden voor therapieën bij verschillende kankersoorten.'

InteRNA Genomics levert wel diensten direct aan afnemers. 'Door nieuwe ontwikkelingen op het gebied van sequencen krijgen we steeds meer informatie over ons genoom, ook op het gebied van microRNA's. Analyse van al deze data kan moeilijk en tijdrovend zijn. Bedrijven en onderzoekers kunnen de analyse van microRNA's uitbesteden aan ons. Wij maken vervolgens expressieprofielen en zoeken uit welke microRNA's nieuw zijn.

Ondertussen werd ook een tweede Horizon Doorbraakproject toegekend. 'Daarin proberen we nieuwe manieren te vinden om de microRNA's uit te schakelen. Nu gebeurt dat vaak door het al afgeschreven microRNA te blokkeren, maar wij willen dat een stap voor zijn,' legt hij uit. 'Wij proberen de microRNA-precursor zo aan te passen dat het niet efficiënt verwerkt wordt tot *mature* microRNA. Uiteindelijk leidt dat hopelijk tot nieuwe manieren om kanker te overwinnen.'

Het uitschakelen van de microRNA's is echter geen sinecure. 'We zien nog weinig fenotypische effecten van onze aanpak, en de voortgang gaat langzamer dan gehoopt. Het project loopt echter nog wel even en de verwachting is dat we er wel uit komen.'

# Computereiwitten

**Chris Oostenbrink** (Vrije Universiteit) lukte het in zijn onderzoek om software-algoritmes zo te veranderen dat ze kunnen werken met de verschillende conformaties van eiwitten. Dat moet medicijndesign betrouwbaarder maken.

Een van de pijlers van het Horizon Programma is bio-informatica. Het vakgebied, dat biologie en informatica combineert, heeft het afgelopen decennium een enorme vlucht gemaakt. Een van de talenten binnen het vakgebied is Chris Oostenbrink, die in zijn vorige functie als assistent professor bij de afdeling *Computational Medical Chemistry* aan de VU twee Doorbraakprojecten goedgekeurd kreeg. Met die projecten lukte het hem in drie jaar maar liefst zes artikelen te publiceren. En er liggen er nog een paar op stapel.

Oostenbrink gebruikt molecular modeling om te bestuderen hoe eiwitten en kleine moleculen een interactie met elkaar aangaan. Met dit soort computerprogramma's kunnen moleculen ontdekt worden die in het actieve gedeelte van een eiwit passen en daarmee het eiwit bezet kunnen houden. Zo kan worden voorspeld welke moleculen bruikbaar zijn om bepaalde biologische processen te beïnvloeden, waardoor *molecular modeling* vaak het begin is van medicijnontwikkeling.

‘Het klinkt allemaal redelijk recht door zee, maar het probleem is dat een eiwit vele vormen kan hebben. Al die conformaties hebben zo hun eigen affiniteit met hun substraat of het potentiële medicijn,’ legt Oostenbrink uit. ‘De modellen die we tot dusver gebruikten, hielden daar nauwelijks rekening mee.’

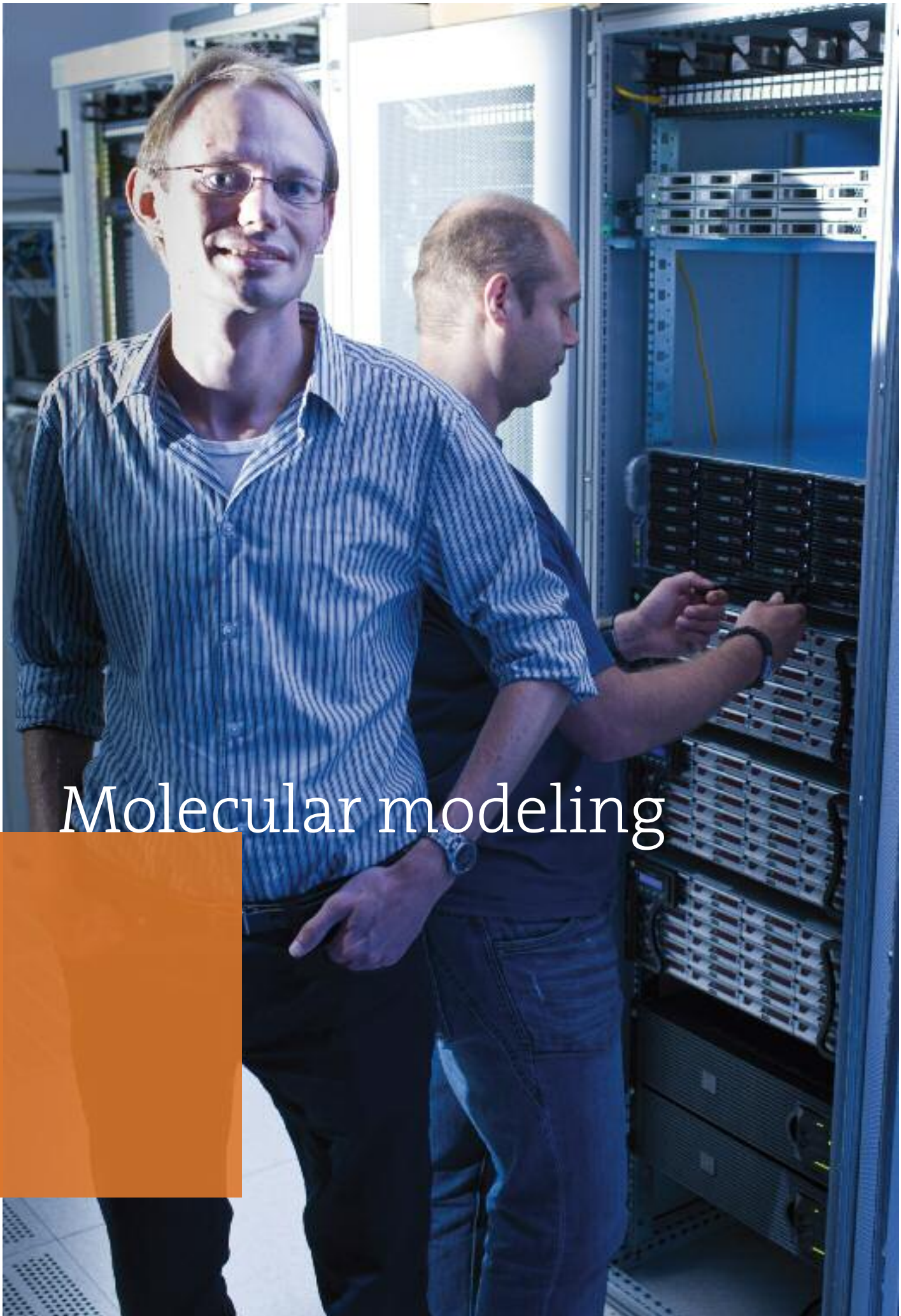
## Zachte atomen

‘Met de eerste Horizon subsidie probeerden we de computersimulaties zo te verbeteren, dat de eiwitten van conformatie konden veranderen’, zegt Oostenbrink. De overgang van de ene naar de andere conformatie wordt gescheiden door hoge energetische barrières. Om een nieuwe vorm aan te nemen, moet het eiwit zich eerst in een hele ongunstige bocht wringen en dat lieten normale simulaties niet toe. ‘Zulke barrières hebben we kunstmatig kunnen verwijderen door gebruik te maken van zogenaamde zachte atomen. Zachte atomen stoten niet als biljartballen tegen elkaar, maar kunnen als wolken door elkaar heen schuiven.’

In de periode van de tweede subsidie probeerde Oostenbrink het programma met de nieuwe modellen daadwerkelijk in te zetten. ‘Voor verschillende eiwitten hebben we aangetoond welke conformaties actief zijn en in staat zijn om bepaalde substraten om te kunnen zetten. Zo konden we voorspellen welk product gevormd zou worden.’ Vooral dat laatste vormt een belangrijke praktische toepassing van dit werk. ‘Bovendien was er veel interesse vanuit de farmaceutische industrie. Ondanks jaren van onderzoek lukte het vaak niet om te begrijpen waarom sommige moleculen wel en andere juist niet aangrepen op hun eiwit. Ons inzicht in de verschillende conformaties van het eiwit leverde de farmaceutische industrie weer nieuwe ingangen op.’

Ondanks dat beide Doorbraakprojecten inmiddels zijn afgerond, heeft Oostenbrink nog steeds veel profijt van de Horizon projecten. ‘Een Horizon subsidie staat hoog aangeschreven en een toegekend project helpt dan ook bij het binnenhalen van andere subsidies,’ stelt Oostenbrink. ‘De subsidie heeft me geholpen bij mijn sollicitatie voor een eigen vakgroep, die ik nu heb aan de Universiteit voor Levenswetenschappen in Wenen.’





# Molecular modeling



“Onderzoekers verbreden de Horizon” is een publicatie van het Netherlands Genomics Initiative (NGI) Horizon Programma.

Het Horizon Programma wordt gefinancierd door het Netherlands Genomics Initiative en uitgevoerd door ZonMw. Het programma richt zich op het stimuleren en coördineren van hoogwaardig en visionair onderzoek op het gebied van genomics en bioinformatica.

---

Tekst

**Hidde Boersma**

Redactie

**Anne Boeter**

Eindredactie

**Esther Thole**

Fotografie

**Ivar Pel**

**Krijn van Noordwijk, pag. 18**

Concept & realisatie

**Publimarket, Den Haag**

Vormgeving

**WAT ontwerpers, Utrecht**

Drukwerk

**Hega Drukkerij (FSC-certified), Rijswijk**

---

Oktober 2010

---

Meer informatie over het Horizon Programma

[www.genomics.nl/horizon](http://www.genomics.nl/horizon)

[www.zonmw.nl/horizon](http://www.zonmw.nl/horizon)

---

Contact

**Rob Diemel**

**T 070 349 52 01**

**E [diemel@zonmw.nl](mailto:diemel@zonmw.nl)**

---

Netherlands Genomics Initiative

Postbus 93035

2509 AA Den Haag

[www.genomics.nl](http://www.genomics.nl)



**Netherlands Genomics Initiative**



**ZonMw**





Netherlands Genomics Initiative

---

Postbus 93035  
2509 AA Den Haag  
[www.genomics.nl](http://www.genomics.nl)