

VU Research Portal

The multifarious and dynamic regulation of the living cell

van Eunen, K.

2010

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Eunen, K. (2010). *The multifarious and dynamic regulation of the living cell*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam]. Gildeprint Drukkerijen.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting voor familie en vrienden

Eén van de belangrijkste eigenschappen van een levend organisme is het vermogen om zich snel aan te passen aan veranderingen in de omgeving. Een voorbeeld hiervan is het constant houden van onze lichaamstemperatuur zelfs als de temperatuur van de omgeving sterk varieert. Hiervoor zijn in het lichaam verschillende processen verantwoordelijk, bijvoorbeeld als het heel warm is gaan we meer zweten omdat de verdamping van het zweet ons afkoelt. In dit onderzoek zijn we geïnteresseerd in hoe deze processen worden gereguleerd. Nu is dat voor zo'n complex organisme als de mens erg ingewikkeld, omdat het lichaam is opgebouwd uit verschillende organen en structuren die weer zijn opgebouwd uit verschillende type cellen. Daarom concentreert dit type onderzoek zich in eerste instantie op een eencellig organisme. In dit onderzoek hebben we gebruik gemaakt van gist.

Gist speelt een belangrijke rol in de levensmiddelenindustrie. Het wordt gebruikt voor het bakken van brood en het bereiden van alcoholische dranken. Gist kan namelijk suikers omzetten in alcohol en koolzuur. Bij het bakken van brood zorgt de productie van koolzuur ervoor dat het brood gaat rijzen en zijn luchtige structuur krijgt. Voor de levensmiddelenindustrie worden grote hoeveelheden gist geproduceerd. Tijdens het productieproces ervaart de gistcel grote veranderingen in de omgeving. In dit project hebben we gekeken naar hoe de gistcel reageert op deze veranderingen en hoe de gistcel dit reguleert. De reactie van de gistcel hebben we gemeten door te kijken hoe de capaciteit van de omzetting van suikers naar alcohol en koolzuur verandert als gevolg van de verandering van de omgeving. Dit is een belangrijke parameter van de gist voor de levensmiddelenindustrie, want daar is men uiteraard geïnteresseerd in een gist met een hoge omzettingscapaciteit. Door te kijken welke processen verantwoordelijk zijn voor deze reactie, zien we hoe de gistcel deze reactie reguleert. In deze processen spelen genen, eiwitten en metabolieten een belangrijke rol. Genen, ook wel het DNA genoemd, bevatten het erfelijk materiaal van de cel en daarmee ook de code van de verschillende eiwitten. Eiwitten hebben verschillende functies in de cel en één daarvan is de omzetting van stoffen, zoals suikers. Deze stoffen worden ook wel metabolieten genoemd. Genen, eiwitten en metabolieten worden 'de moleculen van het leven' genoemd. De bestudering van de functie van deze moleculen en de interactie tussen de moleculen wordt in de wetenschap aangeduid met Systeembioogie.

Met deze systeembioologische aanpak hebben we in dit onderzoek gekeken naar hoe een groeiende gistcel zich aanpast als ineens een belangrijke voedingsbron, in dit geval stikstof, wordt weggehaald. Stikstof is essentieel voor het maken van eiwitten in de cel. Een gevolg van het weghalen van de stikstof is dat de gistcel stopt met groeien. Doordat de gistcel stopt met groeien gaat de cel suikers omzetten in reservesuikers, die de gistcel later weer kan gebruiken als er geen suikers meer voor handen zijn. Het

Samenvatting voor familie en vrienden

weghalen van stikstof gebeurt ook in de praktijk, namelijk om de gist beter houdbaar te maken. Zo kun je gist langer bewaren voor je er bijvoorbeeld brood mee gaat bakken. Helaas heeft het weghalen van de stikstof ook negatieve effecten. Uit eerder onderzoek is gebleken dat onder invloed van het weghalen van de stikstof de gistcel steeds slechter presteert in het omzetten van suikers naar alcohol en koolzuur. Dit is waarschijnlijk een gevolg van het feit dat de gistcel eiwitten gaat afbreken om zodoende weer stikstof vrij te maken.

Dit hebben we onderzocht door op verschillende tijdstippen na het weghalen van de stikstof te meten wat er gebeurt met de capaciteit van de omzetting van suikers naar alcohol en koolzuur. Tevens hebben we op dezelfde tijdstippen gemeten hoe de activiteit van de eiwitten die verantwoordelijk zijn voor deze omzetting verandert en wat er gebeurt met de concentraties van de metaboliëten die een rol spelen. Uit de resultaten is gebleken dat de conditie waaronder de gist groeit een belangrijke rol speelt in hoe de gistcel reageert op het weghalen van de stikstof. Groeit de gist onder een conditie waarin hij zowel biomassa (meer gist) maakt als alcohol, dan zien we dat de omzetting van suikers naar alcohol steeds slechter gaat naarmate de gist langer zonder stikstof zit. In een groeiconditie waarin de gist alleen biomassa produceert zien we als de stikstof wordt weggehaald dat in eerste instantie de omzetting van suikers naar alcohol beter gaat en daarna pas instort. Echter in beide condities gaan de activiteiten van de verantwoordelijke eiwitten achteruit. Dit betekent dat de aanpassing van de gistcel op het weghalen van de stikstof verschillend is voor de twee groeicondities en dat deze op een andere manier wordt gereguleerd.

Samen met de gemeten concentraties van de metaboliëten hebben we geprobeerd deze verschillende manieren van regulatie te verklaren door middel van een computermodel. Een realistisch computermodel kan de capaciteit van de omzetting van suikers naar alcohol en koolzuur voorspellen voor de verschillende situaties waarin de gistcel groeit. Om een realistisch computermodel te creëren, was het noodzakelijk om de activiteiten van de verantwoordelijke eiwitten te meten onder condities die zo dicht mogelijk bij de situatie in de gistcel liggen. Voorheen werden deze activiteiten gemeten onder condities die optimaal waren voor elk eiwit. Het was dus essentieel om een reactiemedium te ontwikkelen dat de situatie van de gistcel nabootste en voor elk eiwit gelijk was. Met de eiwitactiviteiten gemeten in dit reactiemedium kon het computermodel inderdaad de capaciteit van het omzetten van suikers naar alcohol en koolzuur goed voorspellen. Kortom de berekeningen van het computermodel kwamen overeen met de gemeten capaciteiten.

Uit de resultaten dat de activiteiten van de verantwoordelijke eiwitten in beide groeicondities achteruit gaan, blijkt dat door het weghalen van de stikstof het afbreken van eiwitten wordt gestimuleerd. Dit proces speelt dus een belangrijke rol in de regulatie. Daarom hebben we een nieuwe methode te ontwikkelen waarmee we de snelheid van de eiwitafbraak kunnen meten voor elk specifiek eiwit. Dit was een project dat naast het hierboven beschreven onderzoek heeft plaatsgevonden. Deze nieuwe methode is in eerste instantie ontwikkeld voor een standaard

groeiconditie, dus niet voor de conditie waarin we de stikstof weghalen, omdat dit een extra complicatie met zich meebracht. We hebben veel vooruitgang geboekt in het ontwikkelen van deze nieuwe methode, maar er zijn nog meer experimenten voor nodig om de techniek verder te optimaliseren. Dit zal zeker in de toekomst worden voortgezet.

In dit proefschrift hebben we gekeken naar hoe de gistcel de aanpassing op een verandering in de omgeving, in dit geval het weghalen van stikstof, reguleert. De resultaten van dit onderzoek, maar ook van ander onderzoek hebben laten zien dat de situatie waarin de gist groeit hier een belangrijke rol in speelt. Helaas blijft het lastig om precies te bepalen wat de strategie van de gistcel is om bepaalde situaties te overleven. In de toekomst zal dus meer gekeken moeten worden naar de vraag: *Waarom komt de regulatie van de aanpassing van organisme op een verandering in de omgeving op deze manier tot stand?*