

Biomoleculen gespot met lasers

prof. dr. W. Leo Meerts

*Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van bijzonder
hoogleraar Hoge resolutie spectroscopie aan biologisch relevante
systemen aan de faculteit der Exacte Wetenschappen van de Vrije
Universiteit Amsterdam op 14 juni 2007.*

vrije Universiteit amsterdam



Geachte Rector, dames en heren,

Toen ik als jong fysicus mijn proefschrift verdedigde realiseerde ik mij niet wat de toekomstige mogelijkheden waren van de spectroscopie. Mijn proefschrift ging over kleine 2 atomaire moleculen zoals het stikstof monoxide molecuul. De experimenten werden uitgevoerd met radio frequente en microgolf bronnen. De eerste lasers waren vrij kort daarvoor uitgevonden en wij leerden de basis principes toen reeds op de colleges van Tony Dymanus, mijn promotor. Echter ik besepte me toen niet welk een geweldige toepassingsmogelijkheden deze nieuwe lichtbronnen zouden krijgen. In die tijd werkte we aan hoge resolutie spectroscopie van kleine moleculen; moleculen met twee of drie atomen. Wat de leidraad in mijn research gebleven is, is het gebruik van hoge resolutie spectroscopie. Echter de komst van lasers en het toepassen van nieuwe technieken heeft het mogelijk gemaakt veel grotere moleculen te bestuderen. Moleculen relevant voor de bestudering van biologische processen beginnen nu binnen het bereik te komen. In deze openbare les wil ik proberen u mijn fascinatie voor dit vakgebied over te brengen en een kijkje te geven op de ontwikkelingen van de afgelopen jaren. Ook zal ik een blik naar de toekomst werpen.

De vorming van ons heelal uit de oerknal en het ontstaan van onze aarde met daarop de levensvormen die wij kennen is buitengewoon fascinerend. De aarde is ontstaan als een uiterst klein stipje in een geweldig groot melkweg systeem. Een melkweg systeem bevat een zeer groot aantal sterren en sterrenstelsels, waar onze zon er een van is. Op onze aarde heerste zodanige omstandigheden dat er zich uit eenvoudige anorganische moleculen zoals methaan (aardgas), stikstof en zuurstof de eerste biologische moleculen konden ontwikkelen. Figuur 1 geeft daar een artist impressie van. Deze biologische macromoleculen slaagden er vervolgens in eigenschappen als zelforganisatie en zelf-replicatie te ontwikkelen. Hierdoor werd het mogelijk dat op cellen gebaseerde levensvormen te ontstonden.

Alle organismen hebben een aantal biochemische eigenschappen gemeen: bijvoorbeeld de wijze waarop erfelijke eigenschappen opgeslagen en gecodeerd worden en de manier waarop biologische moleculen opgebouwd en afgebroken worden voor de opslag en transport van energie.



Figuur 1: De evolutie fasen van onze aarde als een klein puntje in onze melkweg systeem.

De onderliggende genetische en biochemische eenheid van moderne organismen suggereert dat zij afstammen van een enkele gemeenschappelijke voorvader. In alle bekende culturen vinden we een scheppings mythe, die een verklaring geeft voor het eerste ontstaan van het leven. Pas in de moderne tijd begint het mogelijk te worden een op wetenschappelijke argumenten gebaseerde verklaring te vinden voor het ontstaan van het leven.

De volgende vragen kunnen dan gesteld worden:

1. Wat is de 3 dimensionale structuur van een biomolecuul?
2. Hoe vindt de wisselwerking plaats tussen biomoleculen?
3. Hoe wordt de genetische informatie opgeslagen en doorgegeven?
4. Hoe wordt energie in een cel opgeslagen en gebruikt?

5. Welke mechanismen maken het mogelijk dat biomoleculen zich organiseren en hun activiteiten coördineren?

De moderne biochemie en biofysica proberen een antwoord te geven op bovenstaande vragen. In mijn onderzoek heb ik me beziggehouden met de eerste vraagstelling: De bepaling van de structuren van biomoleculen.

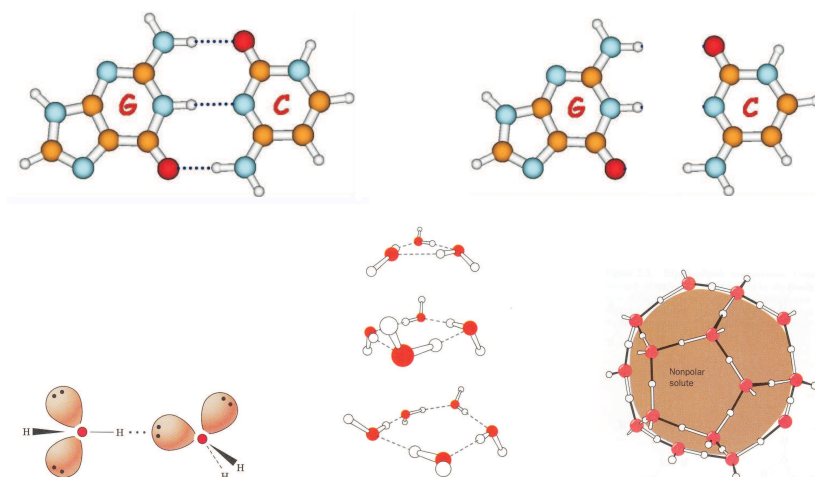
Laten we eerst eens kijken welke rol de structuur van een biomolecuul in de natuur speelt. Als voorbeeld nemen we het bekende DNA molecuul. Met de ontdekking van Watson en Crick in 1953 werd duidelijk hoe de structuur van het DNA molecuul eruit zag en op welke wijze deze erfelijke eigenschappen opslaat en ook weer door kan geven aan volgende generaties. Zij toonden aan dat DNA bestaat uit twee lange strengen die als een soort wenteltrap in elkaar draaien. Elke streng bestaat uit een groot aantal kleinere eenheden: de nucleotiden. Elk nucleotide bestaat weer uit een fosfaatgroep, een suiker (desoxyribose) en een zogenaamde basis groep. De basis groepen vormen het uiteindelijke coderende deel en er komen in de natuur slechts vier verschillende varianten voor: adenine, thymine, cytosine en guanine. De volgorde waarin de basis groepen naast elkaar voorkomen vormt de uiteindelijke erfelijke boodschap.

De beide strengen zijn via de basis groepen als een soort ritsluiting met elkaar verbonden. Hierbij is een adenine altijd gekoppeld aan een tegenoverliggende thymine en een cytosine altijd aan een guanine. Wanneer het DNA verdubbelt, laat de rits lokaal even los en hecht zich op die plek een eiwit (DNA-polymerase) aan elke DNA-streng. Vervolgens ritst dit eiwit de DNA-streng verder af en koppelt daarbij aan elke basis groep zijn complementaire basis groep, waardoor er twee dubbelstrengs DNA-moleculen ontstaan die ieder één originele en een nieuwe streng bevatten.

Watson en Crick kregen in 1962 de Nobelprijs voor hun ontdekking. Toch had waarschijnlijk toen nog niemand kunnen vermoeden welke gevolgen deze ontdekking voor de moderne wetenschap zou gaan hebben. Mede dankzij het werk van Watson en Crick zijn we nu onder andere meer te weten gekomen over ons eigen genetisch verleden, kunnen we misschien ooit nog eens uitgestorven dieren en planten weer tot leven wekken, bestaande organismen van nieuwe eigenschappen voorzien die

van nut kunnen zijn voor ons of voor henzelf en geheel nieuwe geneeswijzen ontwikkelen voor ziektes waar we nu nog machteloos tegenover staan.

Het feit dat de natuur in staat is tot dit ritsen komt omdat de beide delen van de rits bestaan uit twee sterk chemisch gebonden delen, de helixen, maar de rits verbinding zelf wordt gevormd door waterstofbruggen. Hierbij vormen waterstofmoleculen aan het ene molecuul een brug naar het andere molecuul. In figuur 2 zien we een voorbeeld van de waterstofbruggen tussen guanine en cytosine. Een waterstofbinding is chemisch gezien een zwakke verbinding waardoor het mogelijk is ze makkelijk te verbreken en te herordenen. De verbinding is te vergelijken met die van de bekende gele zelfklevende memo's.



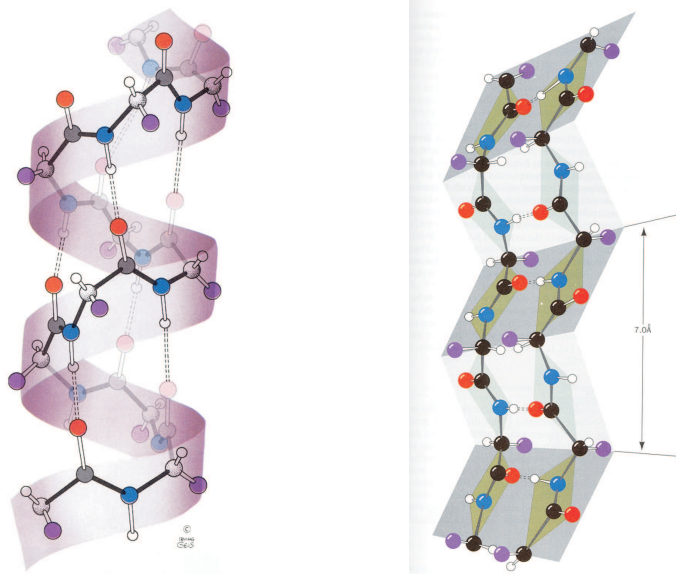
Figuur 2: Het guanine-cytosine paar verbonden met elkaar via een drietal waterstofbruggen (boven links) en als twee vrije moleculen (boven rechts). De onderste drie figuren laten voorbeelden zien van waterstofbruggen in water: Water dimeer (links), 3-,4 en 5-water polymeren (midden) en een molecuul opgelost in water (rechts).

Net als DNA zijn eiwitten biomoleculen die uit een beperkt aantal (20) elementaire bouwstenen zijn opgebouwd: de amino zuren. Ook hier worden er door middel van waterstofbruggen samengestelde complexe

structuren gevormd. We kunnen een tweetal verschillende zogenaamde secundaire structuren onderscheiden: De α -helix en het β -sheet, zie ook figuur 3.

In een α -helix is elk aminozuur verantwoordelijk voor een draaiing van 100° rond de as van de helix, De dicht oengepakte α -helix is structureel zeer stabiel vanwege zijn compactheid. Bovendien komen er stabiliserende waterstofbruggen voor tussen twee aminozuren die 4 plaatsen in de helix uit elkaar liggen.

Een β -sheet heeft een plaatvormige ruimtelijke structuur. Nabij gelegen aminozuren vormen waterstofbruggen. Ook vormt elke bouwsteen een H-brug met een aminozuur 3 plaatsen verder.

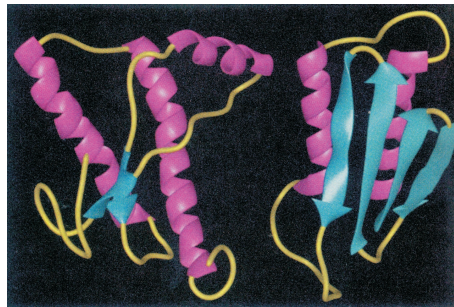


Figuur 3: De structuren van een α -helix (links) en een β -sheet (rechts).

Waterstofbruggen spelen een zeer grote rol in praktisch alle biofysische processen om ons heen. In water bijvoorbeeld, dat opgebouwd is uit twee waterstofatomen en een zuurstofatoom, kan het waterstof atoom van het ene molecuul een waterstofbrug vormen met het zuurstof atoom

van een ander watermolecuul. We zien dat bijvoorbeeld in figuur 2. Ingewikkeldere structuren ontstaan door de vorming van meerdere waterstofbruggen, zoals bij de 3-, 4, en 5-water polymeren uit figuur 2. Bij het oplossen van niet polaire stoffen in water vormen een aantal water moleculen samen een soort kooi rond de opgeloste stof om het aantal waterstofbruggen te maximaliseren. Als laatste zien we waterstof bruggen in ijs.

Dat structuren van biomoleculen voor een belangrijk deel biologische processen bepalen, wil ik nog met een ander voorbeeld demonstreren. De ziekte Bovine Spongiforme Encephalopathie, in volksmond ook wel de 'gekkedoeienziekte' genoemd, is een hersenaandoening bij runderen die in verband wordt gebracht met een variant van de ziekte van Creutzfeldt-Jakob bij de mens. Bij de ziekte van Creutzfeldt-Jakob worden de hersenen van de mens aangetast. Het is vrijwel zeker dat dit veroorzaakt wordt door een structuurfout van het prion eiwit. Dit eiwit is aanwezig in hersenweefsel waar het normaal een α -helix structuur



Figuur 4: Het prion eiwit met een α -helix (links) en een β -sheet structuur (rechts). De laatste is onoplosbaar.

heeft (figuur 4). In aangetast hersenweefsel komt hetzelfde eiwit in een mengsel van α -helix en β -sheet voor, veroorzaakt door een fout in het vouwen van het eiwit tijdens de vorming. De β -sheet structuur is niet oplosbaar en wordt afgezet in de cel en beschadigt daardoor de hersencellen. De ziekte van Alzheimer heeft waarschijnlijk eenzelfde oorzaak.

Laser spectra

Het zal inmiddels duidelijk zijn dat waterstofbruggen een heel belangrijke rol spelen in het tot standkomen van de structuur van complexe biomoleculen. De kennis van de sterkte en de precieze vorm van deze bruggen is van cruciaal belang. Hierbij kunnen onze experimenten een bijdrage leveren.

Hoewel we, zoals ik nu zal laten zien, met onze technieken niet in staat zijn om de totale structuur van een DNA molecuul te bepalen, is het wel mogelijk om de bouwstenen en de interacties tussen deze bouwstenen te bestuderen. We kunnen dat zelfs met een heel grote precisie. Een combinatie van onze experimentele resultaten met moderne quantum chemische berekeningen maakt het mogelijk de geldigheid van deze berekeningen vast te stellen. We kunnen daarmee een goede afschatting maken van de kwaliteit van de voorspellingen voor grotere biomoleculen waaraan we op dit moment nog geen succesvolle experimenten kunnen uitvoeren. Ik zeg op dit moment, want toekomstige ontwikkelingen zullen het zeker mogelijk maken grotere en gecompliceerde biomoleculen te onderzoeken. Ik kom daar later in deze les nog op terug.

Onze experimentele techniek is gebaseerd op hoge resolutie laser spectroscopie. De toepassingen van lasers in de dagelijkse wereld om ons heen heeft een grote vlucht genomen. Ik noem als voorbeelden de CD en DVD apparatuur, de laserpointer, laserprinters, in de glasfiber communicatie, het ooglaseren, als waterpas, bij landmetingen, in de dermatologie en tandheelkunde, bij 3D laserscanning en nog veel meer. Elk van de toepassingen heeft zijn eigen laser, echter wat ze allemaal gemeen hebben is de sterk gerichte bundel en de hoge spectrale zuiverheid. Dat laatste betekent dat de laserstraling slechts een kleur bevat, die overigens voor sommige lasers wel kan worden veranderd, kan worden verstemd. Voor onze spectroscopische experimenten gebruiken we afstembare lasers.

Het principe van het experiment is eenvoudig. We bestralen een molecuul met laserlicht en dat molecuul kan het licht absorberen: Het neemt energie op uit het laserveld. Het molecuul komt daardoor in een energetisch hogere toestand. Aangezien de natuur streeft naar de laagst mogelijke energie zal het molecuul weer terugvallen naar zijn laagste toestand. Dit gebeurt onder het uitzenden van licht dat we vervolgens

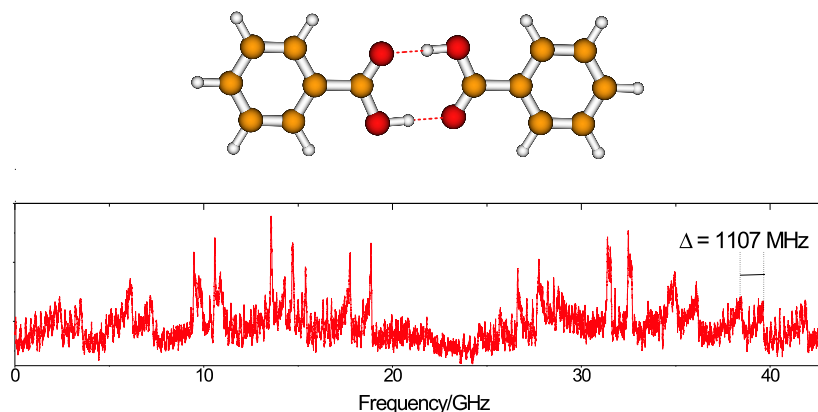
detecteren. Het uitzenden van het licht door de moleculen wordt fluorescentie genoemd. De moleculen kunnen alleen laserlicht absorberen als hun energie toestanden passen bij de kleur van het licht en alleen dan zal er fluorescentie optreden. Verstemmen we de kleur van de laser dan ontstaat er een spectrum.

Aan onze laser stellen we een aantal strenge eisen wat betreft kleur, verstembbaarheid, nauwkeurigheid en stabiliteit. Daarom kunnen we niet een alledaagse laser gebruiken, maar dat doet niet af aan het principe. Om het oplossend vermogen te bereiken wat nodig is voor onze experimenten moeten de moleculen ook een speciale behandeling ondergaan: We brengen ze in een bundel in vacuüm, zodat alle effecten van de omgeving verdwenen zijn en alleen de interactie met het laserlicht een rol speelt. Deze unieke combinatie van laser en molecuulbundel maakt deze techniek tot hoge resolutie spectroscopie [1].

Hoe bepalen we nu de structuur informatie uit onze spectra? Iedereen heeft wel eens naar kunstschaatsen gekeken en dan valt het direct op dat als de schaatser een pirouette maakt hij erin slaagt de snelheid waarmee hij om zijn as draait te vergroten of te verkleinen. Als men goed kijkt dan neemt de draaisnelheid toe als de armen dicht bij het lichaam gebracht worden. Dus de draaisnelheid geeft directe informatie over de structuur. Hier maken we gebruik van in onze experimenten. Uit de spectra die wij meten, kunnen we rotatie snelheid om de verschillen assen van het molecuul bepalen en daaruit de structuur afleiden.

Laten we ter illustratie een specifiek voorbeeld bekijken. Ik heb daarvoor het benzoic zuur molecuul gekozen. Dit is een relatief eenvoudig molecuul dat bestaat uit een benzeen ring met daaraan een C-O-OH groep. Die laatste groep is een van de twee groepen die in eiwitten zorgt voor de waterstofbruggen. Brengen we twee benzoic zuur moleculen dicht bij elkaar dan kunnen zich twee waterstofbruggen vormen tussen het waterstof aan de CO-groep van het ene molecuul met het zuurstof atoom van het andere molecuul. (zie Figuur 5)

De waterstofmoleculen trillen t.o.v. de zuurstof atomen waaraan ze gebonden zijn. Als de uitwijking groot genoeg is kan het waterstof overspringen van het ene molecuul naar het andere. Tegelijkertijd moet dan het tweede waterstof atoom ook naar het ander molecuul hoppen. De waterstof bruggen worden dus verwisseld. Dit gelijktijdig hoppen van



Figuur 5: De structuur van het dimeer van het benzoic zuur met daaronder het waargenomen spectrum.

de twee in de waterstof brug betrokken atomen wordt in de quantum mechanica tunnelen genoemd. Hoewel de beide configuratie van het dimeer gelijk zijn en dus ook hun energie, moet er een energie barrière overwonnen worden om van de ene naar de andere situatie te komen. De hoogte van deze barrière vertelt direct hoe sterk de waterstof brug is. Uit onze experimenten zijn wij in staat deze sterkte te bepalen. Dit is belangrijke informatie gezien de veelheid van waterstofbruggen van dit type in de natuur.

Hoe ziet een spectrum van het dimeer van het benzoic zuur en andere relevante biomoleculen eruit? Helaas nogal gecompliceerd. In Figuur 5 zien we het spectrum van het dimeer van het benzoic zuur. Hoewel er nog wel regelmatigheiden in te herkennen zijn, is het totale beeld toch dat van chaos.

Bij de interpretatie van een spectrum maken we gebruik van een model, voor ingewijden een Hamiltoniaan. Dit model bevat parameters die afhankelijk zijn van de eigenschappen van het molecuul. We proberen de model parameters zodanig aan te passen dat het experimentele spectrum gereproduceerd kan worden: We fitten ons spectrum. Als dit gelukt is, kunnen we daarna de molecuul eigenschappen direct bepalen.

Het fitten van de model parameters aan het experimentele spectrum,

is bij deze gecompliceerde spectra niet zo eenvoudig en zo niet menselijk onmogelijk, dan kost dit erg veel tijd, zelfs voor een ervaren spectroscopist. We zijn daarom op zoek gegaan naar een methode om dit proces door de computer te laten uitvoeren. In feite is het een probleem van patroon herkenning. Hoewel onze hersenen in staat zijn heel snel zelfs ingewikkelde patronen te herkennen, is dit voor een computer nog steeds een vrij moeizaam proces. Het voordeel is wel dat heel snel allerlei *trial and error* patronen door de computer berekend kunnen worden om die dan te vergelijken met het experimentele patroon. Ook heeft de computer een oneindig geduld. Dat kan echter niet gezegd worden van de wetenschapper: Hij wil liefst zo snel mogelijk het resultaat zien. Dat houdt in dat we niet alle mogelijke patronen kunnen doorrekenen in de hoop dat de juiste ertussen zit. We zijn op zoek gegaan naar een slimere methode om sneller het resultaat te vinden. Zo'n methode wordt ook wel algoritme genoemd.

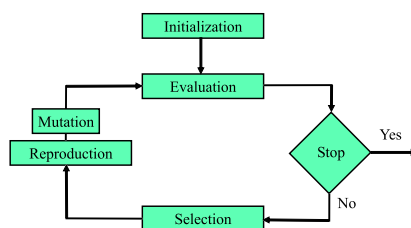
Genetisch algoritme

De methode die we samen met de groep van prof. Buydens [2,3] ontwikkeld hebben, maakt gebruik van een genetisch algoritme. Dit algoritme spiegelt zich aan de manier waarop in de natuur een selectie in de soort wordt gemaakt. De individuen die door toeval van zijn ouders de beste combinatie van genen heeft ontvangen voor de omgeving waarin hij leeft, heeft de beste kans om te overleven: Survival of the Fittest. Doordat dit van generatie op generatie gebeurt, past de soort zich aan en kunnen bepaalde specifieke eigenschappen ontwikkeld worden, zodat bijvoorbeeld walvissen in de zee kunnen leven.

De analyse van de spectra met behulp van genetische algoritmen gaat als volgt. Allereerst worden de model parameters binair gecodeerd, waarbij elke parameter een gen oplevert. De verzameling van genen die we een individu noemen bevat alle informatie over onze model parameters. Een individu staat voor één berekend spectrum. In de eerste stap van het algoritme worden de waarden van de parameters willekeurig gekozen en worden typisch een paar honderd individuen gegenereerd. De verzameling van individuen vormt een generatie. Aangezien ieder individu voor een berekend spectrum staat, hebben we hiermee een paar

honderd willekeurige spectra berekend. Voor elk van de individuen wordt een fitness waarde berekend. Dit is een getal dat de kwaliteit van het berekende spectrum in vergelijking met het experimentele spectrum aangeeft. Hoe groter de fitness waarde is des meer lijkt het berekende individu op het experimentele spectrum.

Met behulp van de fitness-waarden kunnen we nu een selectie toepassen: Een bepaald percentage van de individuen lijkt totaal niet op het experimentele spectrum en overleven de selectie niet. De tweede generatie ontstaat door de genen van de geselecteerde individuen twee aan twee te combineren en zo voor elk ouderpaar twee kinderen te creëren. Het idee hierachter is dat door het toepassen van de selectie de goede eigenschappen versterkt worden overgedragen. Dit proces wordt herhaald, waarbij in elke volgende generatie de juiste eigenschappen versterkt worden. Het blijkt een zeer efficiënt algoritme te zijn, waarbij na een paar honderd generaties convergentie wordt gevonden, soms zelfs al na 50 generaties. Het totale genetisch algoritme proces is schematisch weergegeven in Figuur 6.



Figuur 6: Het schema van het genetisch algoritme.

Neurotransmitters

Ik zal nu een belangrijke groep van biomoleculen, de neurotransmitters, bespreken en laten zien wat daarover te leren valt met onze technieken. Van tryptamine en in sterkere mate zijn analogons serotonin en melatonin is bekend dat zij neurotransmitters zijn. Serotonin is een neurotransmitter die een heel belangrijke en fundamentele rol speelt in

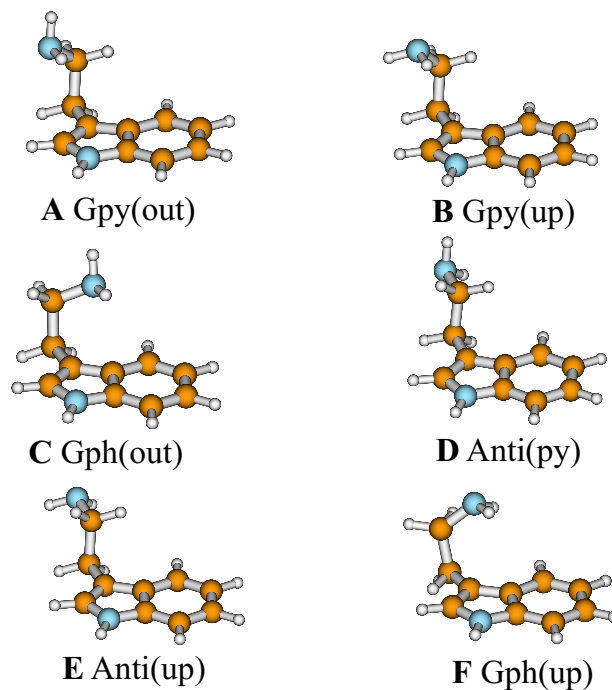
een aantal biologische processen. Zo regelt serotonine stemmingen, stress, slaap en eet cycli en spier en gastro-intestinale functies. Recentelijk is aangetoond dat serotonine ook een belangrijke rol speelt bij hartziekten en astma. De conformatie (lees structuur) van deze moleculen is bepalend voor activiteit in neurotransmitter-receptor interacties. Serotonine en tryptamine verschillen slechts in de OH-groep substitutie in de 5-positie van de indoolring.

Neurotransmitters met een ethylamine zijketen zoals tryptamine bezitten veel verschillende, bijna even stabiele conformaties. Dit is verrassend, aangezien de effectiviteit in drug-receptor interacties sterk bepaald wordt door de driedimensionale structuur van de neurotransmitter, het zogenaamde slot-en-sleutel principe. Een goede kennis van de driedimensionale structuur van neurotransmitter moleculen vormt daarom de basis voor een succesvolle modelering van receptor-agonist interactie.

In de ethylamine zijketen van tryptamine zijn drie drievoudige rotaties mogelijk. Twee rond de enkele C–C binding en een rond de C–N binding. Daarom bestaan er van tryptamine 27 verschillende conformeren (structuren). Zes van deze 27 conformeren zijn er door ons experimenteel [4] waargenomen. (zie Figuur 7) Van deze zes was het mogelijk een nauwkeurige ruimtelijke structuur bepaling uit te voeren. Als we naar deze conformeren kijken dan zien we dat met name C en F sterk afwijken van de andere 4. De NH₂ groep is over de ringen structuur gebogen en heeft daarmee een heel ander *sleutel* dan de andere conformeren.

Aangezien alle biologische processen in een waterig milieu plaatsvinden, is het van groot belang te weten hoe het proces van microsolvatie plaatsvindt; met andere woorden hoeveel watermoleculen er nodig zijn om uit de grote verscheidenheid van energetisch toegankelijke conformaties die te selecteren die biologisch actief is. De wijze waarop wij dat onderzoeken is een stapsgewijze microsolvatie door complexen van het tryptamine molecuul met water moleculen te onderzoeken waarbij telkens één water molecuul aan het cluster wordt toegevoegd.

Als eerste wordt het cluster met slechts een watermolecuul bekeken. Hier gebeurt direct al iets wat in eerste instantie onverwacht is. Hoewel er minimaal zes verschillende potentiële conformeren van het tryptamine molecuul zijn waaraan een water molecuul zich kan binden, blijkt er

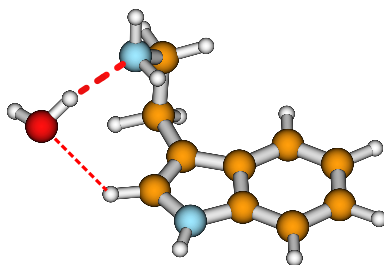


Figuur 7: Structuur van de zes tryptamine conformeren die waargenomen zijn met hoge resolutie spectroscopie.

slechts een geselecteerd te worden. Alleen het *A*-conformeer (gauche pyrrol out, zie Figuur 7) vormt een cluster met water.

Wat is de reden voor de uitgesproken stabilisatie van het *A*-conformeer bij de vorming van het watercomplex in vergelijking met alle andere conformeren? Om deze vraag te beantwoorden kijken we naar de gevonden structuur van dit complex. (Figuur 8)

De *normale* waterstofbrug in het cluster is die van één van de waterstof atomen van het watermolecuul met de stikstof aan het eind van de zijketen. Deze is mogelijk in elk van de 6 conformeren. In het *A*-conformeer is het echter mogelijk een tweede waterstof brug te vormen tussen het zuurstof atoom van het watermolecuul en een waterstof van



Figuur 8: Microsolvatie van het tryptamine *A*-conformeer met een water molecuul.

het pyrrol deel van de indoolring. De structuren van de overige conformeren maken het niet mogelijk dat zich een tweede waterstofbrug kan vormen. Hoewel de tweede waterstof brug in het *A*-conformeer zwakker is als de hoofd binding, geeft die voldoende extra stabiliteit aan het cluster zodat dit het enige conformeer is dat uitgevroren wordt.

In de nabije toekomst hopen we clusters met meerdere watermoleculen waar te nemen om zo het microsolvatie proces stap voor stap te kunnen volgen.

Een blik vooruit

Ik wil nu een blik in de toekomst werpen en aangeven wat de ideeën en plannen zijn. Hoewel de techniek nog een groot aantal mogelijkheden heeft zijn er ook beperkingen. We onderzoeken de moleculen door ze vanuit meestal de vaste fase te verdampen. Het gemakkelijkst kan dit door het verhogen van de temperatuur. Dit gaat uitstekend voor de moleculen die we tot nu toe onderzocht hebben, maar er is een grote klasse van biologisch belangrijke moleculen die bij het verhogen van de temperatuur uit elkaar valt in verschillende brokstukken. Een ander probleem kan optreden als verschillende moleculen overlappende spectra hebben. Dit gebeurt met name als we grotere clusters met bijvoorbeeld water willen onderzoeken om het proces van microsolvatie te volgen.

Voor beide problemen is er een oplossing. Om te zorgen dat de moleculen verdampen zonder dat ze in brokstukken uiteen vallen be-

schieten we de stof met een korte maar sterke laserpuls. De moleculen verdampen dan heel snel maar hebben in die korte tijd niet de gelegenheid uit elkaar te vallen. Het op deze manier verdampen van materialen wordt laser desorptie genoemd. Dit verdampingsproces vindt plaats in vacuüm.

Om te zorgen dat de moleculen de juiste richting op gaan wordt er tegelijk met de verdampingslaser een sterke straal gas, meestal helium of argon langs geblazen. Deze gas stroom sleept de verdampde biomoleculen mee. Voor de detectie en massa selectie gebruiken we een tweede sterke laser. Het is een drie stappen proces. In de eerste stap absorbeert het molecuul licht van de laser. Die absorptie gebeurt alleen als de kleur van de laser *past* bij het molecuul. Keken we in het eerdere experiment naar het licht dat de moleculen uitstraalden door fluorescentie, in dit experiment krijgen de moleculen daar geen kans toe omdat de laser puls zo sterk is dat in de tweede stap nog een of zelfs meerdere absorpties van het laserlicht plaatsvinden. Hierdoor neemt het molecuul zoveel energie op dat het een electron kan uitstoten: Het ioniseert en krijgt een lading. Een geladen deeltje kan met een elektrisch veld gemakkelijk worden versneld. Die versnelling is des te groter naarmate de massa kleiner is. Dus lichte deeltjes zullen sneller gaan dan zwaardere. Meten we nu de tijd van aankomst dan komt een lichter deeltje het eerst aan. Op die manier kan dus op massa worden geselecteerd. Een dergelijke machine wordt op dit moment gebouwd.

Belangrijke eigenschappen van biomoleculen kunnen ook bepaald worden uit de trillingen (vibraties) die de atomen binnen het molecuul kunnen ondergaan. Ander soortige bewegingen in een biomolecuul zijn het vouwen van bijvoorbeeld eiwitten. Omdat de verschillende delen van het gevouwen eiwit relatief zwaar zijn, is de daarbij horende buigfrequenties laag. Deze zullen in het zogenaamde THz gebied liggen; dit is een straling die ligt tussen dat van een magnetron oven en een infrarood lamp. Helaas is het in dit tussen gebied moeilijk om over grote gebieden afstembare straling te maken. Naast een aantal bronnen die relatief laag vermogen straling kunnen genereren, bestaat er wel een zogenaamde Vrije Electronen laser.

Ik zal nu in het kort het principe van de Vrije Electronen bespreken: Een zeer snelle electronen bundel wordt in een telkens van richting wis-

selend magneetveld afgebogen. Bij elke afbuiging zenden de electronen straling uit: de zogenaamde Bremsstrahlung. De energie van de electronen in combinatie met de sterkte van het magneetveld bepalen kleur van de uitgezonden straling. De technische uitvoer van dit principe vergt echter een tamelijk grote machine; er is een hal van zo'n 20 bij 15 meter nodig.

Om deze reden staan er slechts een relatief klein aantal Vrije Electronen lasers in de wereld. Middels een subsidie van NWO wordt er een nieuwe Vrije Electronen laser in Nijmegen gebouwd. Deze is complementair aan die in Rijnhuizen. Hij zal voor een groot deel worden gebruikt om experimenten te doen in combinatie met een extreem hoog magneetveld. Deze combinatie is uniek in zijn soort. De bouw hiervan zal nog ongeveer 4 jaar duren. De bouw van de Vrije Electronen laser vindt plaats onder leiding van Wim van der Zande. Ik vind het een uitdaging dat ik ook een bijdrage mag leveren aan de totstandkoming van deze faciliteit. De combinatie van de Vrije Electronen laser met de net besproken desorptie bron en massa-selectieve detectie opent een wereld van nieuwe mogelijkheden voor de bestudering van biomoleculen.

Naast een bijdrage tot het onderwijs in de faculteit der Exacte Wetenschappen van de VU, ben ik ook betrokken bij het onderzoek in het Laser Centrum van de VU. Op dit moment loopt er al een gezamenlijk project waarbij succesvol gebruik gemaakt wordt van het genetisch algoritme in de analyse van gecompliceerde NMR spectra van moleculen in vloeibare kristallen. Het idee is om evolutionaire algoritmen in te zetten bij de optimalisatie van de controle over fotodynamische processen. Deze laatste experimenten worden in de groep van Maurice Janssen aan de VU uitgevoerd met behulp van een experimentele opstelling, waarbij de fotodynamische processen m.b.v femto seconde lasers gestuurd worden. De processen worden sterk beïnvloed door de vorm van deze laser pulsen. Het is niet makkelijk te voorspellen welke eigenschappen van de laser pulsen precies een rol spelen en het aantal mogelijkheden is erg groot. Mogelijkerwijs kunnen evolutionaire algoritmen een belangrijk hulpmiddel zijn deze puzzel systematisch en efficiënt op te lossen.

Loopbaan beleid WP Universiteiten

Naar aanleiding van een aantal recent verschenen artikelen in VAWO-visie [5, 6], het blad van de Vakbond voor Academics, wil ik hier de positie en situatie van het tijdelijk wetenschappelijk personeel verbonden aan de Nederlandse universiteiten uiteen zetten. Met name wil ik een beeld geven van de problemen die spelen rond jonge gepromoveerde wetenschappers en hun carrière perspectieven. Tot slot van dit korte betoog wil ik een aantal suggesties doen hoe dit probleem aan te pakken.

De angst van universiteiten om wetenschappers, hoe talentvol ook, een vast contract aan te bieden, begint nu ook de Vernieuwingsimpuls te doorkruisen. Wie na een Veni-subsidie te hebben verworven aansluitend een Vidi-subsidie krijgt, moet toch over uitstekende wetenschappelijke kwaliteiten beschikken, want het gaat hier om pittige competities. Men zou verwachten dat de universiteiten staan te trappelen om zo'n talent, dat ook nog zo'n half miljoen euro aan subsidie meebrengt, aan zich te binden. Helaas blijkt dit vaak niet het geval te zijn.

De kans is groot dat zo'n talent de universitaire flex-regeling voor de voeten krijgt geworpen. Na drie jaar *Veni* wordt tijdens een *Vidi* de contractduur van vijf of zes jaar overschreden, waarmee recht op een vaste aanstelling ontstaat. En daar willen de universiteiten vaak niet aan, omdat ze niet aan medewerkers gebonden willen zijn als de subsidie afloopt.

Rijst de vraag of de Flexwet de bron van het probleem is, of dat het universitaire personeelsbeleid dit is. Het gaat overigens niet zozeer om de Flexwet, maar om de regeling die werkgevers en werknemers in afwijking daarvan in de CAO zijn overeengekomen. De Flexwet schrijft voor dat zo'n regeling er moet zijn, maar kent zelf een veel kortere termijn (drie jaar), die bij overschrijding recht op een vaste aanstelling geeft. Met de Universitaire CAO-regeling wordt al tegemoet gekomen aan het specifieke karakter van het wetenschappelijke werk aan de universiteiten, zoals de duur van onderzoeksprojecten. Zonder deze CAO-afspraken zouden de universiteiten bij het gros van het wetenschappelijk onderzoek tegen de Flexwet aanlopen.

Maar de universiteiten willen vaak zelfs de consequenties van de milde CAO-regeling niet aanvaarden. Ze laten nog liever honderdduizenden euro's aan subsidie schieten dan een wetenschapper met grote kwalitei-

ten vast aan te stellen.

Met de huidige regelgeving is het ook niet ongebruikelijk dat je als postdoc te horen krijgt dat je maar zes maanden iets anders moet gaan doen en dat ze je dan wat graag weer een tijdelijk contract geven. Maar een half jaar een uitkering trekken, is niet echt wat je je voorstelt bij de toekenning van een Vidi. Daar kan nog aan worden toegevoegd dat het niet een beoogd gebruik van een sociale voorziening is.

De wetenschap steekt vreemd af bij het bedrijfsleven. Daar is een vast contract heel gebruikelijk. En hoewel je daar natuurlijk ook goed moet presteren en je de pech kunt hebben dat je functie wordt weg bezuinigd, heb je toch meer zekerheden. In de wetenschap hoeft het in principe niet anders te zijn. Mits men dat goed kan onderbouwen, kan ook de universiteit van iemand met een vast contract af. Maar in de academische wereld vraagt dit om een cultuur omslag.

In mijn visie zouden er twee dingen moeten gebeuren. De universiteiten moeten meer structureel meer jaren plannen opstellen met een visie op het onderzoek op lange termijn. Er dienen keuzes te worden gemaakt welke onderzoeksgebieden versterkt dienen te worden en welke eventueel afgebouwd. Hierin kunnen dan ook een aantal toekomstige vaste posities voor succesvolle jonge wetenschappers ingebouwd worden. Verder zal aan het begin traject van bijvoorbeeld een Vidi aanvraag door de universiteiten aan de aanvrager heel duidelijk dit perspectief voorgelegd dienen te worden. Als inbedding niet mogelijk is zou dat kunnen betekenen dat het misschien verstandiger voor de onderzoeker is er van af te zien een dergelijk traject in te gaan en op nog jonge leeftijd te kiezen voor een carrière buiten de wetenschap. Dit schept duidelijkheid naar de jonge onderzoekers.

Daarnaast zou er een loopbaanbeleid voor postdocs in zijn algemeen ingevoerd moeten worden. Op de Radboud Universiteit loopt op dit moment reeds een project. Hier krijgen postdocs een *rugzakje*: een budget voor scholing. Deze scholing kan zich zowel op een toekomst binnen de universiteit als daarbuiten richten. Zo kan ook gewerkt worden aan de *tekortkoming* van veel postdocs voor een carrière buiten de universiteit: Hun hoge mate van specialisatie.

Ook op de VU wordt het grote belang van jong talent gelukkig ingezien. Ik citeer nu van de website: *De VU ziet talentbeleid als het*

speerpunt van het personeelsbeleid. Onderwijs- en onderzoeksinnovatie en de wetenschappelijke profilering van de VU vragen om een actief personeelsbeleid dat zich systematisch en planmatig richt op het aantrekken, ontwikkelen en het bieden van loopbaankansen aan getalenteerde wetenschappers. Het is noodzakelijk om instroom, doorstroom en ontwikkeling van wetenschappelijk personeel continu te optimaliseren om de opvolging en daarmee continuïteit en kwaliteit binnen het onderwijs en onderzoek te waarborgen.

Een woord van dank

Ter afsluiting van mijn rede wil ik een aantal mensen bedanken. Allereerst u, mijnheer de rector, de bestuurders van de Vrije Universiteit, de faculteit der Exacte Wetenschappen en de Stichting Het Vrije Universiteitsfonds voor de mij verleende leeropdracht.

Mijn promotor Tony Dymanus die mij als student ingewijd heeft in de geheimen van de atoom- en molecuul spectroscopie en daardoor enthousiast gemaakt heeft voor het vak.

Irving Ozier waarmee ik gedurende zijn sabbatical periode in Nijmegen een nieuwe methode van het waarnemen van *verboden* overgangen ontwikkeld heb. Van hem heb ik geleerd fysische vraagstellingen te reduceren en op een systematische wijze aan te pakken. De vele uren van discussie zijn voor mij altijd een geweldige bron van inspiratie geweest. Hij is voor mij een vriend voor het leven geworden.

In het bijzonder wil ik hier Michael Schmitt bedanken. Door toeval zijn we in 2001 een samenwerking opgestart die tot nu toe nog steeds voortduurt. Samen zijn we er in geslaagd de combinatie van hoge resolutie spectroscopie en automatische analyse met behulp van genetische algoritmen tot een standaard techniek te ontwikkelen. Deze ontwikkeling geeft aan dat fundamenteel onderzoek niet te plannen is. Ik denk dat we samen nog heel veel nieuwe wegen kunnen exploreren. Ook Martina Havenith die dit *toeval* geïnitieerd heeft, wil ik betrekken in mijn dankzegging.

Mijn directe collega's in Nijmegen Nico Dam, Hans ter Meulen, Frans Harren en Dave Parker wil ik bedanken voor de collegiale samenwerking die ik over de jaren heen mocht ondervinden. Speciaal Wim van der

Zande wil ik bedanken voor zijn betrokkenheid bij de leerstoel waarop ik nu benoemd ben.

Gedurende ruim 10 jaar ben ik secretaris geweest van het subfaculteitsbestuur Natuurkunde in Nijmegen en managing director van het Institute for Molecules en Materials (IMM) in het eerste jaar na haar oprichting. De geweldige secretariële ondersteuning van Riki Gommers en Margriet van Pelt heeft het mogelijk gemaakt om daarnaast mijn wetenschappelijk onderzoek te continueren. Het was voor mij altijd een waar genoegen met jullie samen te werken en ik beschouw dat als een groot voorrecht.

Mijn collega's aan de Vrije Universiteit in Amsterdam ben ik ook zeer erkentelijk voor de wijze waarop zij behulpzaam geweest zijn bij mijn inbedding in de faculteit der Exacte Wetenschappen. Ik wil hierbij noemen Wim Hogervorst als oud-decaan van de faculteit der Exacte Wetenschappen, Wim Ubachs en Maurice Jansen. Steven Stolte en Harold Linnartz wil ik bedanken voor hun inzet deze leerstoel te realiseren, ondanks de moeilijke situatie waarin de faculteit terecht gekomen was. Harold wens ik veel succes toe in zijn carrière als astrofysicus aan de Universiteit van Leiden.

Mijn ouders wil ik hier in het bijzonder bedanken omdat ze me alle vrijheid gegeven hebben om te kiezen wat ikzelf belangrijk en interessant vond en dat zij mij altijd gesteund hebben. Helaas kon mijn vader deze plechtigheid niet meer meemaken. Door problemen met haar gezondheid moet mijn moeder ook verstek laten gaan. Via de video kan zij toch nog een stukje van de sfeer meekrijgen. Mama bedankt!

Tot slot wil ik mijn dierbaren Hanneke, Frank, Jeroen, Paula, Yvonne en Sofia betrekken in dit woord van dank. Voor Hanneke en de kinderen Frank en Jeroen ben ik niet altijd volledig aanwezig geweest o.a. vanwege de vele verblijven in het buitenland. Hanneke heeft dat altijd op haar bijzondere wijze geweldig opgevangen. Mijn heel speciale dank aan haar wil ik hierbij publiekelijk uitspreken.

Ik heb gezegd!

Referenties

- [1] W. L. Meerts, M. Schmitt, Application of genetic algorithms in automated assignments of high-resolution spectra., *Int. Rev. Phys. Chem.* 25 (2006) 353–406.
- [2] J. A. Hageman, R. Wehrens, R. de Gelder, W. L. Meerts, L. M. C. Buydens, Direct determination of molecular constants from rovibronic spectra with genetic algorithms, *J. Chem. Phys.* 113 (2000) 7955–7962.
- [3] W. L. Meerts, M. Schmitt, G. Groenenboom, New applications of the genetic algorithm for the interpretation of high resolution spectra, *Can. J. Chem.* 82 (2004) 804–819.
- [4] M. Schmitt, M. Böhm, C. Ratzer, C. Vu, I. Kalkman, W. L. Meerts, Structural selection by microsolvation: conformational locking of tryptamine, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 10356–10364.
- [5] VAWO visie 2 (2006).
- [6] VAWO visie 3 (2006).