

door Liesbeth Koenen

Dr. H.P. Heinekenprijs voor de Biochemie en de Biofysica voor dr. Andrew Fire

## Nuttig stoorzendertje

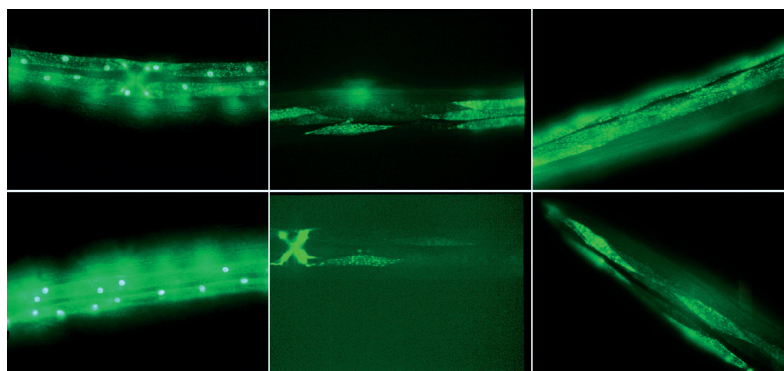
Pas in het laboratorium, van microscoop naar microscoop lopend en vlot lenzen en preparaatjes verwisselend, lijkt Andrew Fire (45) echt op zijn gemak. Hier hoort hij thuis. En, oké, ook voor het schoolbord waarheen hij zich na de eerste de beste vraag al begeeft om in hoog tempo college te gaan geven over de bochtige slingerpaden vol obstakels waarlangs wetenschappelijke kennis en inzichten groeien. Niet dat er veel te tekenen of op te schrijven valt, maar het praat makkelijker, zo staand. Zolang er althans geen foto's gemaakt worden, want dan moet Fire zich vermannen om niet helemaal te bevriezen.

Het is een warme middag op de beroemde Stanford University bij San Francisco, waar je op het hele uitgestrekte terrein geen verdwaald papiertje zult zien, en waar het met een kwartiertje overschrijden van de maximum toegestane parkeertijd van twee uur onmiddellijk onverbiddelijk tot een bon leidt. Eind vorig jaar is Fires laboratorium vanuit het Carnegie Institution of Washington van de Johns Hopkins University in Baltimore naar hier verplaatst. Erfelijkheidsleer, of iets preciezer: de biochemie achter de werking van genen, blijft Fires vak – hij leerde het op het Massachusetts Institute of Technology, in het laboratorium van Nobelprijswinnaar Philip Sharp – maar op Stanford zit hij in plaats van bij embryologie nu bij pathologie, ziekteleer. En ziektes zoals kanker, aids, hepatitis C en genetische aandoeningen uitschakelen of voorkomen, is waar het uiteindelijk om gaat.

‘De medische wereld brengt andere expertise mee, dat merk ik nu al’, zegt Fire. Dat er nu mensen uit heel veel verschillende disciplines zijn lab kunnen komen binnenwandelen, bevalt hem. Ooit verliet hij de wiskunde ‘omdat dat toch wat eenzaam wordt na een tijdje’. Hij vertelt ook waarom: ‘Je bent aangewezen op je eigen ideeën, er is geen input van de rest van de wereld. Mijn gewaardeerde mentor vertelde me toen ik nog een *undergraduate* was dat het gemiddelde wiskundige artikel door drie mensen gelezen wordt. En dat is inclusief de auteur.’



Andrew Fire (foto Rik Smits)



uit het onderzoek van Andrew Fire

Dat laatste gevaar heeft Fire na zijn overstap in elk geval uitstekend weten te ontlopen. Nu al is zijn naam voor zeer velen voorgoed verbonden met het machtige en krachtige verschijnsel dat hij 'RNA-interferentie' gedoopt heeft. Waarschijnlijk is het allemaal een verdedigingsmechanisme tegen indringers dat een lange historie in de evolutie heeft. Kort gezegd gaat het om een natuurlijk stoorzendertje, dat heel gericht genen kan uitschakelen. Dat opent, althans in principe, weidse perspectieven.

Zelden is een wetenschappelijke vondst dan ook zo snel zo breed opgepikt. Pas in 1998 verscheen in *Nature* de publicatie die nu overal in de wereld onder meer helpt om erachter te komen wat al die genen die de afgelopen jaren geïdentificeerd zijn nou eigenlijk doen. In 2002 riep het tijdschrift *Science* de speciale RNA-moleculen die in staat zijn tot interferentie uit tot de doorbraak van het jaar. Er zijn inmiddels farmaceutische bedrijven die zich helemaal op RNA-interferentie richten en vele tientallen miljoenen investeren in de verwachting dat dat werkende, winstgevende medicijnen zal opleveren. Het is opmerkelijk hoe vaak het woord 'Nobelprijs' valt in verband met

over RNA (ribonucleïnezuur). Dat was in de wetenschap tot voorkort toch vooral het wat ondergeschoven kleine broertje van DNA, letterlijk de boodschappenjongen, die zich in celkernen door een bepaald gen in het DNA laat vertellen welke bouwstructies er doorgegeven moeten worden aan de ribosomen, waarna daar het echte werk, (in jargon: het tot expressie brengen van een gen, dus het maken van de juiste eiwitten) kan beginnen. Maar het wordt steeds duidelijker dat RNA er in soorten en maten is.

### in den beginne

Volgens Andrew Fire is het allemaal begonnen in de oersoep. Hij schetst wat bekend staat als de 'RNA-wereld'. Die was er eerst. Fire: 'Een paar miljard jaar geleden vormden zich op aarde door de turbulentie van de temperatuur en zich daar rondbewegende moleculen verschillende mengsels. Meestal waren die vluchtig, maar op een zeker moment was er een vruchtbare bodem, kon zich een of ander molecuul ontwikkelen dat in staat was zichzelf te vermenigvuldigen. En de meeste mensen denken dat dat molecuul weliswaar misschien geen RNA was, maar er wel op leek. Een structuur die zichzelf kan vernieuwen heeft grote potentie, kan in aantallen echt exploderen en impact hebben op het ecosysteem. Het is onderhevig aan Darwiniaanse evolutie.'

In den beginne was er dus iets als RNA, niet iets als DNA, dat je als een volgende fase kunt zien. Fire beschrijft DNA als een relatief veilig opslagmedium voor informatie, dat zelf tot niet zoveel in staat is. 'RNA is niet zo stabiel als DNA, maar het kan wel dingen dóen', gaat hij verder. 'En er is nog steeds RNA dat zichzelf kan

## Het is allemaal begonnen in de oersoep

het fenomeen, al wordt naast Fires naam dan ook meestal die genoemd van zijn collega Craig Mello van de University of Massachusetts, een van de co-auteurs van het zelfs op het internet al ruim 1500 maal geciteerde *Nature*-artikel.

Ook in Fires verhaal duikt Mello geregeld op, maar hij gaat eerst wat verder terug in de tijd voor zijn uitleg

vermenigvuldigen. We weten dat dat bij veel virussen gebeurt. De gedachte is dat die niet hebben gekozen voor een DNA-levensstijl.'

Een van de belangrijkste verschillen tussen DNA en RNA is dat DNA altijd uit twee strengen bestaat van steeds paartjes elkaar aanvullende bouwstenen (georganiseerd in de nu ruim vijftig jaar bekende dubbele helix), terwijl RNA zijn werk met maar één streng doet, die sense genoemd wordt. De eerste aanwijzing dat ook *antisense*, de complementaire RNA-streng, een biologisch doel kan dienen kwam begin jaren tachtig. En van virussen was al langer bekend dat ze altijd dubbelstrengs RNA nodig hebben, ook al is het soms maar eventjes, als ze zichzelf kopiëren. Tegelijk is dat wat Fire de Achilleshiel van virussen noemt.

### **griep**

'Je weet als je griep hebt, voel je je helemaal niet lekker', legt hij uit. 'Dat is je immuunsysteem dat aan het werk is, en dat heeft onplezierige effecten. In experimenten met dieren is in de jaren zestig uitgezocht welke component in het bloed daar nou verantwoordelijk voor is. Dat bleek dubbelstrengs RNA te zijn. Maakte niet uit wat voor, ook dubbelstrengs RNA dat in het laboratorium gemaakt is, als je alleen maar dat injecteert, roept het die reactie van het immuunsysteem op waar je je beroerd van gaat voelen.'

## **Een organisme wéét dat ermee gerotzooit wordt**

Achteraf gezien zijn dat allemaal aanwijzingen die hadden kunnen leiden naar de ontdekking van RNA-interferentie, en Fire is er diep van overtuigd dat die er ook zonder hem geheid gekomen zou zijn, maar indertijd bleef het bij losse observaties. Daar zijn er meer van. Fires beschrijving van de ontdekkingstocht die RNA-interferentie opleverde, zit vol toeval en misverstand. Eerst waren er de *petunia's*. Een poging hun paars paarser te maken strandde in gemêleerde en zelfs witte exemplaren. Met andere woorden: in plaats dat hun genen voor paars versterkt werden, werden ze uitgeschakeld. Toen kwamen de eindeloze pogingen om met behulp van antisense genen uit te schakelen, om zo hun functie te kunnen bestuderen. Daaruit ontstond zelfs een hele industrie. Soms lukte het, maar heel vaak ook niet, en het waarom bleef

onduidelijk. Soms ook werkten experimenten waarbij sense werd ingezet, het was allemaal raadselachtig.

De les die inmiddels geleerd is, is dat bescheidenheid en voorzichtigheid op hun plaats zijn. Fire: 'De mechanismen op basis waarvan die antisense-verbindingen werken blijken nogal gecompliceerd. Mensen denken dat ze slim genoeg zijn om systemen zo te manipuleren dat er maar één effect optreedt, maar in werkelijkheid gebeurt er veel meer. Het systeem zelf reageert zodra je vreemd materiaal inbrengt. Dat moet het ook doen, bijvoorbeeld om virussen te kunnen afweren. Zodra je manipuleert zet je die mechanismen onverwacht in werking. Dat is echt een

### **'Je kreeg een soort wormenjaloerie'**

belangrijke les: een organisme wéét dat ermee gerotzooit wordt, en reageert.'

Wat iedereen in die veelheid van reacties miste, was de cruciale rol die dubbelstrengs RNA speelde. Fire was degene die dat op het spoor kwam. Herinnert hij zich dat moment nog? Hij lacht: 'Nou, ik herinner het me een jaar later dan Craig. Het was alle twee de keren na een lezing, dus ik zal in 1997 wel nog een keer op dezelfde gedachte gekomen zijn.' Die gedachte was dat de collega die aldoor zulke merkwaardige, onbegrijpelijke uitkomsten kreeg van haar experimenten met enkelstrengs RNA, waarschijnlijk onbedoeld ook dubbelstrengs RNA had ingebracht. Dat het dus ging om een verontreiniging. Fire: 'Mijn hele promotieonderzoek lang ben ik getraind om allerlei RNA-moleculen in een reageerbuis te maken. Dan kun je heel gecontroleerd werken. En een postdoc in mijn lab had de stabiliteit van natuurlijk RNA bestudeerd. Ik wist gewoon dat de effecten die mensen zagen niet zo stabiel konden zijn. Enfin, de effecten verdwenen dan ook toen het materiaal gezuiverd was en alleen nog enkelstrengs RNA bevatte.'

### **helder moment**

Samen met Craig Mello deed hij vervolgens een reeks experimenten die aantoonde dat dubbelstrengs RNA de verantwoordelijke factor was voor het uitschakelen van specifieke genen. Het is dus RNA dat interfereert, vandaar RNA-interferentie. Fire is overigens zelf niet zo erg onder de indruk van zijn 'heldere moment'. 'Er hebben zo veel mensen aan bijgedragen. Dat ik erbij betrokken



Andrew Fire (foto Rik Smits)

was is echt gaaf, maar om nou te zeggen dat ik het gedaan heb? Het was alleen maar een scheikundige suggestie die ik deed. Als ik nou meteen het verband met virale infecties had gezien...' Dat verband zou later nog pijnlijk genoeg duidelijk worden, maar in eerste instantie heerste er euforie. Fire lacht: 'Je kreeg een soort wormenjaloerie.' Wat Mello en hij met het wormpje *C.elegans* hadden gedaan, begonnen andere onderzoekers te doen met hun onderzoeksobject: planten, fruitvliegen. En het werkte allemaal geweldig, verklaarde vooral heel mooi ineens allerlei verschijnselen bij planten.

'Maar je wilt natuurlijk dat het ook voor gewervelde dieren, inclusief de mens werkt', zegt Fire. En dat lukte niet. Daar gooide de algemene, veel te brede 'indringer-respons' die van virussen bekend is, roet in het eten. Weg was de kans om gericht te schieten, bijvoorbeeld op ziekmakende genen. Een hoop onderzoekers gaven de moed al op, maar toen kwam 'klein interfererend RNA' in zicht. 'Het was al bekend dat een cel wel een heel klein beetje dubbelstrengs RNA kan hebben, zonder dat hij die vijandige reactie geeft. Allerlei groepen zijn daar toen mee gaan spelen. Pas toen begonnen mensen zich te werpen op de biochemie van het mechanisme achter RNA-interferentie.'

### gericht schieten

Het bleek geen sinecure om een goede structuur te vinden, iets dat niet te klein en niet te groot was, dus wel een specifieke reactie in een cel kan oproepen, maar zonder dat alles op hol slaat. Maar dat machtige instrument kwam er, en wordt nu op grote schaal gebruikt. Daarmee is Fires onderzoeksgroep niet langer het absolute middelpunt van de ontwikkelingen. Hij moet daar zo te horen nog een beetje aan wennen, maar er blijft zat spannends te doen, ook al blijft het werk dat met veel vallen en weinig opstaan gepaard gaat.

Want gericht schieten om een gen het zwijgen op te leggen, dat 'kleine interfererende RNA' (siRNA in de Engelse afkorting) op de juiste plek afleveren, blijkt nog niet zo makkelijk, en dan moet ook nog blijken of het wel effectief is. 'Het is niet een kwestie van gewoon siRNA in de bloedstroom inspuiten, al zijn sommige weefsels toegankelijker dan andere', legt Fire uit. 'De lever is een voorbeeld van een orgaan dat wel makkelijk dingen opneemt, net als het oog. Je hebt degeneratieve oogziekten waarvoor nu dingen in ontwikkeling zijn, omdat men een goed idee heeft welk gen onderdrukt moet worden.'

Maar een compacte tumor binnenin iemands lichaam is lastiger te bereiken.'

Waarop de inspanningen gericht worden, hangt natuurlijk ook af van hoe ernstig iets is (Fire: 'Voor kaalheid hoeft je niet te rekenen op RNA-gerelateerde therapieën') en of er nu al iets bruikbaars bestaat. Tegen Hepatitis C bestaat geen medicijn, en dat maakt het volgens Fire een

## Soepeltjes glijden de wormpjes voort

goede kandidaat. In het laboratorium zijn ook heel goede resultaten behaald met het HIV-virus, dat zich daarna dan overigens weer aanpaste. 'Maar dat wisten we al van HIV', zegt Fire. Toch ziet hij daar niet snel grote *clinical trials* uit voortvloeien, omdat er al een algemeen bruikbare therapie bestaat, en er met RNA gauw een hoop bijeffecten optreden.

Aan en met RNA valt nog heel veel uit te zoeken, zoveel is duidelijk. Fire verwacht bijvoorbeeld dat verschillende ziektes zullen blijken voort te komen uit veranderingen in de hele machinerie van het RNA-interferentieproces. En hij heeft al een mutant van *C. Elegans* gevonden die helemaal niet reageert op RNA-interferentie. 'Die voed je bacteriën met siRNA, en er gebeurt niks', zegt hij.

### feeëriek

Fire heeft nog een toertje door zijn laboratorium gepland. 'Zal ik de beesten laten zien?', vraagt hij. Hij doelt op een constante in zijn leven sinds zijn dagen als postdoc in het lab van de latere Nobelprijswinnaar Sidney Brenner (in het Engelse Cambridge), de nematode *C.elegans*, het kleine wormpje dat in genen-onderzoekersland inmiddels bijna even populair is als *Drosophila melanogaster*, de fruitvlieg. Het diertje is in indrukwekkende hoeveelheden aanwezig, kast na kast is ermee gevuld. Fire zweert er dan ook bij, noemt *C.elegans* met lichte vertedering 'een tamelijk onbenullig beestje' en 'een prachtig systeem'.

Onder de microscoop doet *C.elegans* intussen erg zijn best zijn naam waar te maken. Harmonieus en soepeltjes glijden de wormpjes voort. We krijgen een stam te zien die speciaal gekweekt is om de 95 spiercellen van het beestje goed te kunnen bekijken. Dat levert een feeëriek schouwspel op. Fire laat zien hoe je een wormpje op kunt vissen, met een heel dun platinedraadje dat aan

het eind een lusje heeft. En hij legt uit dat het kleuren van stukjes binnenkant van *C.elegans* gebeurt met GFP, Groen Fluorescerende Proteïne, dat in de natuur een bepaalde kwal doet oplichten. Ah! Bekend verhaal. Het is de techniek die is uitgewerkt door Roger Tsien, de vorige winnaar van de Heinekenprijs voor Biochemie en Biofysica. De twee hebben elkaar vorig jaar ontmoet. 'Ik had een hele lijst vragen voor hem', vertelt Fire. Maar ze spraken niet over de Heinekenprijs, want daar had Fire voor hij hem kreeg niet eerder van gehoord. Binnenkort gaat hij zich verdiepen in de vraag waarvoor hij hem gaat gebruiken.