



SAMENVATTING

(Voor niet ingewijden)

De Wnt signaal transductie route is een cascade van eiwit interacties in onze cellen met een regulerende rol in basale biologische processen als celdeling, differentiatie en (als deze signaal route ontregeld raakt) in het ontstaan van kanker. Na het binden van een extra cellulair eiwit (een 'Wnt eiwit') aan zijn toegewezen receptor op het cel oppervlak begint een cascade van intracellulaire reacties die uiteindelijk leidt tot de translocatie van het eiwit β -catenin naar de celkern. In de kern zit het DNA van een cel. Dit DNA is opgebouwd uit genen welke na hun activering 1 specifiek eiwit produceren. Eiwitten zijn kleine apparaatjes die elk een specifieke functie in de cel uitvoeren (bijvoorbeeld het verteren van voedsel of het transporteren van kalium door de celmembraan). We hebben duizenden genen en dus duizenden eiwitten die duizenden verschillende functies uitvoeren. Translocatie van β -catenin naar de celkern leidt alleen tot activering van zogehete 'Wnt target genen'. Er zal geen extra voedsel verteerd worden maar er zal wel meer celdeling plaats vinden of cellen zullen in een bepaalde richting differentiëren (een cel zal bijvoorbeeld een spiercel worden, of een zenuwcel). Dit gebeurt wanneer β -catenin in de kern bindt aan TCF, een eiwit dat gebonden zit aan de regulerende regio van een gen, de 'promoter', wat de 'aan en uit knop' van een gen is. Activering van Wnt target genen door binding van β -catenin aan TCF leidt daardoor tot een toename van eiwitten die van die genen komen en dus tot extra activiteit in die basale biologische processen als celdeling en differentiatie.

Deze eiwitten spelen een rol erg vroeg in het ontstaan van een dier. De Wnt signalerings route speelt, samen met een paar andere belangrijke eiwit-cascades, een rol in het bepalen van waar je kop komt en waar je staart en het bepaald welke cellen spiercel worden en welke zenuwcel, of botcel enzovoort. Indien later in een leven deze signaal route ontregeld mocht raken speelt het een rol in het ontstaan van allerlei verschillende soorten kanker door genen te activeren die op dat punt in tijd en op die plek in je lichaam niet 'aan' horen te staan. Cellen kunnen gaan delen op plekken waar dat niet hoort. Activering van genen die daarvoor zorgen, wordt zoals gezegd geregeld door TCF die op de 'aan en uit knop' van een gen zit.

In dit boekje beschrijven we de klonering en het expressie patroon (dus waar en wanneer is dit eiwit in je lichaam aanwezig) van TCF1 in lagere vertebraten met als voorbeeld de kikker (Hoofdstuk 2). TCF1 was eigenlijk het eerste TCF eiwit dat ontdekt werd, maar men dacht dat het door een gen duplicatie uit een ander gen was ontstaan later in de evolutie. Door het gen te 'kloneren en te sequencen' hebben we aangetoond dat het ook in lagere gewervelde dieren voorkomt zoals visjes en kikker. Dat betekent dat je de functie van TCF1 gemakkelijk kan bestuderen, aangezien deze dieren hun eerste celdelingen namelijk niet in een baarmoeder hebben zoals een muis. Daar kun je makkelijker proeven mee doen dan met bijvoorbeeld een muis. Dat gebeurde in Hoofdstuk 3 waar we laten zien dat TCF1 een rol speelt in het induceren van mesoderm. Alle dieren bestaan uit 3 zogeheten kiemlagen. Deze zijn het ectoderm (waaruit je huid en je centrale zenuwstelsel ontstaat), het endoderm (waaruit je maag-darm-kanaal ontstaat) en daar tussen vormt zich na onze eerste paar celdelingen, vlak na de bevruchting, het mesoderm (waaruit al onze organen, spieren en de meeste botten ontstaan). Door te verhinderen dat TCF1 eiwit gemaakt wordt kun je haar biologische rol



bepalen. Dit bleek een rol in het ontstaan van mesoderm te zijn. In Hoofdstuk 4 toonden we een onbekende interactie aan tussen TCF1 en een gen dat *foxd3* heet. *Foxd3* verteld cellen waarin het tot expressie komt dat deze in een stam-cel-staat moeten blijven, wat zoveel inhoudt dat deze cellen nog overal in kunnen differentiëren (dus spier, zenuw, bot enzovoorts). TCF1 speelt hierin kennelijk een regulerende rol door op de ‘aan en uit knop’ van dit gen te gaan zitten. In Hoofdstuk 5 geven we kikker embryootjes extra veel TCF1. TCF1 komt in verschillende types voor, zogeheten isovormen. Dit komt doordat eiwitten, die lange ketens van verschillende ‘knikkertjes’ zijn die op een bepaalde manier opgevouwen worden (de zogeheten ‘aminozuren’). Deze opgevouwen ketens kunnen dan zoals gezegd een bepaalde functie vervullen. Voor TCF1 zijn er bepaalde vormen (isoforms, in het Engels) die wat langer zijn, wat in zou kunnen houden dat ze een extra functie hebben. Door deze individuele isovormen extra in een embryo tot expressie te laten komen hebben we bestudeerd of er extra functie in de langere vormen zat. Hoe het precies werkt weten we nog niet, maar het blijkt dat een bepaald stukje eiwit, een eiwit-domein (dat het CRARF-domein heet, en dat al zo vroeg in de evolutie ontstaan is dat ook *Drosophila* en een klein wormpje genaamd *C. elegans* het hebben) het verschil blijkt te maken in het al dan niet verstoren van mesoderm formatie. Als je alleen dit CRARF-domein weg haalt blijkt een dier niet meer instaat om bloedvaten te vormen. Tot slot hebben we in Hoofdstuk 6 een zebravisje genetisch gemanipuleerd zodat het gen dat verantwoordelijk is voor het ontstaan van het eiwit TCF1 dusdanig beschadigd is dat het eiwit niet meer ontstaat. Dit stelt ons in staat om het verlies van TCF1 op latere leeftijd te bestuderen.