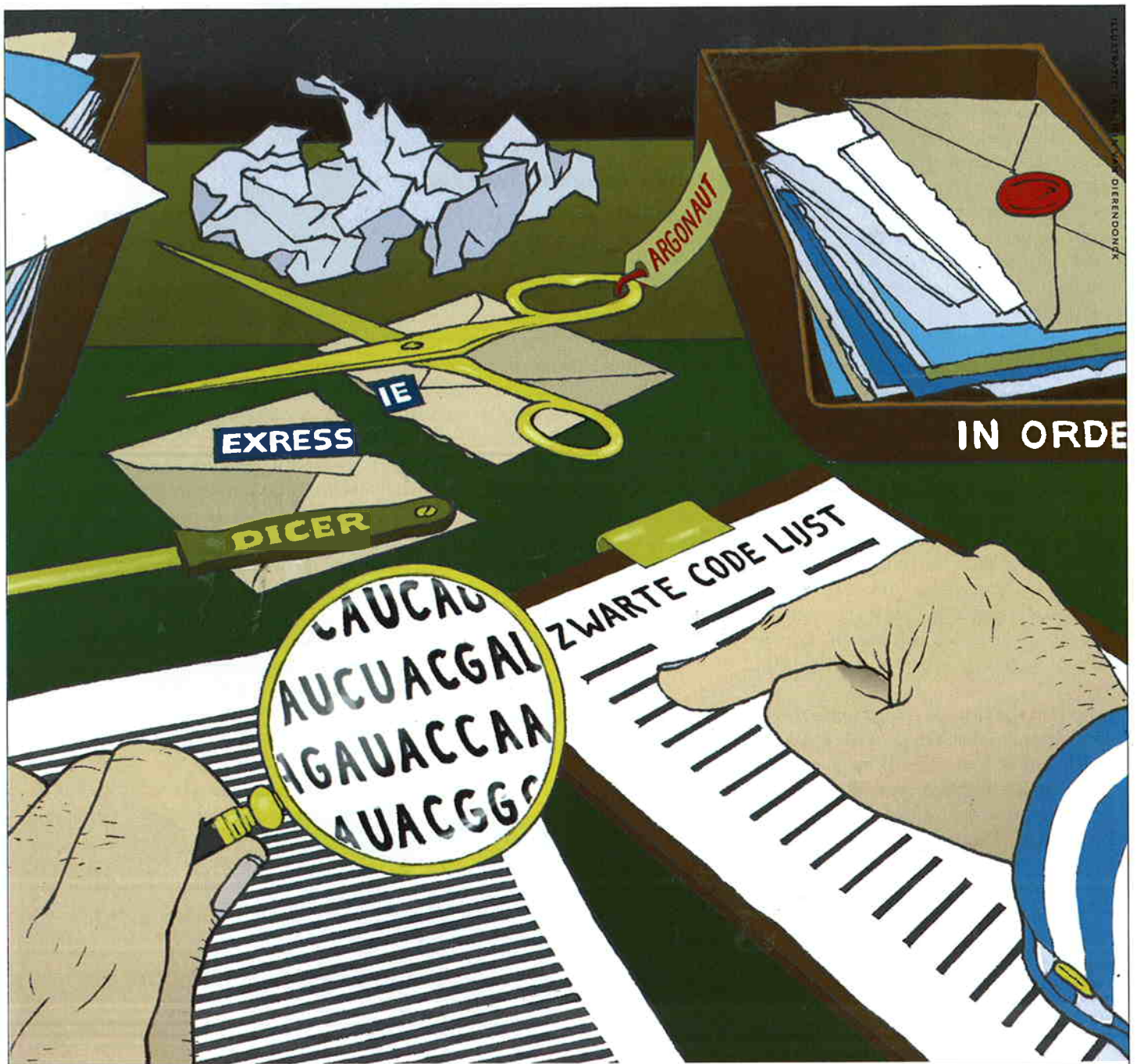


Genetische

Tientallen kleine RNA's die bij dieren en planten zijn gevonden, kunnen misschien foutjes in het genoom wegpoetsen. Maar met hoeveel ze zijn en hoever hun invloed precies gaat, blijft een punt van discussie. 'Over het aantal micro-RNA's bij planten doen de **wildste speculaties** de ronde.'



censuur



MARIANNE HESELMANS

“Ik ken collega's die wilden publiceren dat een plant meer dan vijfhonderd verschillende micro-RNA's heeft”, zegt Yves Van de Peer, hoogleraar bio-informatica en genoombiologie op de Universiteit Gent. “Maar die kregen hun artikel er niet door, omdat de *reviewers* niet geloofden dat een plant zoveel micro-RNA's kon hebben.”

Van de Peer gelooft dit zelf trouwens ook niet. “Ik denk dat planten niet zo heel veel meer micro-RNA's hebben dan honderdvijftig.” Veel minder in ieder geval dan zoogdieren die er, volgens de schatting van Edwin Cuppen, onderzoeksleider op het Nederlandse Hubrecht Laboratorium in Utrecht, zo'n vijfhonderd tot duizend hebben. “Over het aantal micro-RNA's bij planten doen de wildste speculaties de ronde”, vertelt Van de Peer.

Hoeveel verschillende micro-RNA's planten en dieren aanmaken, is een van de vele vragen die nog leven in het snel groeiende en sterk competitieve vakgebied van de kleine RNA's. Doken moleculair biologen decennia lang vooral in de genen, de laatste jaren zijn de zogeheten *small interfering RNA's* (siRNA's) en micro-RNA's erg hot.

Si- en micro-RNA's zijn kleine stukjes RNA van zo'n twintig tot 25 nucleotiden. Karakteristiek eraan is dat ze, als onderdeel van het RNase-enzym Argonaute, verwante, homologe stukjes RNA kunnen klieven of binden, en zo het al veel langer bekende mRNA kunnen blokkeren.

MOLECULAIRE PARASIETEN

De mogelijkheid tot censuur van genexpressie geeft micro-RNA's, althans in theorie, een behoorlijke macht in de cel. De aanmaak van een bepaald eiwit, kan namelijk niet doorgaan als stukjes mRNA die betrokken zijn bij dat eiwit worden herkend door siRNA's of micro-RNA's.

Deze kleine RNA's klieven ze met hun Argonaute-enzym vervolgens doormidden.

Duidelijk is dat micro-RNA's een regulerende of corrigerende functie hebben bij celdifferentiatie en behoud van celidentiteit. SiRNA's hebben een beschermende rol tegen moleculaire parasieten zoals

Genexpressie censureren kan micro-RNA's behoorlijke macht geven in de cel

virussen en transposons.

Amerikaanse onderzoekers toonden in 2004 als een van de eersten de regulerende rol van micro-RNA's aan bij zoogdieren. In transgene muizen maakten zij twee soorten stamcellen voor bloedcellen. Eén soort met een overexpressie aan micro-RNA-181a, de andere met een overexpressie aan micro-RNA-142s. Wat bleek? De stamcellen met een overexpressie aan micro-RNA-181a werden vooral B-cellen, en de stamcellen met een overexpressie van micro-RNA-142s werden vooral T-cellen. Ook is bekend dat zebra-visjes die geen micro-RNA's kunnen ma-

ken, niet levensvatbaar zijn.

Maar hoe belangrijker zijn micro-RNA's nu echt? Hier is nog veel discussie over. Cuppen wil het belang niet overdrijven. “Transcriptiefactoren blijven het belangrijkste”, benadrukt hij. “Want zij regelen of een gen wel of niet tot expressie komt. En pas als een gen eenmaal tot expressie is gekomen, kunnen micro-RNA's geheel of gedeeltelijk de eiwitproductie blokkeren.”

Zelf denkt Cuppen dat veel kleine RNA's alleen een controlerende functie hebben in de celidentiteit. “Als bijvoorbeeld hersencellen per ongeluk een spiereiwit maken, of een eiwit specifiek voor een hartcel, kunnen micro-RNA's dit bijstellen. Als een soort stofzuiger. Maar we moeten ook niet te makkelijk generaliseren. Niet elk klein stukje RNA werkt hetzelfde.”

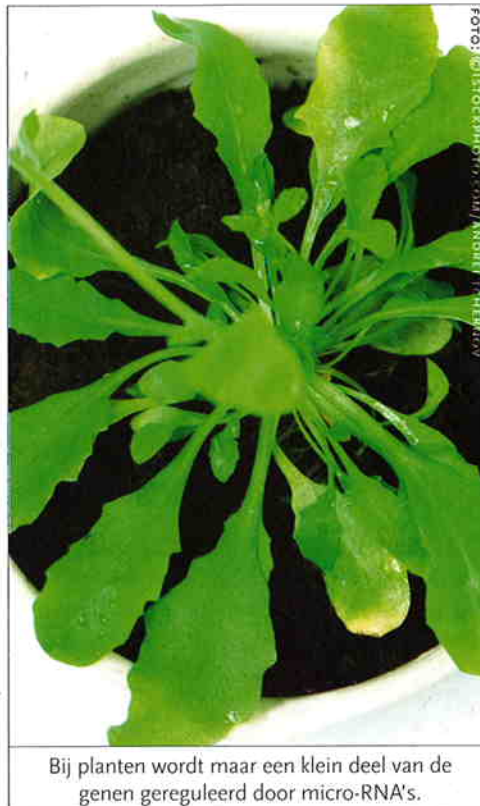
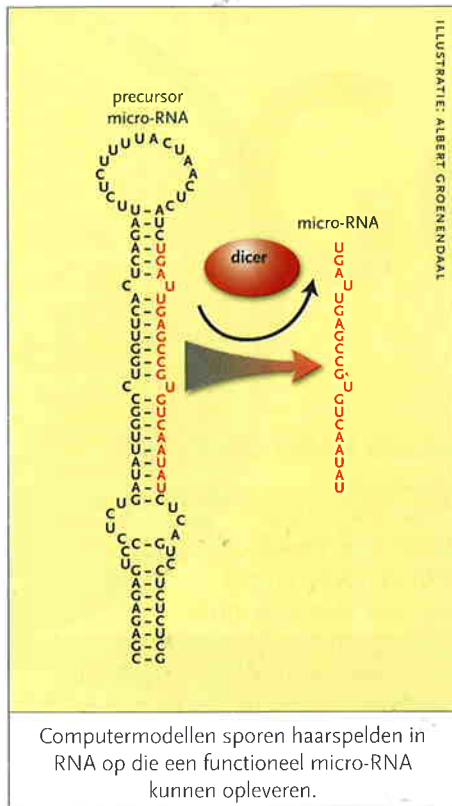
Cuppen baseert zijn voorlopige idee onder andere op onderzoek dat het Hubrecht Laboratorium deed aan micro-RNA's in de hersenen van apen en mensen. Vorig jaar publiceerden zij hierover in *Nature Genetics*. De onderzoekers isoleerden, klonerden en sequenceten zo'n 400.000 micro-RNA-moleculen uit deze hersenen, en vergeleken ook de genen die voor deze micro-RNA's codeerden. Zo vonden ze vijfhon-

MICRO-RNA'S VOORKOMEN TUMORVORMING

Steeds meer laboratoria die de genen achter een ziekte bestuderen, zoeken tegenwoordig ook naar micro-RNA's. De onderzoeksgroep van Anke van den Berg belandde toevallig al snel in dit nieuwe vakgebied. De Nederlanders waren namelijk op zoek naar de functie van een gen dat verhoogd tot expressie bleek te komen bij de ziekte van Hodgkin, een soort kanker van het lymfestelsel. Dit gen bleek onverwacht te coderen voor een micro-RNA. Naar de targetgenen is de groep nu op zoek.

Amerikaanse laboratoria hebben bij leukemiepatiënten al aangetoond dat zij minder micro-RNA 15 en 16 hadden in hun tumorcellen. Deze micro-RNA's blokkeren op celniveau de aanmaak van het eiwit BCL2, dat voorkomt dat cellen zichzelf doden (apoptose).

Zonder micro-RNA's 15 en 16 blijven de ontregelde cellen dus BCL2 aanmaken, waardoor de celdood geremd wordt en de cellen maar blijven doorgroeien. Dit leert dat micro-RNA's ook belangrijk kunnen zijn voor het evenwicht tussen celdeling en celdood.



derd tot duizend kleine stukjes RNA die veel in hersenweefsels voorkomen.

Ze vonden echter ook veel micro-RNA-moleculen die heel weinig of nauwelijks (tot één molecule) in de samples zaten. Misschien omdat ze maar in één celsoort voorkomen, of omdat ze toevallige bijproducten zijn zonder biologisch effect.

Wat echter pleit voor wél een effect van ook die zeldzame micro-RNA's, is dat de genen voor een aantal van die weinig voorkomende moleculen sterk geconserveerd zijn, tot in vissen toe. In dat geval zouden primaten veel meer dan vijfhonderd tot duizend verschillende micro-RNA's maken.

OPSPOREN

Computermodellen proberen nu op basis van de DNA-sequentie te voorspellen welk mRNA een bepaald micro-RNA zal herkennen, en welke targetgenen dit micro-RNA daarom zou kunnen hebben. Laboratoria kunnen dan met die uitkomsten gericht op zoek gaan: cellen een bepaald micro-RNA laten overproduceren, en vervolgens de eiwitten opsporen die daarvoor minder, of niet meer worden aangemaakt.

Inmiddels zijn ongeveer dertig relaties experimenteel vastgesteld. De computermodellen voorspellen er echter duizenden: namelijk per micro-RNA twintig tot hon-

derd verschillende targetgenen (afhankelijk van het model). Helaas zijn zelfs de beste computermodellen nog niet helemaal betrouwbaar, vindt Anke van den Berg, onderzoeksleider op de afdeling Pathologie en Laboratoriumgeneeskunde in het Universitair Medisch Centrum Groningen (Nederland). "Ik denk dat als er duizend bindingen tussen micro-RNA's en hun targetgenen bekend zijn, deze modellen pas betrouwbaar worden."

Van den Berg denkt dat als de computermodellen blijken te kloppen, de micro-RNA's in staat zijn om samen al onze 30.000 genen te reguleren. Edwin Cuppen houdt het voorlopig op een derde van onze genen. De zogeheten 'huishoudgenen' bijvoorbeeld worden niet door micro-RNA's gereguleerd - dit zijn de genen die in elke cel nodig zijn voor algemene taken als het genereren van energie en de opbouw van een cytoskelet.

Celspecifieke genen worden wel door micro-RNA's gereguleerd. Dit strookt met de waarneming dat de mRNA's van de huishoudgenen kortere, niet-coderende uiteinden hebben dan de mRNA's van de celspecifieke genen. Waardoor de laatste meer kans hebben op binding aan een micro-RNA.

Bij planten kent Van de Peer een minder brede rol aan de micro-RNA's toe dan bij dieren. "Bij planten wordt maar een klein

deel van de genen gereguleerd door micro-RNA's. Eén micro-RNA reguleert heel specifiek één of misschien twee genen. Tot nog toe blijken dat overigens wel allemaal genen die zijn betrokken bij groei en ontwikkeling."

HAARSPELD

Van de Peer waarschuwt voor de vele vals positieve uitkomsten die computermodellen kunnen geven, bijvoorbeeld bij voorspellingen over micro-RNA's op basis van de nucleotidevolgorde van het genoom. "Ze bekijken bijvoorbeeld waar in het genoom stukken RNA de vorm zullen krijgen van een haarspeld. Maar niet elke haarspeld is ook een functioneel micro-RNA."

Zijn onderzoeksgroep bekeek welke van die RNA haarspelden - mogelijke micro-RNA's dus - in *Arabidopsis* (zandraket) en rijst geconserveerd waren, en dat waren er 117. Omdat bij de populier, die evolutionair veel dichter bij de *Arabidopsis* staat dan rijst, ongeveer diezelfde 117 zijn geconserveerd, concludeert Van de Peer voorlopig dat planten niet meer micro-RNA's maken dan 150.

Zijn onderzoek kreeg hij gepubliceerd in het bekende tijdschrift *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS). Tot zijn opluchting. "Het is niet makkelijk om een plaatsje in dit competitieve vakgebied te verwerven."