



Universiteit  
Leiden

The Netherlands

## **Wetenschap, werkelijkheid en onrustige eiwitten**

Ubbink, M.

### **Citation**

Ubbink, M. (2011). *Wetenschap, werkelijkheid en onrustige eiwitten*. Leiden: Universiteit Leiden.  
Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/19682>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/19682>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Prof.dr. Marcellus Ubbink

# Wetenschap, werkelijkheid en onrustige eiwitten



Universiteit Leiden

# Wetenschap, werkelijkheid en onrustige eiwitten

Oratie uitgesproken door

prof.dr. Marcellus Ubbink

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar op het gebied van

Protein Chemistry

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 13 mei 2011



Universiteit Leiden



*Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,*

### **Inleiding**

Een paar keer per jaar mag ik college geven aan kinderen uit groep zeven of acht, dus van een jaar of 12 oud. Regelmatig bezoeken basisschoolklassen onze universiteit om proefjes te doen in het zogeheten *Junior Science Lab*, om ze al vroeg bekend te maken met wetenschap en de universiteit. En soms mag ik ze dus eerst in twintig minuten uitleggen wat scheikunde is. Dat is fascinerend, en ik kan het mijn collega's aanbevelen. Het is opvallend hoe deze kinderen overlopen van ongeremde vraagdrift, iets wat zeven jaar later, wanneer ze als student bij ons beginnen, goeddeels verdwenen is. Ik weet niet of dat komt door de middelbare school of gewoon door het bereiken van de volwassenheid. Maar we moeten ons wel afvragen of wij onze studenten een voldoende kritische houding ten opzichte van de aangeboden kennis meegeven, maar daarover straks meer.

Eén van de kleine demonstratie-experimenten die ik laat zien aan deze scholieren is het zuur maken van melk met huis-houdazijn. Daarbij ontstaat een dikke, ietwat onsmakelijke brij die schift van de vloeistof, ongeveer zoals kaas wordt gemaakt. Ik vraag de kinderen wat er toch in de melk zit dat die brij veroorzaakt. Hun antwoorden zeggen iets over de huidige gezondheidsopvattingen. Kalk wordt meestal al gauw genoemd. Immers, melk drink je voor de kalk. Dat kan echter natuurlijk niet de brij geven, want melk bestaat maar voor 0.12% uit calcium. Maar het antwoord waar ik op uit ben, komt meestal ook: dat zijn de eiwitten. Ook van het bestaan van eiwitten weten 12-jarigen dus, en waarschijnlijk omdat ze geleerd hebben dat ook eiwitten gezond zijn. En veel verder zal die kennis bij de meeste mensen zich niet ontwikkelen. Misschien weten ze dat er enzymen in tandpasta en waspoeder zitten. Maar weten ze - weet u - dat enzymen ook eiwitten zijn? Dat uw haar, nagels en huid uit eiwitten bestaan? Dat eiwitten uw voedsel verteren, de zuurstof door uw lichaam transporteren, ja dat eiwitten in planten het zonlicht opvangen en alle leven op aarde mogelijk maken?

De Nederlandse naam eiwitten, die natuurlijk verwijst naar het wit van een ei, is wel een heel prozaïsche naam voor deze wondermoleculen, een naam die geen recht doet aan het belang van en de variatie in deze stoffen. In het Engels heten ze *proteins*, en wij spreken in onze taal ook wel van proteïnen. Mijn leeropdracht is *Protein Chemistry*, dus de scheikunde van eiwitten. Het onderzoek in mijn groep is gericht op het beter begrijpen van de relatie tussen de chemische en fysische eigenschappen van eiwitten en hun biologische functies. Gezien de diversiteit - ons lichaam bevat tienduizenden verschillende eiwitten - en hun belang voor leven én ziekte van de mens, zult u begrijpen dat het niet om een klein onderwerpje gaat.

### **De chemische structuur van eiwitten**

Eiwitten laten zich niet makkelijk bestuderen, zeker niet op het niveau van chemische en fysische eigenschappen. Eiwitten worden altijd aangetroffen in mengsels, bijvoorbeeld in eieren, bloed, dierlijk weefsel en bakkersgist, om maar een aantal bronnen te noemen waar ook vroeger altijd gemakkelijk aan te komen was. Bovendien werken eiwitten het best in levende organismen en verliezen ze hun activiteit vaak bij zuivering. Pas toen het James Sumner in 1925 lukte om een zeer gezuiverd eiwit, urease, te kristalliseren, besefte men dat alle moleculen van één type eiwit dezelfde vorm moesten hebben, want anders zouden ze geen kristallen kunnen vormen. Dit was een belangrijke bijdrage in ons beeld van eiwitten, een beeld dat overigens - zoals ik later zal beschrijven - nu juist weer verlaten of in elk geval genuanceerd wordt.

Daarna kon worden vastgesteld dat eiwitten in feite een eenvoudige chemische basisstructuur hebben. Alle eiwitten bestaan uit een of meer kettingen van aminozuren. Zulke kettingen kunnen overigens wel duizenden aminozuren lang zijn. Er zijn twintig typen aminozuren waaruit alle eiwitten zijn opgebouwd, in de mens, in een plant, in een olifant en een bacterie. Het feit dat eiwitten, evenals DNA, in alle organismen dezelfde basisstructuur hebben, is een glashard bewijs voor de singuliere oorsprong van het aardse leven, en daarmee voor het

bestaan van evolutie, maar dit terzijde. Alles bepalend voor het eiwit is de volgorde waarin de twintig verschillende aminozuren in de keten zitten, als een snoer met kralen in twintig kleuren, en die informatie zit gecodeerd in het DNA.

### **Een voorstelling van de moleculaire wereld maken**

Maar hoe krijgen we nu een beeld van de structuur van de eiwitmoleculen, dat wil zeggen: hoe is de keten van aminozuren opgevouwen om het eiwit zijn unieke ruimtelijke vorm te geven? Moleculen zijn te klein om zien, ook met een lichtmicroscop, en dus moeten we ons behelpen met indirecte methoden. Wij zijn als de bekende gevangenen in de grot van Plato. Die zaten geketend in een grot en zagen heel hun leven slechts schaduwen van voorwerpen die door het licht van een vuur geprojecteerd werden op de wand tegenover hen. Plato zegt dat die schaduwen voor hen de gehele wereld zijn; zij kunnen zich niet indenken dat er een andere wereld achter de schaduwen schuilgaat, en zelfs als ze dat te weten komen, kunnen ze zich er geen voorstelling van maken. Wij zijn iets gelukkiger; ook wij kunnen slechts schaduwen zien, maar hebben ondertussen wel een vermoeden van een andere, moleculaire wereld. Alleen: wij kunnen ons niet voorstellen hoe moleculen er uitzien.

Het is voor ons moeilijk - ja onmogelijk - ons dingen voor te stellen zonder enig verband met onze eigen werkelijkheid. De filosoof David Hume schreef al in de 18<sup>e</sup> eeuw: 'Hoewel ons denken een ongebreidelde vrijheid schijnt te bezitten, [...] kan het zich slechts binnen zeer enge grenzen bewegen'.<sup>1</sup> Hij geeft aan dat nieuwe ideeën combinaties zijn van beelden die reeds bestaan in ons denken. Een goed voorbeeld is de manier waarop buitenaardse wezens meestal worden afgebeeld in *science fiction* films of strips. Meestal zijn dat wezentjes met een groot hoofd, twee armen en twee benen, twee ogen en een mond. De kans dat buitenaards leven dezelfde vorm heeft aangenomen als die van de mens is natuurlijk nihil. Mocht u dus weer eens horen dat iemand marsmannetjes toch echt zelf heeft gezien en hij geeft een dergelijke beschrijving, dan kunt u gerust gaan slapen, want dat beeld zal ontsproten zijn aan het beperkte menselijke inbeeldingsvermogen.

### **Kristallografie en pindarotsjes**

Dit geldt evenzeer voor ons voorstellingsvermogen van de moleculaire wereld. We stellen eiwitten voor als stevige, amorfe brokjes materie, zeg maar, als pindarotsjes, alleen *omdat* we ons pindarotsjes wel en eiwitten niet kunnen voorstellen. Het beeld van het pindarotsje is voortgekomen uit een geweldige volgende stap die werd gezet in het eiwitonderzoek. Aan het eind van de jaren '50 en het begin van de jaren '60 werden de eerste driedimensionale structuren van eiwitten vastgesteld met behulp van diffractie van Röntgenstralen door eiwitkristallen. De analogie van de grot geldt hier in het bijzonder, want Röntgenstralen vallen door de eiwitkristallen en creëren bijna letterlijk schaduwen, waaruit de structuur van de eiwitmoleculen kan worden gereconstrueerd.

De eerst bepaalde structuur was van het eiwit myoglobine, een zuurstofbindend eiwit in de spieren en lever. Hemoglobine, het bekende eiwit dat bloed rood kleurt, volgde daarna. Max Perutz en John Kendrew kregen daarvoor in 1962 de Nobelprijs in de scheikunde. Het werd duidelijk dat de aminozuurketting zich opvouwt tot een massief, ruwweg bolvormig blokje atomen, een pindarotsje dus. De techniek heeft een grote vlucht genomen, en nu zijn meer dan 60.000 structuren bepaald. Al deze structuren zijn opgeslagen in de *Protein Data Bank*, in de vorm van x, y en z-coördinaten van alle atomen waaruit het eiwit bestaat. Deze gegevens zijn via het internet gewoon voor iedereen beschikbaar en met simpele computerprogramma's kunnen de eiwitstructuren zichtbaar worden gemaakt en van alle kanten bekeken worden. Het behoeft geen toelichting dat deze schat aan informatie ons begrip van eiwitten enorm heeft vergroot. De leerboeken voor biochemie, waarin veel eiwitten en hun functie besproken worden, wemelen van prachtige plaatjes die de driedimensionale structuur van het eiwit afbeelden.

### **Wat is werkelijkheid?**

Maar we moeten nooit vergeten hoe indirect deze waarnemingen zijn. We zien een schaduw en creëren een beeld van het eiwit. In hoeverre lijkt dat beeld op een echt eiwit? Meer in het

algemeen, in hoeverre is het beeld van de wereld in ons hoofd getrouw aan dat in de werkelijke wereld? In de actiethriller *The Matrix*, een filmtrilogie onder regie van de gebroeders Andy en Larry Wachowski, leeft de mensheid in een ogenschijnlijk gewone wereld, die echter volledig virtueel is. De mensen liggen in werkelijkheid in kleine cocons gekoppeld aan een enorme computer die rechtstreeks op de hersenen is aangesloten en de mensen hun leven doet beleven. Ondertussen hebben machines de echte wereld overgenomen. Overigens komt het na veel avontuur en spectaculaire actie wel weer goed, hoor. Hoe onwaarschijnlijk dit ook mag lijken, het gegeven van de film is interessant en verwijst naar de vraag in hoeverre de wereld die wij waarnemen buiten onze geest ook werkelijk bestaat. Immers, niemand van u hier kan met zekerheid zeggen dat ik hier echt sta te oren en u niet, aangesloten op een computer, in een cocon ligt.

Na Plato hebben vele filosofen hun hoofd gebroken over deze kwestie. De vraag mag op het eerste gezicht triviaal lijken, maar is zeer relevant, juist in ons vakgebied, de scheikunde, dat is gericht op moleculen en hun eigenschappen. De wereld komt tot ons via de zintuigen. Leidt de informatie van de zintuigen in onze hersenen tot een objectieve weergave van de werkelijkheid buiten ons? Politie mensen weten dat ooggetuigen van een ernstig ongeluk tegenstrijdige verslagen kunnen geven. De verwerking van de informatie van de zintuigen is dus niet noodzakelijk feitelijk. En waarom zou ons brein geëvolueerd zijn om een nauwkeurig en feitelijk verslag van een auto-ongeluk te kunnen geven? Ons brein is geëvolueerd om ons betere overlevings- en voortplantingskansen te geven. Het zit vol met methoden om de complexe en veranderende wereld razendsnel te verwerken. Dat betekent patroonherkenning, dingen indelen en selectief tot het bewustzijn laten doordringen. Te veel details zijn dodelijk: als je op de savanne oog in oog staat met een leeuw is het aantal grassprietjes onder diens poten, of die giraffe op de achtergrond, informatie die je niet wilt verwerken, want in die extra tijd word jij zijn avondeten. Ons brein heeft al moeite genoeg de complexe wereld om ons heen snel te

herkennen en interpreteren en een noodzaak om ons fundamenteel nieuwe, niet-bestaande dingen te kunnen inbeelden ontbrak en is dus ook niet ontstaan. Als we ons iets inbeelden dat we niet kunnen zien, dan wordt dat beeld gevormd uit elementen uit de ons bekende wereld. Een goed voorbeeld is het beeld van goden. Die worden meestal antropomorf weergegeven, als oude man met baard of een in meditatie verzonken dikzak. En zo worden ook atomen gewoon bolletjes en eiwitten pindarotsjes.

### **Kernspinresonantie**

Daarmee ben ik teruggekeerd bij onze levensmoleculen, de eiwitten. In de jaren '80 ontwikkelde zich een nieuwe methode om op moleculaire schaal naar eiwitten te kijken: de kernspinresonantie ofwel *nuclear magnetic resonance*, afgekort NMR. Deze techniek is zo mogelijk nog indirecter dan Röntgendiffractie. Ze maakt gebruik van een bijzondere eigenschap van atoomkernen, de zogeheten kernspin. Als een kern in een magneetveld wordt gebracht, dan kan de kern in verschillende toestanden voorkomen die een heel klein beetje in energie van elkaar verschillen. Wanneer de kernen vervolgens met radiogolven worden bestraald, gaan de kernen tussen de verschillende toestanden heen en weer springen en het daarmee gepaard gaande opnemen van de radiogolven kunnen we waarnemen. Dat klinkt u exotisch in de oren - en dat is het ook. En toch is NMR-spectroscopie waarschijnlijk de belangrijkste biofysische techniek voor het verkrijgen van moleculaire informatie. En niet alleen voor moleculen: de MRI-apparaten, waarmee dwarsdoorsneden van uw lichaam kunnen worden gemaakt in een ziekenhuis, zijn gebaseerd op hetzelfde fenomeen. Waarom is NMR-spectroscopie zo nuttig in de scheikunde? De reden daarvoor is dat de exacte grootte van de energie die de kern opneemt afhangt van diens omgeving, en dus gevoelig is voor de chemische structuur waarin de kern zich bevindt. Door het meten van de opgenomen energie kunnen we iets leren over de chemische omgeving. Zo kan de structuur van moleculen in detail worden geanalyseerd met behulp van NMR-spectra.

De ontwikkeling van NMR-spectroscopie begon al in de jaren '40, als exotische natuurkunde, met Nobelprijzen voor Otto Stern (1943), Isidor Rabi (1944), en Felix Bloch (1952), maar was pas in de jaren '80 krachtig genoeg om signalen van gezuiverde eiwitten te kunnen waarnemen. Dankzij het werk van Richard Ernst (Nobelprijs 1991), Kurt Wüthrich (Nobelprijs 2002) en vele anderen konden de complexe NMR-spectra van eiwitten, met signalen van honderden kernen, worden toegekend, d.w.z. het werd mogelijk vast te stellen welk signaal van welke kern in het eiwit afkomstig was. Maar bovendien konden de vele interacties tussen kernen worden gebruikt om de ruimtelijke structuur van eiwitten te bepalen in oplossing, dus zonder dat kristallen nodig waren. Daarmee was een alternatieve methode ontstaan om de structuur van kleine eiwitten te bepalen. Al gauw werd duidelijk dat de kristalstructuren en NMR-structuren hetzelfde waren. In die zin was NMR-spectroscopie slechts een bruikbaar alternatief voor het geval dat geen kristallen konden worden verkregen. Maar structuurbepaling door Röntgendiffractie van kristallen blijft voor veel systemen toch de beste methode.

### **Dynamische eiwitten: een paradigmaverschuiving**

Wat de echt belangrijke bijdrage van NMR aan het eiwitonderzoek is gebleken, is de mogelijkheid de dynamiek van eiwitten te bestuderen. Vijftig jaar kristallografie en 60.000 structuren hebben geleid tot een te statisch beeld van eiwitten. De structuren geven in veel detail weer hoe de aminozuurketen is opgevouwen en suggereren welke aminozuren belangrijk zouden kunnen zijn voor de functie. Helaas is het lang niet altijd mogelijk functie alleen uit structuur af te leiden. Maar met de nog steeds snel toenemende mogelijkheden van NMR verandert ons beeld van eiwitten. Dit kan worden beschouwd als een paradigmaverandering in de betekenis die de wetenschapsfilosoof Thomas Kuhn daaraan toekende: 'Als [een wetenschappelijke theorie] de status van paradigma heeft verkregen, wordt deze alleen ontoereikend verklaard als er een alternatief beschikbaar is'.<sup>2</sup> We beseffen nu dat eiwitten moleculen zijn die op alle tijdschalen van picoseconden tot seconden dynamiek

vertonen. Dankzij de tijdsafhankelijkheid die zit ingebouwd in NMR-verschijnselen is de eiwitdynamiek te bestuderen. Het belangrijkste is relaxatie, d.w.z. het terugkeren van de kernen naar de evenwichtstoestand na het instralen van radiogolven. Iets dat uit balans is gebracht keert terug naar evenwicht, maar dat kost tijd. Als u een marathon hebt gelopen in een hittegolf, bent u oververhit en moet u warmte kwijt. In een koud bad gaat dat sneller dan in de zon. Zo moeten de kernen ook hun extra energie afgeven aan de omgeving en sommige lukt dat sneller dan andere. Door die benodigde tijd te meten kunnen we van alles leren over hoe eiwitmoleculen bewegen.

Dat we hier echt te maken hebben met een paradigmaverschuiving blijkt bijvoorbeeld uit het zich ontwikkelende inzicht dat voor enzymen de dynamiek van het eiwit zelf wel eens de snelheidsbepalende stap kan zijn. Enzymen versnellen de reacties tussen allerlei kleine moleculen, bijvoorbeeld de omzetting van suikers uit ons voedsel. Het beeld dat nog in veel leerboeken te vinden is, is dat het enzym een rek is waarop beide kleine stoffen vlak naast elkaar kunnen worden gelegd, waardoor de reactie gemakkelijk en spontaan zal plaatsvinden. De reactiesnelheid wordt bepaald door hoe snel de kleine moleculen met elkaar een binding willen aangaan. Maar nu kunnen we laten zien dat eiwitten veranderen van structuur in elke stap van de reactie, het binden van het eerste molecuul, het binden van het tweede, het uitvoeren van de reactie, en het loslaten van het product. En die eiwitbewegingen kunnen de snelheid van de omzetting bepalen.<sup>3</sup> De grondstructuur, zoals bepaald met kristallografie of NMR-spectroscopie, kan in sommige gevallen misschien zelfs wel een inactieve vorm van het eiwit zijn. In dat geval kan die structuur geen inzicht geven in hoe het eiwit zijn functie uitvoert.

Tegenwoordig beginnen we eiwitten dus te zien als steeds van conformatie veranderende moleculen, waarvan 'de' structuur slechts één conformatie weergeeft in een lage, dus relatief stabiele energietoestand. Eiwitten trillen en ademen aan één stuk door, zeg maar een ADHD-achtige klont atomen, en dat

bewegen is essentieel voor hun functie; de natuur heeft daar gebruik van gemaakt. Dit nieuwe beeld ontstaat omdat de NMR-spectroscopie de ‘Röntgenshaduw’ complementeert met een andere, de kernspinschaduw, en samen geven ze een completer beeld van eiwitten. Maar wie weet wat we nog missen? Een andere benadering levert weer een ander perspectief op. Bijvoorbeeld, metingen aan één of enkele eiwitmoleculen met behulp van zeer gevoelige fluorescentiemethoden laten weer een ander deelbeeld zien, van enzymmoleculen die soms een poos snel werken, dan weer langzaam of zelfs een poosje rust lijken te nemen. Weer een nieuwe schaduw, die wie-wet-wat gaat doen met ons beeld van eiwitmoleculen.

### Elektronoverdrachtseiwitten

In mijn eigen onderzoek ben ik bijzonder geïnteresseerd geraakt in hoe eiwitten met elkaar en met andere moleculen contact leggen. Dat gebeurt niet in een bar of op het sportveld, maar toch blijkt dit, net als bij mensen, een interessant proces. Voor het functioneren van een cel is communicatie, het uitwisselen van informatie, even belangrijk als voor een samenleving. Wat voor informatie moet er dan in een cel worden uitgewisseld? De genetische code moet worden uitgelezen, de cel moet reageren op prikkels van buiten, moet groeien en delen, ja de cel heeft zelfs een proces om gecontroleerd zelfmoord te plegen. Dat zijn natuurlijk essentiële processen en informatie-uitwisseling is dus van levensbelang. Voor communicatie is bij mensen fysiek contact niet noodzakelijk, we kunnen spreken of e-mailen. Moleculen moeten wel fysiek met elkaar contact maken, we zeggen dat ze een complex vormen. Op die manier kunnen ze iets overdragen, een fosfaatgroep of een elektron bijvoorbeeld. Het kan ook zijn dat ze door complexvorming hun activiteit aanpassen, en dus sneller of langzamer gaan werken.

Mijn interesse betreft in het bijzonder kortlevende complexen, zoals gevonden tussen elektronoverdrachtseiwitten. Deze eiwitten vervoeren elektronen door de cel. Vrije elektronen zijn zeer reactief en mogen dus niet onbeschermd rondzwerven in

de cel. Bij vele chemische reacties worden elektronen verbruikt of geproduceerd en die moeten aan- of afgevoerd worden. Dergelijke chemische reacties vinden we in de gehele stofwisseling, bijvoorbeeld in het proces van de fotosynthese. Daarbij worden elektronen over grote afstanden verplaatst en nemen ze energie uit licht op om zo moeilijke chemische reacties mogelijk te maken. Zo kunnen suikers gevormd kunnen worden uit kooldioxide en komt zuurstof als afvalproduct vrij.

### Rubisco

Ik dwaal kort af van de lijn van mijn betoog omdat het interessant is om even stil te staan bij het enzym dat de eerste stap van de fotosynthese versnelt en zo kooldioxide vastlegt, het Rubisco-eiwit. Ooit ontstaan in een atmosfeer die toen veel kooldioxide en bijna geen zuurstof bevatte, hoefde het geen onderscheid te kunnen maken tussen deze beide gassen. Zo nu en dan werd per ongeluk, in plaats van een kooldioxide-, een zuurstofmolecule ingebouwd, maar dat was niet erg. In de huidige atmosfeer is, door miljarden jaren fotosynthese, de zuurstofconcentratie opgelopen tot 20% en die van kooldioxide gedaald. Rubisco heeft zich niet kunnen aanpassen en zuurstofinbouw door dit enzym is een groot probleem voor planten, want dit proces, de fotorespiratie, leidt tot aanzienlijk efficiëntieverlies. In tropische planten is zelfs een extra biochemische route ontstaan om kooldioxide te concentreren op de plekken in de plant waar de fotosynthese plaatsvindt, om de negatieve effecten van fotorespiratie te onderdrukken. Rubisco is dus niet bepaald een perfect enzym, en gek genoeg mede daardoor, het meest voorkomende eiwit op aarde. Dus wie had het over *Rational Design*? Wie meent werkelijk dat de natuur altijd zo mooi in elkaar zit dat er een goddelijke hand achter moet zitten? Het lijkt me juist een uitstekend bewijs voor evolutie. Evolutie leidt helemaal niet tot perfecte oplossingen, maar tot systemen opgebouwd uit wat toevallig voor handen was. Wel robuuste systemen, die tegen een stootje kunnen, maar als er eenmaal een raar evolutionair pad is ingeslagen, is er vaak geen weg terug, wat leidt tot heel vreemde dingen. Rubisco is daar een voorbeeld van, maar ook zeeschildpadden

die per se op het strand eieren moeten leggen en zalmen die de hele Rijn opzwellen voor de voortplanting, of kanoetstrandlopers, kleine vogeltjes van 140 gram, die zo nodig steeds van Siberië naar Afrika moeten vliegen.

### **Het ontmoetingscomplex**

Ik keer terug naar de elektronoverdrachtseiwitten, die dus op allerlei plaatsen in de cel elektronen transporteren. Het moeten promiscue moleculen zijn, met wisselende contacten dus, want ze vormen complexen met meer dan één partner. Immers, een opgenomen elektron moet elders worden afgegeven. Bovendien moet het hele proces snel verlopen, anders komt de stofwisseling stil te liggen. Deze eiwitcomplexen zijn daarom zeer kortlevend en de bindingssterkte tussen de eiwitten is laag. Hoe krijgen deze eiwitten het dan voor elkaar toch het juiste complex te vormen, dat wil zeggen, hun partner te herkennen en aan de juiste plek op die partner te binden? En hoe ziet zo'n complex er eigenlijk uit? Het is heel moeilijk van zo'n zwak, kortlevend complex een kristal te maken en de structuur te bepalen met Röntgenstralen.

In het veld ging men ook hier uit van statische beelden van een complex: twee eiwitten die op een bepaalde, vaststaande manier aan elkaar bonden. Dit beeld was gebaseerd op kristalstructuren van eiwitcomplexen die veel steviger zijn. Alleen enkele theoretische studies hadden gesuggereerd dat de vorming van zo'n complex toch voorafgegaan moest worden door een dynamische fase waarin de eiwitpartners rond elkaar draaien, op zoek naar de juiste bindingsplaats. Experimenteel bewijs voor deze 'aftastfase' was er niet en men dacht ook niet dat dit verkregen kon worden omdat die eerste toestand, het ontmoetingscomplex of *encounter complex*, zo kortlevend en dynamisch zou zijn dat het niet waarneembaar kon zijn.

### **Experimenteel bewijs voor het ontmoetingscomplex**

In de afgelopen paar jaar is hierin echter verandering gekomen. Tegelijkertijd werd met verschillende experimentele benaderingen bewijs gevonden dat dit *encounter complex* echt bestaat en

nu probeert men een beeld te vormen van hoe deze toestand er dan uit moet zien. Het is geweldig deze zoektocht waar te nemen en eraan bij te kunnen dragen, het is echt wetenschap, kennis in wording. Het groepje wetenschappers dat met hun diverse experimentele technieken dat beeld vormen is niet groot, de belangrijkste zijn de groepen van Brian Hoffman (Evanston, Illinois), Gideon Schreiber (Weizmann Instituut, Israël), en Marius Clore (NIH, Bethesda, Maryland) en ik meen dat onze groep daar ook onder gerekend mag worden. De eerste twee groepen gebruiken twee verschillende kinetische benaderingen, waarop ik hier vanwege de tijd niet dieper zal ingaan, terwijl de Clore-groep en wij ons bedienen van NMR-spectroscopie.

### **Paramagnetische NMR-spectroscopie**

Het gaat daarbij om paramagnetische NMR-spectroscopie, waarbij de krachtige interactie tussen waterstofkernen en ongepaarde elektronen, welke een zeer sterke spin bezitten, wordt benut. Paramagnetische NMR-spectroscopie begint een grote vlucht te nemen, omdat het nieuw gereedschap biedt voor het bepalen van eiwitstructuren en het bestuderen van eiwitdynamiek. Een ongepaard elektron, en dus ook het fenomeen paramagnetisme, is echter meestal niet in eiwitten aanwezig en moet dus in het monster geïntroduceerd worden. Dankzij de inspanningen van de postdocs Miguel Prudêncio, Monica Vlasie en in het bijzonder Peter Keizers, en in samenwerking eerst met Joop Peters uit Delft en later met Mark Overhand in de Biosynthese groep van ons instituut, heeft onze groep een goede naam opgebouwd op het terrein van speciaal ontworpen paramagnetische moleculen die specifiek op eiwitten kunnen worden vastgezet om als NMR-gereedschap te dienen.

### **Een beeld van het ontmoetingscomplex**

Aanvankelijk wilden wij paramagnetisme inzetten om extra informatie over de structuur van een eiwitcomplex te verkrijgen, maar toen ontdekten we dat de gegevens die we verkregen niet door een enkele structuur konden worden verklaard, maar alleen door aan te nemen dat er meer conformaties in het com-

plex aanwezig waren. De metingen bevatten dus experimenteel bewijs voor het *encounter complex*. De NMR-gegevens zijn een gemiddelde van alle conformaties in het *encounter complex* en het goedgedefinieerde 'eindcomplex'. Dat is weer zo'n schaduw: we krijgen geen gegevens over het *encounter complex* alleen, laat staan over de individuele oriëntaties in dat complex, alleen een gemiddelde. Hieruit vormen wij ons een beeld van dit complex, bedenken nieuwe experimenten om dat beeld te toetsen en stellen het bij op grond van de resultaten.

Maar die beeldvorming doen wij niet alleen. De andere groepen, die andere methoden gebruiken en andere eiwitcomplexen bestuderen, creëren ook een beeld van het *encounter complex* en dat is anders dan het onze. Zo gaat het een poos voort totdat een consensusbeeld ontstaat dat met alle waarnemingen in overeenstemming is. En dat blijft dan in stand totdat nieuwe methoden een nieuw licht, of liever, een nieuwe schaduw op deze zaak werpen. Dit is precies zoals de wetenschapsfilosoof Karl Popper het beschreef. Er worden meetgegevens verkregen die niet passen in het bestaande model, een wild nieuw idee komt boven om ze te verklaren en dat idee moet getoetst worden en het liefst opnieuw verworpen tot een solide verklaring gevonden is die alle toetsen, voorlopig althans, doorstaat. Zoals Popper zelf schreef: 'Wij kunnen dus als wij geluk hebben, ontdekken dat sommige van onze theorieën onwaar zijn'.<sup>4</sup> Die consensus kan lang op zich laten wachten, want veel wetenschappers geven niet graag hun visie voor een betere. Het doen van experimenten en het interpreteren ervan is nu eenmaal een pad met voetangels en wie weet is die collega gekomen tot een andere visie door in een voetangel te trappen. De eierzucht in de wetenschapper waarborgt op die manier de kritische houding jegens het werk van anderen.

Wij hebben dat net zelf ondervonden toen we een stevig vraagteken plaatsten bij een reeds lang geleden en vaak geciteerde interpretatie van een kristalstructuur van een eiwitcomplex.<sup>5</sup> Terwijl de auteurs meenden dat hun complex echt fysiologische relevantie moest hebben, wezen al onze experimenten

in tegenovergestelde richting.<sup>6</sup> De leider van het oorspronkelijke onderzoek stuurde ons een e-mail. Hij gaf helaas geen kritische analyse van onze experimenten met een lijst van onze mogelijke voetangels. Wel zette hij zijn argumentatie nog eens uiteen, maar die hadden we in ons werk dus al weerlegd. Ook uitte hij zijn onbegrip over waarom wij deze studie publiceerden, terwijl zijn werk toch duidelijk had gemaakt hoe het zat. Hij voelde het als een persoonlijke aanval. In zo'n geval lijkt de eierzucht het te winnen van de objectieve kritisch-wetenschappelijke houding, en dat is begrijpelijk want niets menselijks is ook de wetenschapper vreemd.

### **Nieuwe richtingen van mijn onderzoek**

In de toekomst zal ik doorgaan met de bestudering van het *encounter complex*, maar de paramagnetische NMR-methoden bieden veel meer mogelijkheden om interacties en eiwitdynamiek te bestuderen. Een groot project waaraan we begonnen zijn met behulp van de VICI-subsidie van NWO is het bestuderen van de interacties en dynamiek van het enzym cytochroom P450. Dit type enzymen komt voor in bijna alle levende organismen en versnelt een heel scala aan chemische reacties, waarbij zuurstofmoleculen worden gesplitst om milde oxidatie van een stof te bewerkstelligen. In ons lichaam zijn cytochromen P450 betrokken bij de aanmaak van hormonen, maar ook bij de afbraak van lichaamsvreemde stoffen, zoals medicijnen. In het project kijken we naar eiwitcomplexvorming, van cytochroom P450 met zijn partnereiwit, maar ook willen we weten hoe het te oxideren stofje binnenin het eiwit kan komen, waar de reactie plaatsvindt. Het eiwit beweegt en waarschijnlijk opent en sluit zich steeds een mondje waardoor het stofje naar binnen en later ook weer naar buiten kan. Opnieuw: zo maar een idee, een antropomorf beeld, dat we moeten ondersteunen of verwerpen met experimenten. Daar wordt op dit moment hard aan gewerkt door verschillende medewerkers in de groep.

Ook gaan we praktische toepassingen ontwikkelen met paramagnetische NMR. In samenwerking met Gregg Siegal en het spin-off bedrijf ZoBio werken we aan een methode om snel

te kunnen bepalen hoe een klein stofje, dat later tot medicijn zou kunnen worden uitgebouwd, aan een eiwit bindt. Zo'n methode kan het lange proces inkorten van het vinden van interessante moleculen die medicijnen kunnen gaan opleveren, de *leads*. Verder zijn we kortgeleden een samenwerking aangegaan met het bedrijf Crucell, nu onderdeel van Johnson & Johnson. Crucell wil graag van onze expertise gebruik maken voor het karakteriseren van eiwitcomplexen, als onderdeel van hun werk om vaccins te maken, die ook uit eiwitten of stukken daarvan bestaan. De samenwerking kwam mede tot stand dankzij Antonietta Impagliazzo, nu Crucell-medewerker maar ooit onder mijn begeleiding gepromoveerd in onze onderzoeksgroep. Het illustreert het succes van het Bioscience park, de *biotech* bedrijven die zich rondom de Universiteit hebben gevestigd.

### Fundamenteel onderzoek

Overigens blijkt hieruit ook hoe belangrijk het is om het fundamentele onderzoek te blijven financieren en niet alle pijlen te richten op toepassing en innovatie. 'Het is principieel onjuist om het zuivere onderzoek alleen op basis van haar nut voor de samenleving en alleen als wapen in de strijd om het bestaan te waarderen.'<sup>7</sup>, schreef de neef van mijn grootvader en hoogleraar aan deze universiteit Johan Bernard Ubbink, reeds in 1955 in het boekje 'Wetenschap, waarheid en werkelijkheid' in de Libertatis Ergo reeks. Fundamenteel onderzoek, het verwerven van kennis uit nieuwsgierigheid, mag een doel op zich zijn. Natuurlijk is het goed de onderzoekers vervolgens te vragen: Kunnen we hier iets mee? En de moderne onderzoeker wil daar zeker ook over nadenken, en dan komen daar de spin-offs heus wel uit. We moeten beseffen dat de paradigmaverschuivingen zoals door Thomas Kuhn beschreven, dus geheel nieuwe manieren om naar de werkelijkheid te kijken, nooit uit toegepast onderzoek zullen voortkomen. Dat betekent dat zonder fundamenteel onderzoek de ontwikkeling van de samenleving tot stilstand zal komen.

En ik kan dat een stuk concreter maken. Voor de voortgang van het onderzoek in onze groep is het essentieel mee te gaan in de ontwikkeling in de NMR-spectroscopie, zoals ik u hope-

lijk duidelijk heb gemaakt. Dat betekent ook dat we hoog-nodig moeten investeren in een nieuwe, sterkere magneet en NMR-spectrometer. Ik hoop dan ook dat het Faculteitsbestuur en het College van Bestuur de noodzakelijk steun zullen geven aan een NWO-aanvraag voor een dergelijke versterking van onze infrastructuur. Goed onderzoek vraagt nu eenmaal goede apparatuur.

### Wetenschapsfilosofie in ons curriculum

In dit betoog heb ik u een kijkje willen geven in de wetenschappelijke keuken, over hoe wij ons beeld van de werkelijkheid bereiken en, heel belangrijk, van de beperkingen die onze waarneming, ons brein en zelfs onze emoties, zoals eerzucht en bevestigingsdrang, ons daarbij opleggen. En daarmee kom ik tot de kern van mijn boodschap: ik ben van mening dat wij in het onderwijs veel te weinig aandacht besteden aan het proces en de methoden van kennisverwerving zelf. De studenten leren veel feiten en waar die feiten terug te vinden, want het zijn er teveel om uit het hoofd te kunnen leren. Maar waar komen die feiten vandaan? Er is meestal geen tijd om aandacht te besteden aan de experimenten die tot die feiten hebben geleid. Ons leerboek Biochemie voor de Bachelorstudenten, Lehninger Principles of Biochemistry, bevat immers de condensatie van duizenden manjaren wetenschappelijke arbeid. Maar zijn de feiten wel feiten? Nee, natuurlijk niet. In het leerboek uit mijn eigen studententijd staat bijvoorbeeld een geheel ander concept van een biologische membraan. En hopelijk staat in een volgende editie wel een dynamischer beeld van eiwitten. Kortom, de leerboeken beschrijven het huidige beeld van de werkelijkheid, en de vergankelijkheid van dat beeld wordt groter naarmate de studenten verder komen in de studie en dichter bij de frontlinie waar die beelden gevormd, aangepast of verworpen worden. 'De kwantitatief en kwalitatief verreweg belangrijkste bron van onze kennis [...] is de traditie. De meeste dingen die wij weten, hebben wij aan de hand van voorbeelden geleerd of doordat iemand het ons vertelde, door het lezen van boeken, door te leren hoe wij iets aan kritiek kunnen onderwerpen, hoe wij kritiek moeten opnemen en aanvaarden, hoe wij de waar-

heid moeten respecteren. [...] Maar elk stukje traditionele kennis [...] staat open voor een kritisch onderzoek en kan worden verworpen.<sup>8</sup>, aldus Karl Popper.

En toch brengen we onze studenten niet expliciet besef bij van het wetenschappelijk proces, van de beperktheid van onze methoden, van de voetangels, kortom van wat kennis eigenlijk is en hoe we het verkrijgen. Ik pleit voor concrete aandacht voor de wijsbegeerte van de wetenschap in het curriculum van onze studenten. In de wijsbegeerte wordt al eeuwen nagedacht over de kennisleer en over hoe wetenschap wordt bedreven, zoals ik heb geïllustreerd met wat citaten. De ontwikkelingen in de wetenschapsfilosofie hebben een groot stempel gedrukt op de manier waarop wij vandaag de dag wetenschap bedrijven, en wetenschappers *in spe* moeten zich hiervan bewust zijn.

En dit geldt bepaald niet alleen wetenschappers. In de afgelopen jaren zijn we herhaaldelijk geconfronteerd met verkeerde rechtsoordelen die verklaard kunnen worden uit breuklijnen op de plaatsen in de samenleving waar rechtspraak en wetenschap elkaar ontmoeten, zoals wanneer de wetenschapper getuigedeskundige is in een strafrechtzaak. In de wetenschappen werkt men met een model waarin de waarheid of niet bestaat buiten de geest, of de waarheid alleen benaderd kan worden door een model. Een wetenschapper hoeft nooit te zeggen 'dit is waar en dat niet', maar een rechter moet dergelijke keuzes wel maken. Hoewel wetenschappers het over veel dingen eens zijn, zegt dat nog niet dat dat waar is, wetenschappers zijn het eens over het model dat de verschijnselen adequaat beschrijft. Op meer controversiële onderwerpen zullen wetenschappers het niet eens zijn en binnen het proces van kennisvorming is dat een normale zaak. Het basisbegrip van deze principes moeten we niet alleen aan onze bètastudenten leren, maar bijvoorbeeld ook aan juristen, zoals in de nieuwe opleidingen die op de campus Den Haag gegeven worden. Hoe kunnen we anders verwachten dat rechters op de juiste wijze de woorden van een getuigedeskundige kunnen interpreteren? Ik wil me dan ook gaan inzetten om in samenwerking met het Instituut voor Wijsbegeerte aan onze Universiteit wetenschapsfilosofie te integreren in het curricu-

lum, te beginnen met een nieuw vak *Science Methodology* in de Masteropleiding *Life Science & Technology*, maar breed genoeg om voor alle bètastudenten relevant te zijn.

We zouden de cursus kunnen beginnen met de vraag van Friedrich Nietzsche: 'Kan een toon ons trouwens raken als er niet een dienovereenkomstige snaar in ons is? Of anders gezegd: kunnen we een indruk in onze hersenen opnemen als onze hersenen daartoe niet reeds een vermogen tot opname bezitten?'.<sup>9</sup> Een goede vraag voor elk beginnend wetenschapper: staat hij of zij wel open voor een onverwacht resultaat, dat niet klopt met de boeken? Of misschien kunnen we hetzelfde overbrengen met de iets toegankelijker strips van Marten Toonder. Daarin speelt de heer van stand Olivier B. Bommel de hoofdrol. Hij ziet graag brede perspectieven en probeert van daaruit de wereld te verbeteren. *Think global, act local* zouden we nu zeggen. Overigens lopen zijn goedbedoelde acties meestal in het honderd. Daartegenover staat het eenvoudige dwergje Kwetal, dat leeft in harmonie met de natuur, en die, zoals zijn naam al suggereert, vaak juist *en passant* zeer diepe waarheden formuleert. Het wereldbeeld en inzicht, of 'denkraam' zoals Kwetal het noemt, verschillen dusdanig dat Kwetal en heer Bommel eigenlijk in andere werkelijkheden bestaan en zinnige communicatie tussen hen is dan ook ten enenmale onmogelijk. Daarom zou dit een goed begin van een wetenschaps cursus kunnen zijn en trouwens, deze strip is ook aan te bevelen aan andere zeer geletterde lezers, zoals er velen hier in de zaal zitten.

### **Dankwoord.**

Aan het eind gekomen van deze rede wil ik graag een dankwoord uitspreken. Mijn dank gaat uit naar allen die deze benoeming mogelijk hebben gemaakt, in het bijzonder het bestuur van de faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen en het College van Bestuur.

Grote dank ben ik verschuldigd aan mijn promotor en mentor Gerard Canters. Niet alleen heeft hij mij wetenschappelijk gevormd tijdens mijn promotieperiode, ook heeft hij mij

gesteund gedurende mijn gehele daarop volgende academische carrière. Door zijn voorbeeld heeft hij mij ook tal van vaardigheden bijgebracht die je als groepsleider wel moet bezitten, maar waarvoor je geen opleiding krijgt. Ik ben ook heel dankbaar voor de ruimte die hij mij gelaten heeft in de overgangperiode waarin ik de leiding van de groep heb overgenomen, en die in goede harmonie heeft kunnen verlopen.

Voorts wil ik Derek Bendall bedanken voor de inspirerende drie jaren die ik in zijn laboratorium gedurende mijn postdoc periode in Cambridge heb mogen doorbrengen. Dankzij de uitvoerige discussies over kortlevende eiwitcomplexen heb ik de wetenschappelijke ideeën ontwikkeld, waarop ik de daarop volgende jaren mijn onderzoek in Leiden heb gebaseerd.

Ook wil ik Jan Reedijk en Jaap Brouwer bedanken, die als directeurs van ons instituut, mijn ontwikkeling als docent en onderzoeker hebben gesteund. Bovendien is het aan Jaap te danken dat ik in contact ben gekomen met Gerard Canters, toen ik op zoek was naar een promotieplek. En ook nu ben ik altijd bij hem welkom om de zaken te bespreken die mij bezig houden.

Verder ben ik alle studenten, promovendi, postdocs en analisten dankbaar die ik heb mogen begeleiden of nog bezig ben te begeleiden. Dat zijn er al te veel geweest om hier bij naam te noemen, maar mijn dank is er niet minder groot om. Wetenschap is bij uitstek groepswork en opleiding en onderzoek gaan daarbij hand-in-hand. Zonder al deze mensen was het onderzoek niet mogelijk geweest. Bovendien heeft het mij gevormd om met zoveel totaal verschillende mensen, afkomstig vanuit alle windstreken, te kunnen werken. Wel met name noem ik Ingrid Bekooy, de secretaresse van onze groep, met wie ik in korte tijd een uitstekende samenwerking heb opgebouwd en die zo veel werk heeft verricht voor de organisatie van deze dag.

Daarnaast heb ik ook met veel andere groepen kunnen samenwerken. Ook hen kan ik niet allemaal noemen, maar de jarenlange samenwerking met Miguel de la Rosa in Sevilla, met

Rita Bernhard in Saarbrücken en met David Knaff in Lubbock, Texas wil ik niet ongenoemd laten. Zulke vruchtbare samenwerkingsverbanden leiden niet alleen tot publicaties, maar scheppen ook een vriendschapsband.

Ook binnen Leiden zijn er dwarsverbanden. In het bijzonder wil ik vermelden de reeds genoemde langdurige samenwerking met Mark Overhand voor het maken van paramagnetische moleculen, met Jan Pieter Abrahams en Navraj Pannu voor de hulp met Röntgendiffractie van onze eiwitten, met Martina Huber voor de samenwerking op het gebied van de EPR en met Jan Wouter Drijfhout voor de synthese van peptiden. Verder wil ik Kees Erkelens en de andere medewerkers van de NMR-afdeling bedanken voor al hun hulp. Zoals u duidelijk is geworden, kan ons onderzoek alleen plaatsvinden met optimaal functionerende NMR-spectrometers, en daar hebben zij altijd voor gezorgd. Ook vele andere medewerkers hebben het werk altijd gefaciliteerd, zoals Lian Olsthoorn en Ineke van der Hoef van het Instituutsbureau, Esther van Delft en Kick Moors van Personeelszaken en de medewerkers van de computerdienst. Daarvoor wil ook hen bedanken.

Ten slotte gaat mijn dank uit naar mijn familie. Mijn ouders hebben mij altijd gestimuleerd het beste uit mijzelf te halen, en mij opgevoed in vrijheid en verantwoordelijkheid. Ik ben hen dankbaar voor de evenwichtige en vrijzinnige opvoeding, een levenshouding die van pas komt bij de uitvoering van taken die voor mij liggen. Mijn broer ben ik dankbaar dat hij eerder geboren is dan ik, zodat ik iemand had om me aan op te trekken. Mijn kinderen, omdat ze het *cool* vinden een prof als papa te hebben en omdat ze het niet erg vinden als ik op reis moet of laat ben. Tenslotte dank ik de belangrijkste persoon in mijn leven, mijn vrouw Millicent, omdat ze mijn steun en toeverlaat is en zoveel meer dat ik niet met u zal delen.

Ik heb gezegd.

## Noten

- 1 David Hume, Het menselijk inzicht, 2<sup>e</sup> druk, Uitgeverij Boom, Amsterdam, 2002, p. 53.
- 2 Thomas S. Kuhn, The structure of scientific revolutions, 3<sup>e</sup> druk, Uitgeverij The University of Chicago Press, Chicago & Londen, 1996, p. 77.
- 3 Zie in het bijzonder de recente publicaties van de onderzoeksgroepen van prof. Dorothee Kern (Brandeis University) en prof. Peter Wright (Scripps Research Institute).
- 4 Karl R. Popper, De groei van kennis, 5<sup>e</sup> druk, Uitgeverij Boom, Amsterdam, 2002, p. 177.
- 5 L. Chen, R. C. Durley, F. S. Mathews en V. L. Davidson (1994) Structure of an electron transfer complex: methylamine dehydrogenase, amicyanin, and cytochrome *c*551i, *Science* **264**, 86-90.
- 6 F. Meschi, F. Wiertz, L. Klauss, C. Cavalieri, A. Blok, B. Ludwig, H. A. Heering, A. Merli, G. L. Rossi en M. Ubbink (2010) Amicyanin transfers electrons from methylamine dehydrogenase to cytochrome *c*-551i via a ping-pong mechanism, not a ternary complex, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 14537-14545.
- 7 J. B. Ubbink, Wetenschap, waarheid en werkelijkheid, Uitgeverij W. Gaarde N.V., Delft, 1955, p.19.
- 8 Karl R. Popper, De groei van kennis, 5<sup>e</sup> druk, Uitgeverij Boom, Amsterdam, 2002, p. 66.
- 9 Friedrich Nietzsche, Waarheid en cultuur, 4<sup>e</sup> druk, Uitgeverij Boom, Amsterdam, 2003, p. 55.







## PROF.DR. MARCELLUS UBBINK



Marcellus Ubbink (1965) studeerde Biologie aan de Universiteit Utrecht en promoveerde in 1994 aan de Universiteit Leiden op een proefschrift getiteld 'Cytochrome c-550 and the MADH redox chain from *Thiobacillus versutus*'. Sindsdien is zijn interesse in eiwitten en hun interacties steeds verder verdiept. Hij werkte drie jaar aan de Universiteit van Cambridge, waar hij een nieuwe methode ontwikkelde om paramagnetisme en kernspinresonantie (NMR) te gebruiken om kortlevende eiwitcomplexen uit de fotosynthese te bestuderen op atomair niveau. In 1997 kon hij dit onderzoek verder uitbreiden als universitair docent aan de Universiteit Leiden. De verdere ontwikkeling van NMR-methoden maakte het mogelijk de dynamische aspecten van eiwitcomplexvorming voor het eerst zichtbaar te maken, wat heeft geleid tot een verbeterd begrip van eiwitinteracties. In 2004 werd hij benoemd tot hoofddocent en in 2010 tot hoogleraar Protein Chemistry. Zijn onderzoek richt zich nu ook op de dynamiek van eiwitten zelf. Eiwitten zijn namelijk niet statisch, maar onrustig, ze ademen, trillen en bewegen voortdurend.



Universiteit Leiden