

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/35931> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Deventer, Sjoerd van

Title: Tracking the big ones : novel dynamics of organelles and macromolecular complexes during cell division and aging

Issue Date: 2015-10-21

Nederlandse Samenvatting

De Griekse filosoof Heraclitus zei ooit “Panta rhei”, oftewel “Alles stroomt”. Hoewel hij daarbij waarschijnlijk niet aan eiwitten dacht, is deze spreuk daar zeker op van toepassing. Eiwitten in een cel worden namelijk continu gesynthetiseerd, afgebroken, gemodificeerd, verplaatst en gekoppeld aan andere celcomponenten. Al deze processen samen worden eiwitdynamiek genoemd en zijn essentieel voor het voortbestaan en functioneren van een cel. Het bestuderen van deze dynamiek is belangrijk om de werking van cellen te snappen en om meer inzicht te krijgen in het ontstaan en de behandeling van ziektes. Dit proefschrift gaat over twee belangrijke aspecten van eiwitdynamiek: synthese en verdeling van eiwitten tijdens celdeling en de dynamiek van het eiwitafbraakmechanisme.

De synthese en verdeling van eiwitten tijdens celdeling is belangrijk, omdat beide nieuwe cellen voldoende materiaal moeten krijgen voor een succesvolle start van hun leven. Dit is zeker van belang voor de eiwitten in organellen en macromoleculaire complexen, aangezien deze grote celonderdelen essentieel zijn voor de cel en vaak een stuk van zichzelf nodig hebben voor hun synthese. De eiwitten in de al bestaande organellen en macromoleculaire complexen moeten daarom goed worden verdeeld over beide nieuwe cellen (dit heet overerving) en worden aangevuld met nieuwe eiwitten. Die nieuwe eiwitten kunnen worden toegevoegd aan bestaande structuren (template-based synthese) of een compleet nieuwe structuur maken (*de novo* synthese). De mechanismen die ten grondslag liggen aan de synthese en overerving van organellen en macromoleculaire complexen zijn in het verleden uitgebreid onderzocht in de bakkersgist *Saccharomyces cerevisiae*. Toch bleven er belangrijke aspecten onduidelijk. Zoals de mate waarin sommige organellen template-based danwel *de novo* worden gemaakt en of beide nieuwe cellen evenveel bestaande en nieuw gemaakte eiwitten krijgen. Deze laatste vraag is van belang omdat asymmetrische overerving generatieverschillen kunnen induceren en een rol kunnen spelen bij celdifferentiatie.

Om dit soort vraagstukken te beantwoorden is het belangrijk om oude en nieuwe eiwitten te kunnen onderscheiden en tegelijkertijd te kunnen volgen. In **hoofdstuk 2** wordt daarom Recombination-Induced Tag Exchange (RITE) gepresenteerd, een genetische methode waarbij de labeling van een eiwit op DNA niveau permanent kan worden veranderd door het tijdelijk activeren van een Cre recombinase enzym. Oude en nieuwe eiwitten kunnen dan tegelijkertijd worden gevolgd doordat ze een verschillend label hebben. Omdat er heel veel verschillende labels zijn, kun je RITE gebruiken met een breed scala aan detectietechnieken.

Met behulp van de RITE techniek is in **hoofdstuk 3** vervolgens een overzicht gemaakt van de synthese en overerving van alle organellen en de belangrijkste macromoleculaire complexen in bakkersgist. Hieruit blijkt dat oude en nieuwe eiwitten in organellen en macromoleculaire complexen zich tijdens de celdeling in het algemeen gelijk verdelen over beide nieuwe cellen. Blijkbaar speelt de leeftijd van deze eiwitten geen rol bij de overerving en zal dus ook geen generatie verschillen veroorzaken. Een interessante uitzondering op die regel is het centrosoom, waarvan de oude eiwitten bij de celdeling met name in de jonge dochtercel terechtkomen. Of deze asymmetrische overerving ook generatieverschillen veroorzaakt zal verder onderzoek moeten uitwijzen. De resultaten in hoofdstuk 3 maken ook duidelijk dat alle organellen worden gesynthetiseerd op een template-based manier. Dit was al verwacht of aangetoond voor de meeste organellen,

maar was nieuw voor peroxisomen. Ook sommige macromoleculaire complexen, zoals de nucleolus en het centrosoom, gebruiken template-based synthese. Dit in tegenstelling tot kern-poriën, die *de novo* worden gevormd en stabiel zijn gedurende meerdere celdelingen.

De dynamiek van het eiwitafbraakmechanisme in cellen is onder andere belangrijk om de ophoping van beschadigde eiwitten tegen te gaan. Het ophopen van beschadigde eiwitten is een teken van cellulaire veroudering en speelt een belangrijke rol in verouderingsziektes zoals de ziekte van Alzheimer. Een essentieel eiwitafbraakmechanisme is het ubiquitine-proteasoom systeem (UPS). De activiteit van het UPS neemt doorgaans af tijdens het verouderingsproces en het verhogen van deze activiteit kan in sommige modelsystemen veroudering vertragen. Dit suggereert dat de activiteit van het UPS een dominante factor is in het verouderingsproces van cellen en organismen. Vandaar ook dat er veel onderzoek wordt gedaan naar manieren om deze activiteit te verhogen, om daarmee veroudering af te remmen en verouderingsziektes te behandelen.

De resultaten in **hoofdstuk 4** laten zien dat niet alleen de activiteit van het UPS, maar wellicht ook de localisatie ervan van belang is voor cellulaire veroudering. De localisatie van een belangrijk onderdeel van het UPS, het proteasoom, blijkt namelijk te correleren met de leeftijd van de cel in verouderende bakkersgist. Ook vinden we in dit veelgebruikte onderzoeksmodel voor veroudering een rol voor N-terminale acetylatiecomplexen in zowel proteasoomlocalisatie als de fitheid van een cel tijdens veroudering.

De reden voor afname van de activiteit van het UPS tijdens veroudering is onduidelijk, al zijn er verschillende verklaringen te bedenken. Eén daarvan is dat het proteasoom tijdens veroudering beschadigd raakt en daardoor minder actief wordt. Om te zorgen dat de cel dan voldoende proteasoomactiviteit overhoudt, zou je verwachten dat beschadigde proteasomen worden afgebroken en vervangen door nieuwe, zoals ook gebeurt met beschadigde eiwitten. Het mechanisme van zo'n kwaliteitscontrolesysteem en z'n mogelijke rol in veroudering moet nog worden uitgezocht.

Hoofdstuk 5 van dit proefschrift maakt aannemelijk dat het lysosoom een rol speelt in de afbraak van het proteasoom in bakkersgist en HeLa cellen en dat het proteasoom daar terecht komt door een vorm van autophagy. Daarnaast wijzen de observaties in HeLa cellen er op dat er mogelijk een selectiviteit is voor beschadigde proteasomen. Verder onderzoek moet gaan uitwijzen of we hier de eerste stukjes van een kwaliteitscontrolesysteem voor het proteasoom hebben gevonden.