



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Epigenetic control of hippocampal stem cells: modulation by hyperactivation, glucocorticoids and aging

Schouten, M.

Publication date

2015

Document Version

Final published version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Schouten, M. (2015). *Epigenetic control of hippocampal stem cells: modulation by hyperactivation, glucocorticoids and aging*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, P.O. Box 19185, 1000 GD Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.



Addenda



Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

"Epigenetische regulatie van hippocampale stam cellen"

Onze hersenen bevatten stamcellen, die kunnen delen en via een aantal tussenstadia ook in het volwassen brein nog kunnen uitgroeien tot nieuwe, functionele zenuwcellen. Dit unieke verschijnsel van 'adulte neurogenese' treedt op in enkele hersengebieden waaronder de hippocampus, een hersenstructuur betrokken bij leren en geheugen die sterk aangedaan is bij hersenziektes als depressie, epilepsie en dementie. De aanwezigheid van deze stamcellen, ook wel "hersen-voorloper" cellen (NPCs) genaamd, heeft vele vragen opgeroepen, bv; welke omgevings factoren sturen dit proces? Hoe wordt het moleculair gecontroleerd? Welk effect heeft toevoeging van nieuwe hersencellen op het functioneren van het brein? Zouden NPCs toegepast kunnen worden voor het repareren van het brein bv na hersen schade of bij hersenziektes?

Onder kweek condities kunnen NPCs zich ontwikkelen tot verschillende soorten hersencellen: de meeste worden na enige tijd zenuwcel (neurogenese), en andere vormen "steuncellen", zgn. astrocyten en oligodendrocyten. Tijdens het proces van "adulte neurogenese" gaat de stamcel door diverse fases; allereerst vindt er actieve deling en vermeerdering plaats; de proliferatie fase. Daarna volgt er een selectie en gaat een deel dood (apoptose). Vervolgens beslissen de overlevende cellen of ze zenuwcel danwel steuncel worden (selectie/differentiatie fase), waarbij ze de bestaande cel lagen van de hippocampus binnendringen (migratie fase), verder groeien en ontwikkelen (differentieren) en uiteindelijk een vaste locatie bereiken, contact maken met andere zenuwcellen via hun uitlopers ("spines") en zo nieuwe, functionele neuron vormen die bijdragen aan het hippocampale netwerk (incorporatie fase).

Recente studies laten zien dat moleculaire mechanismes zoals specifieke veranderingen aan het DNA, zgn. "epigenetische veranderingen", maar ook kleine stukken RNA, zgn. microRNAs, de verschillende fasen van neurogenese kunnen beïnvloeden. Ook spelen ze een rol bij zelfvernieuwing van de NPCs en hun uitgroei onder zowel gezonde als ziekte condities.

Een van de hersenziektes die NPCs sterk beïnvloedt, is epilepsie. Kainaat (KA) is een chemische stof die de lokale hersenactiviteit sterk verhoogd en epilepsie kan doen ontstaan in modellen. Kainaat stimuleert NPC proliferatie, verandert de hoeveelheid neuronale/glia differentiatie en celdood, en heeft uiteindelijk een vermindering van het aantal resterende NPC's tot resultaat. Het is tot nu toe grotendeels onduidelijk welke moleculaire en epigenetische veranderingen optreden in NPCs tijdens epilepsie. Dit is van belang omdat de hele populatie van stamcellen beïnvloed wordt door epilepsie en omdat deze cellen een strategische ligging hebben binnen het hippocampale netwerk en dus functie.

Naast epigenetische veranderingen vormen ook microRNAs een belangrijke nieuwe groep van moleculen die de verschillende stam cel stadia en neurogenese beïnvloeden. In hoofdstuk 1 en 2 bespreken we deze mechanismen in het algemeen en onder stress condities en stellen een nieuw mechanisme voor waarbij ook samenwerking tussen microRNA moleculen onderling ("microRNA coöperatie") stam cellen kan reguleren.

Deze mogelijkheid testen we vervolgens experimenteel in hoofdstuk 3. Hier hebben we ons gericht op de vroege stimulatiefase van de nieuwgeboren neuronen in reatie tot epilepsie. We vonden dat injectie van KA een gecoördineerde microRNA reactie opwekt, die vervolgens effector-genen in de NPCs beïnvloedt die betrokken zijn bij celdood, zoals BCL2L13 en caspase-3. Uiteindelijk leidt dit tot stimulatie van NPC differentiatie en onderdrukking van celdood. Verder vonden we dat overexpressie van een van de microRNA moleculen, miR-124, stamcel differentiatie stimuleert. Door de toepassing van nieuwe microscopische apparatuur, de "gestructureerde verlichting microscoop" (SIM) konden we o.a. individuele mitochondria, en hun KA-geïnduceerde afgifte van cytochroom-C detecteren. Hiermee vonden we dat deze afgifte gereguleerd werd door de hoeveelheid van het eiwit BCL2L13. Tesamen tonen deze experimenten de betrokkenheid aan van (samenwerkende) microRNAs en epigenetisch factoren bij de regulatie van apoptose en differentiatie van NPCs.

In hoofdstuk 4 beschrijven we in detail de nieuwe SIM methode die gebruikt werd om de contactpunten tussen zenuwcellen, de spines, te kunnen bestuderen. De SIM methode levert een sterke verbetering op in resolutie t.o.v. conventionele confocale microscopie en maakt het zo mogelijk veel meer detail te zien, wat van belang is voor het nauwkeurig meten van subtiele veranderingen aan deze belangrijke elementen van de zenuwcel.

In hoofdstuk 5 bestuderen we de effecten van ritmes in stress hormoon afgifte op epigenetische veranderingen in de NPCs. Het was al bekend dat het stress hormoon corticosterone (Cort) veranderingen in DNA-methylatie van NPCs kan induceren. Onduidelijk was echter of de duur van blootstelling aan het hormoon dit bepaalt, of dat het ritmisch afgiftepatroon van het hormoon, zoals dat onder normale omstandigheden voorkomt, hierbij van belang was. We bootsten daarom verschillende Cort afgifte patronen na; constant hoog, en afgifte in pulsen van ongeveer een uur, en stelden de NPCs daaraan bloot. Vervolgens concentreerden we ons op mogelijke programmerings effecten van deze verschillende Cort patronen op gen promotor methylering en op genen die specifiek betrokken zijn bij NPC differentiatie.

We vonden duidelijk verschillende effecten van blootstelling aan deze Cort afgifte patronen op de proliferatie, "quiescence" (een soort rust toestand van de NPCs) en promotor methylering van de NPCs. Afwijkingen van de basale pulsatie blootstelling van CORT hadden blijvende hyper- of hypomethylatie van een groot aantal promotors tot gevolg. Sommige promotoren zijn betrokken bij differentiatie, en bij Wnt signalering, wat een rol speelt bij beslissingen van de cel tussen rust en differentiatie. Daarom hebben we vervolgens de expressie van het Wnt target-gen CCND1 onderzocht, en verschillen gevonden die wijzen op een veranderde Wnt signalering in de nakomelingen van NPC's (hoofdstuk 5). Dit wijst erop dat het ritme van Cort afgifte een belangrijke rol speelt bij de algemene epigenetische veranderingen van de NPCs en meer in het bijzonder bij de modulatie van Wnt-signalering, wat doorgegeven wordt aan NPC nakomelingen en ze daarmee mogelijk voorbereid op een volgende blootstelling aan stress.

In hoofdstuk 6 onderzochten we veranderingen in de GR in de NPCs tijdens veroudering. Omdat minder GR in NPCs hun differentiatie versneld (addendum I), en veel NPCs die op latere leeftijd in de hippocampus aanwezig zijn, nog GR tot expressie brengen, vroegen we ons af of leeftijd en de expressie van de GR de aantallen NPCs beïnvloed, en of de aan- of afwezigheid van GR in de hele NPC populatie de veranderingen tijdens veroudering kan voorspellen. We vergeleken de expressie van GR in verschillende stadia van NPCs in transgene Nestin-GFP muizen van verschillende leeftijden, waarin de NPCs met een groene kleur zichtbaar zijn. De sterkste afnames in NPCs vonden we tussen 3 en 6 maanden oude dieren. De NPC populaties die GR tot expressie brachten hadden doorgaans een minder snelle afname tijdens veroudering wat duidt op een mogelijke rol van de GR in het behoud van NPCs tijdens het verouderingsproces.

In hoofdstuk 7 worden de onderwerpen uit de afzonderlijke stukken bediscussieerd in relatie tot de literatuur en worden toekomstige ontwikkelingen en mogelijkheden geschetst.



*About the author
and
list of publications*

About the author

Marijn Schouten was born on the 4th of March 1986 in the small village of Metslawier in the north of the Netherlands. After spending the first years of his life there, he moved to The Hague where he would complete his secondary education in 2004 at the Dalton Den Haag.

Next he started studying molecular biology at the Hogeschool Utrecht. During this time he did an internship in 2007 at the R&D department of Amsterdam Molecular Therapeutics under the supervision of dr. Jaap Twisk where he studied the use of an adeno-associated virus as a hyperoxaluria gene therapy vector in a pre-clinical setup. He also did another internship in 2007-2008 at the Oregon Health & Science University under the supervision of prof.dr. Show-Ling Shyng where he studied the effects of K_{atp} channel knockdown and mutagenesis on the electrophysiological properties of insulin producing cells.

Both these internships contributed to his increasing interest in the application of biotechnological approaches to unsolved problems in the field of life sciences. Accordingly, he decided to further branch out and develop a broader understanding of how molecular biology might contribute to this field by enrolling in the Drug Innovation master program at Utrecht University in 2008. During 2008-2009 he did an internship at the Biopharmacy group of Utrecht University under the supervision of prof.dr. Wim Hennink and dr. Enrico Mastrobattista where he tested a novel gene vaccination system based on liposomes for the prevention of influenza in a pre-clinical setup.

He next wrote his master thesis entitled: "An inquiry into which aspects influence the progress of gene therapy market authorization in Europe?" under the supervision of dr. Marcel Kwa at the Medicines Evaluation Board in The Hague.

Yet, it was his last internship at the Netherlands Institute for Neuroscience that thusfar influenced him the most. During his time there he worked under the supervision of prof.dr. Joost Verhaagen and dr. Joanna Asia Korecka on a project entitled "Setting up

an *in vivo* model for functional validation of Parkinson's disease gene targets" where he used viral vectors to transduce dopaminergic neurons of rat and mouse substantia nigra. During this period he developed a keen interest in the field of neuroscience and decided to pursue a future in this field.

Accordingly in 2011, after graduating *cum laude* at Utrecht university, he started his PhD at the University of Amsterdam in the field of structural and functional plasticity of the brain under the supervision of prof.dr. Paul J. Lucassen and dr. Carlos P. Fitzsimons. During this time he studied the molecular/epigenetic effects of seizures, hormones and aging on hippocampal neural stem cells.

As of 2015 he continued his research as a postdoctoral fellow in the same group, now exploring the potential contribution of his previous findings to the development of Alzheimer's disease.

List of publications:

- Schouten, M., Fratantoni, S. A., Hubens, C. J., Piersma, S. R., Pham, T. V., Bielefeld, P., Voskuyl, R. A., Lucassen, P. J., Jimenez, C. R. & Fitzsimons, C. P. MicroRNA-124 and -137 cooperativity controls caspase-3 activity through BCL2L13 in hippocampal neural stem cells. *Sci Rep* 5, 12448 (2015).
- Fitzsimons, C. P., van Bodegraven, E., Schouten, M., Lardenoije, R., Kompotis, K., Kenis, G., van den Hurk, M., Boks, M. P., Biojone, C., Joca, S., Steinbusch, H. W. M., Lunnon, K., Mastroeni, D. F., Mill, J., Lucassen, P. J., Coleman, P. D., van den Hove, D. L. A. & Rutten, B. P. F. Epigenetic regulation of adult neural stem cells: implications for Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 9, 25 (2014).
- Schouten, M.*, De Luca, G. M. R.*, Alatríste González, D. K., de Jong, B. E., Timmermans, W., Xiong, H., Krugers, H., Manders, E. M. M. & Fitzsimons, C. P. Imaging dendritic spines of rat primary hippocampal neurons using structured illumination microscopy. *J Vis Exp* e51276–e51276 (2014). *Equal contribution
- Schouten, M., Aschrafi, A., Bielefeld, P., Doxakis, E. & Fitzsimons, C. P. microRNAs and the regulation of neuronal plasticity under stress conditions. *Neuroscience* 241, 188–205 (2013).
- Fitzsimons, C. P.*, van Hooijdonk, L. W. A.*, Schouten, M., Zalachoras, I., Brinks, V., Zheng, T., Schouten, T. G., Saaltink, D. J., Dijkmans, T., Steindler, D. A., Verhaagen, J., Verbeek, F. J., Lucassen, P. J., de Kloet, E. R., Meijer, O. C., Karst, H., Joels, M., Oitzl, M. S. & Vreugdenhil, E. Knockdown of the glucocorticoid receptor alters functional integration of newborn neurons in the adult hippocampus and impairs fear-motivated behavior. *Mol. Psychiatry* 18, 993–1005 (2013). *Equal contribution
- Schouten, M., Buijink, M. R., Lucassen, P. J. & Fitzsimons, C. P. New Neurons in Aging Brains: Molecular Control by Small Non-Coding RNAs. *Front Neurosci* 6, 25 (2012).
- Amidi, M., van Helden, M. J. G., Tabataei, N. R., de Goede, A. L., Schouten, M., de Bot, V., Lanzi, A., Gruters, R. A., Rimmelzwaan, G. F., Sijts, A. J. A. M. & Mastrobattista, E. Induction of humoral and cellular immune responses by antigen-expressing immunostimulatory liposomes. *J Control Release* 164, 323–330 (2012).
- Korosi, A., Naninck, E. F. G., Oomen, C. A., Schouten, M., Krugers, H., Fitzsimons, C. & Lucassen, P. J. Early-life stress mediated modulation of adult neurogenesis and behavior. *Behav. Brain Res.* 227, 400–409 (2012).
- Korecka J., Schouten M., Eggers R., Ulusoy A., Bossers K. & Verhaagen J. Comparison of AAV serotypes for gene delivery to dopaminergic neurons in the Substantia Nigra. *Intech Viral Gene Therapy* (2011).



Dankwoord



Splendid, we finally arrived at the part of the thesis on which there aren't any corrections ☺ (I hope). Interestingly, this is also the most read part of all, and probably also this thesis. Accordingly I would like to use (read misuse) this opportunity to say some (quasi-) scientific or badly translated things about the people who helped shape this thesis. I initially set out to do this in a serious way, but halfway through decided jokes are the way to go. After all, there are rather enough topics discussed in a serious manner in the thesis already, I reckon.

Beste Paul, graag wil ik jou als eerste bedanken voor de uitstekende samenwerking in de afgelopen jaren. Gek genoeg was een van de beste adviezen welke je me hebt gegeven: "begin met schrijven", om en nabij een jaar geleden toen ik zat te tobben met writer's block. Grappig, want voor de moleculair biologen is dit precies de functie van de "promoter". Welnu, ik heb je advies opgevolgd en de hoofdstukken in dit boekje

zijn daaruit voortgekomen. Maar je hebt meer bijgedragen dan alleen dit. Zo waren er nog een aantal "posttranscriptionele" veranderingen, welke veel weg hadden van bijvoorbeeld "alternative splicing" of "exon-skipping" ☺. Daarover toch nog iets meer (er moet toch echt een grap over gemaakt worden). Na de laatste maanden te hebben laten bezinken ben ik uitgekomen op wellicht een interessant model om chronisch onvoorspelbare stress te onderzoeken. De methode is beknopt omschreven in Figuur 1. Omdat de facetten van dit model vrijwel niet te vinden zijn op pubmed (welnu de zoektermen waren wel lastig) vraag ik me af of we hier iets nieuws te pakken hebben?

Los van dit alles ben ik erg dankbaar voor jouw bijdrage gedurende de laatste 5 jaar. Het was fijn dat ideeën altijd bespreekbaar waren, en dat ze met jouw input dikwijls verbeterde. Dit alles heeft namelijk enorm bijgedragen aan de vorm van dit boekje zoals deze er nu is, en daarvoor mijn dank.

Tijd	Handeling	Stress-o-meter
1 februari 2011 - 18 augustus 2015 ("pre-promotietraject periode")	Een kleine greep uit Paul's top tips: "begin met schrijven" -of- "plan your work and work your plan"	☺
19 augustus 2015 (14 weken voor promotie)	17:34 Paul over thesis v1: "Als je me de [...] versie mailt, stuur ik het door naar de commissie en decaan."	☺
	17:55 Paul over thesis v1: "ik heb slecht nieuws"	☹
23 augustus 2015 (14 weken voor promotie)	Paul over thesis v2: "Nog een laatste aanpassing voor [...] addendum I"	☺
	Paul over thesis v2: "heb je even?"	☹
4 september 2015 (12 weken voor promotie)	Paul over thesis v3: "je nieuwe versie gaat naar de commissie."	☺
	Paul: "Bijgaand en in de mails hierna volgen separaat de positieve beoordeling/toestemmingsformulieren voor het proefschrift van Marijn Schouten."	☺
8 september 2015 (12 ipv 14 weken voor promotie)	Paul: "De ondertekende titel pagina is in goede orde ontvangen?"	☹
	Secretaresse Directeur Onderwijs FNWI: "Bijgaand vinden jullie een digitale kopie van het titelblad van dhr. Schouten."	☹
28 september 2015 (9 weken voor promotie)		
5 oktober 2015 (7 ipv 8 weken voor promotie)		
12 oktober 2015 (6 ipv 8 weken voor promotie)		

Figuur 1 - "Nieuw" chronisch onvoorspelbare stress paradigma "geschikt" voor humaan onderzoek. Schematische representatie van tijdslijn, handelingen en uitkomst.

Dear Carlos, I could fill numerous pages with both brilliant and extremely vague metaphors you used to describe ideas in research. Most of these metaphors, however, were challenging for me to comprehend. Of course, everyone is now curious what I am referring to. So since I already used quite some metaphors myself above (copying behavior from my side) I think I would like to keep it to just one you mentioned quite often; “ideas evolve”. Let’s dissect this one a little bit to make my point (and of course a joke ☺) about how confusing they could be. From what I could find, the current consensus on evolution is the following “Evolution describes changes to the inherited traits [...] across generations. Evolutionary change is not directed towards a goal.”

As for the first part of this definition, I don’t think I agree. After a “careful” calculation we spend approximately 120hrs per year in our Monday meetings discussing the “traits” of our ideas. If we make a rough estimation that this was followed by daily discussions of approximately 15 minutes via email/whatsapp/facetime/phone or in the hallway, we spend yet another 60hrs per year “evolutionizing ideas”. Since we started this routine roughly 5 years ago, this results in an estimated total of 900 hours, or ± 24 weeks (1fte) of idea evolving. In other words, although a lot, it’s not really the amount of time people who study evolution are referring to.

Ok, as for the second part, I also disagree. I don’t think I was working without a goal (well at least not most of the time). Accordingly, I would like to change (can I say improve?) your metaphor into “ideas develop”, which fits our timescale better and sounds perhaps more goal-oriented.

All this aside (because this sounded awfully familiar to our discussions on each individual word of a paper ☺), I am hugely thankful for all your time (see calculation above) and efforts into the *development* of this “boekje” and me! You really inspired me to see everything through a different set of eyes. All this would not have been possible without you and your support. Millón de gracias!

I would also like to thank all member of the committee for both the time you invested and your expertise! I hope that this will contribute to the quality of work submitted in the future.

Beste Pascal, de gedoodverfde “sfpcns (is dit de juiste afkorting?) enfant terrible”, zoals ik herhaaldelijk tegen je heb gezegd: “wat een mooi feestje heb je uitgezocht!” Of het nou zondag nacht “doorhalen” in de Trouw, donderdag nacht “tot sluit” in de 80, weekenden doorbrengen op festivals en daarna “afteren” of 3 dagen niet slapen op een Duits festival was, het waren allemaal mooie feesten! Dan vergeet ik echter nog de ontelbare wijntjes op congressen in bijvoorbeeld Bordeaux en Florence. het was best “exciting” met jou als collega! Dat klinkt alsof we er helemaal niks van bakte w.b.t. ons onderzoek (en vele zullen dit vast denken, want wij zijn de enige die niet aan ELS werken), maar niets is naar mijn mening minder waar! Vele delen van deze thesis zijn van jouw hand gekomen, en wil je hier enorm voor bedanken. Ik ben daarom ook erg geïnteresseerd welke vorm jouw thesis gaat aannemen, daar jij veel van ons onderzoek bent gaan voortzetten met veelal zeer interessante experimenten. Sommige hiervan, zijn naar mijn mening zeer vruchtbaar.

Nu echter is er een wisseling van de wacht, nu jij het laatste jaar in gaat. Hiermee “seizede” een aantal aspecten van mijn leven te bestaan, heb ik gemerkt. Hier in het kort een aantal te verwachten veranderingen; uren lang de sterren van de hemel dansen zal veranderen in achter een scherm zitten waar de tekst niet van veranderd (tot je sterren ziet). Pieken middels biertjes zal pieken middels vele espressotjes (moeten) worden. Trouwens, pieken krijgt een heel andere betekenis; pieken in de club word pieken met schrijven. Een powernap tijdens de MMM zal voor 21:00 in slaap vallen op de bank worden. VrijMiBo’s worden ZoAvExps. De laatste deep house zal de laatste van Einaudi worden. Afgewezen worden in de bar, zal veranderen in afwijzingen van tijdschriften. Een 4-gangen diner koken voor vrienden zal een 4-kazen pizzaatje na werk worden. Halve dagen achter facebook zitten, zullen halve dagen Carlos zijn handschrift ontcijferen worden. Dit lijkt wellicht alsof de herfst van jouw leuke (studenten)tijd is aangebroken maar vergeet niet, ook projecten zullen hoofdstukken worden, en hoofdstukken jouw thesis. Deze thesis zal denk ik een mooi begin, maar pas het tipje van de sluier, zijn van jouw wetenschappelijke carrière. Ik wens je hier alle succes mee!

Lieve Eva, samen zijn we bij de UvA begonnen, en we eindigen onze promotie ook (bijna) tegelijk. Oftewel we komen uit hetzelfde nest blootgesteld aan deze “early-career experience”. Gedurende deze periode “ontwikkelde” ik een steeds groter ontzag voor jou. Wat je ook deed, je leek er telkens vol voor overtuiging en met veel zorgvuldigheid in te gaan. Of dit nou professionele beslissingen waren, of jouw “coping strategy” bij de grote stappen in jouw persoonlijke leven! Want laten we wel wezen, binnen ±1 jaar trouwen, thesis afronden een nieuw huis kopen, een grant krijgen en zwanger worden is niet niks. Sterker nog, ik ben nu nog steeds bezig met dit boekje (zie figuur voor hoeveel te laat ik inmiddels ben). Maar wel heel fijn dat er telkens een prima voorbeeld, van hoe de zaken aan te pakken, vlak naast me zat. Dit heeft mij bijvoorbeeld geholpen in alle rompslomp welke het laatste stadium van promoveren met zich meebrengt. Bureaucratische zaken waar ik zelf maar “fragmented care” om gaf. Ik heb het echter ook enorm naar mijn zin gehad met “verrijkende omgevingsfactoren” als e.g. feesten tot in de kleine uurtjes in Barcelona, maar ook letterlijk het dak eraf dansen in het Concertgebouw. Als laatst moeten natuurlijk ook nog de “opportunities for nutrition” genoemd worden, welke ik vaak vond op jouw bureau. Heel erg bedankt voor dit alles!

[Chinese] Ni hao Xiānshēng Xiong! Wǒ xiǎng dà duōshù rén dōu zhīdào nǐ shìgè chénmòguāiyán de rén, dàn nǐ shuō dehuà tōngcháng jí zhōng le yàohài. Wǒ “jiàoxùn” zhè cǒng yīgè tèshū de “jīyì” zài cǐ qǐjiān, wǒmen bèi “dòngjié” zhī wài, tóngshí jùyǒu xiǎo pò qùnián dōngtiān. Wǒ zhǐshì jiù sǐ zài wǒ de xiězuò hé nǐ shuō de dōu shì: “Nǐ kēyǐ zuò dào zhè yīdiǎn”, zhè shì suǒyǒu wǒ xūyào tīng dào dì nà yīkè. Wǒ zhēn de hěn xīhuān zhè zhǒng xīntài nǐ yǒu, zǒng shì jījí de, zǒng shì yǒuyì de. Jìxù nǚlǐ ba!

[English, probably necessary] Hey mister Xiong! I think most of us know you as a man of few words, yet what you say usually hits the nail on its head. I “learned” this from one particular “memory” during which we were “freezing” outside while having a small break last winter. I just got stuck on my writing and all you said is: “you can do it”, and that was all I needed to hear at that moment. I really like this mentality you have, always positive and always helpful. Keep it up!

[Greek] Agapité Sófía, échoume perásei pára pollá étsi den éinai? Katá ti gnómi mou, ítan pánta kalés stigmés kai mou árese poly na échoun éna tétoio filo kontá. Periérgos, dióti aftó fánike ísos éna apó ta pio apíthani apó óles tis filíes. Ypothéto óti ítan i filodoxía kai oi dýo óti i archí tis didaktorikís mas pou ékanan ítan na mas étsi (Lely) aferoméno stin ergasía, (kai) metá vías pernoún to chróno tous éxo apó to ergastírio... Metá tin período aftí, ótan ta prágmata eíchan archísei na kineítai pros ti sostí katéfhynsi ergasía - sofós (kai omologouménos arketá diaforetiká ektós tis ergasías) ítan ótan xekinísame apolamvántontas tin kalí zoí péra apó to ergastírio kai na moirastouín kápoies kalés anamníseis. Tóra pou koitázo píso se aftí tin período tis “ateleíotes” synomilíes gia ti zoí kai óla aftá pou érchetai me aftó, écho syneiditopoiísei póso kalós filós eísai kai tha íthela na sas efcharístiso gi ‘aftó.

[English translation, probably also necessary here] Dear Sofia, we have been through quite a lot haven't we? In my opinion, it was always good times with you and I really enjoyed to have such a good friend close by. Strangely so, because this seemed perhaps one of the unlikeliest of friendships. I suppose it was the ambition we both had it the beginning of our PhD that made us so(ly) dedicated to work, (and) we hardly spend time outside of the lab... After this period, when things were going in the right direction work-wise (and admittedly quite differently outside of work ☺) we started enjoying the good-life beyond the lab and share some good memories. Now that I look back on this period of “endless” conversations about life and all that comes with it, I realize what a good friend you are and I would like to thank you for this.

Beste andere “early-life-stress-horde” meiden Kit, Marit, Sylvie en Maralinde, ook jullie wil bedanken voor de goede tijd van de afgelopen jaren. Of dit nu een labuitje naar Italië of Duitsland was of gezellig dineren met z'n allen in het exotische Zeeburg, of lekker klessebessen ope kantoor, ik heb ervan genoten! Ik wil jullie allemaal alle succes wensen met jullie onderzoek! Zet 'm op! Jullie kunnen het! ☺

Ondanks dat jullie dit boekje waarschijnlijk niet krijgen (een surrogaat “muismat” printen is heel erg duur tegenwoordig > ik stuur wel een pdf ☺) wil ik ook graag nog Gideon, Luuk, Guido, Dmitri, Sicco, kleine Lars, Rico,

Simone, Iris, Nina en Gerrald bedanken voor de “good times” afgelopen jaren. Willemieke in het speciaal aangezien wij samen de paranimfen van Eva zullen zijn, precies een week na mijn promotie. Maar natuurlijk ook jou nog voor wat “opportunities for nutrition” ☺. Erik ook nog in het speciaal voor het feit mijn eerste stagiaire te zijn geweest! Leuk ook om te zien dat je het (nu wel ☺) goed doet bij Marten! Succes allen met jullie onderzoek!

Dan nog een hartelijke dank aan jullie Pap, Mam, Bas, Wander en Dennis. Ook al kun je je familie niet kiezen ☺, had ik me niet een beter team van mensen welke achter me stonden kunnen wensen, niet alleen de afgelopen jaren, maar al mijn hele leven. Maar snel weer een keer op avontuur, Bas? Ik stel het komende voorjaar voor!

[het onbescheiden stuk] Beste Pim, er komt een dag en dan maken wij eindelijk een perpetuum mobile. We hebben er inmiddels al zoveel moeite in gestoken, dat het eigenlijk slechts een kwestie van tijd zou moeten zijn voor het lukt. Echter, ook al zijn we beiden zeer goede moleculair biologen (best vreemd jezelf ook een compliment geven in je dankwoord), bakken we van natuurkunde niet veel. Daarom stel ik voor om ons meer te focussen op de natuur als inspiratiebron voor onuitputtelijke energie. Wellicht kunnen we bomen gaan bestuderen? Ik blijf het fascinerend vinden hoe zij middels capillaire werking water tegen de zwaartekracht in omhoog kunnen transporteren, om het daar middels een mij nog onbekend proces weer los te kunnen laten. Tot die tijd echter hebben we nog een hoop andere problemen op te lossen buiten het wereldenergie en -klimaat probleem. Gelukkig zal ik hier gedurende de komende periode meer tijd voor hebben, daar dit boekje nu bijna af is.

[het bescheiden stuk] Geniaal hoe jij mij de afgelopen jaren de kunst van het relativeren hebt bijgebracht met een gezonde bak humor. Dit was perfect om er telkens weer tegen aan te kunnen blijven gaan. Ik waardeer dit enorm en wil daarom ook jou hier bedanken.

Maar ook Leslie, Hanil, Erik en Kris wil ik graag nog bedanken voor het feest in Utrecht de afgelopen jaren! Door jullie bleef Utrecht “my home away from home”, bedankt voor die gastvrijheid!

[à la Mengvoeders United] Beste drs. Dirkse, zonder dat je het doorhad heb je een stevige reputatie opgebouwd op mijn werk. Je hoefde hier op de UvA de naam Viktor maar te laten vallen en alle collega's wisten over wie je het had. Over Viktor natuurlijk, altijd druk als een klein baasje met klessebessen over de telefoon. Hierin werd uitgebreid het wel en wee van alleen jou besproken. Wat misschien niet iedereen weet was dat Viktor en ik veelal “genoten” van veel te lange doch “schitterende” wandelingen. Altijd fijn om de waan van de dag weer in perspectief te kunnen plaatsen, door uren lang in de regen en kou te ploeteren, en door jou toedoen telkens de weg kwijt te raken. Dat ik diegene was welke hiervoor altijd naar Haarlem moest komen, schrijven we maar toe aan mijn loyaliteit. Echter, wanneer er dan een zeldzaam bezoek van drs. Dirkse was in Amsterdam, moest hij keer op keer brak zijn. Wat dat betreft, Viktor, mag je blij zijn mij als jouw beste vriend te hebben. We gaan er dan maar vanuit, dat je dit nog goed zal maken. Want vindt je zelf dat jouw filantropische uitspattingen tijdens het uitgaan hiervoor genoeg zijn? Best merkwaardig, trouwens, voor een stagiair in de reiniging sector. Chapeau, chapeau, chapeau! Wat ben je toch sympatiek! [vertaling] Beste Vik, jij bent een vriend met een hart van goud, en ik wil je hier graag voor bedanken. Ik zal alle steun welke je gaf niet vergeten!

Lieve mede levensgenieter Lianne, het is lastig voor jou een stuk te schrijven, omdat ik eigenlijk niet weet waar te beginnen met jou bedanken. Ik zal je hier dan ook maar niet voor al deze dingen gaan bedanken, dan komt dit boekje nooit af. Maar heb ik jou al verteld dat jij een van de belangrijkste redenen bent dat iedereen deze thesis nu voor zich heeft? Volhouden wanneer het tegen leek te zitten was zo veel makkelijker en leuker met jou. Het is gelukt, het zit erop. Op naar ons volgende avontuur! Ik hou van je.

Ik hoop dat het duidelijk was dat de totstandkoming van dit boekje teamwork is geweest, en hoop dat ik niemand ben vergeten te bedanken. Laten we nu proosten op ons aller toekomst! Salut!

