

# Samenvatting

## Intracellulair transport gestudeerd met dynamisch enkel-molecuul super-resolutie microscopie

Hetgeen wat cellen, de bouwblokken van het leven, karakteriseert is de unieke eigenschap dat ze in staat zijn hunzelf dynamisch op microscopisch en nanoscopisch niveau te organiseren. Aan de ene kant, is intracellulair transport de basis voor de spatiale temporele controle van de cel zijn interne organisatie.

Aan de andere kant vindt dit transport plaats in een uiterst gecompartmenteerde en heterogene intracellulaire omgeving. Deze omgeving ontstaat mede door het intracellulaire transport.

In dit werk hebben wij twee belangrijke transport mechanismen die cellen gebruiken bestudeerd, namelijk de passieve diffusie van membraan eiwitten en lipiden in het binnenmembraan van *Escherichia coli* (*E. coli*) en het actief motor gedreven transport in de chemisch gevoelige cilia van *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Voor beide mechanismen hebben we gebruik gemaakt van enkel molecuul super-resolutie visualisatie van levende cellen. Deze methode was essentieel om de dynamica van individuele biomoleculen te volgen in de diverse fysische omgeving waarin zij zich bevinden.

Ondanks dat membraaneiwit diffusie plaatsvindt in een twee dimensionele omgeving, namelijk het celmembraan, is dit probleem in de praktijk drie dimensionaal door de kleine grootte van de eiwitten en de kromming van het membraan. Hoofdstuk 2 beschrijft een nieuwe opzet die het mogelijk maakt drie dimensionele diffusie te analyseren om diffusie data te verkrijgen die onvervalst is. Deze opzet maakt het mogelijk om abnormale diffusie modes te detecteren. Hoofdstuk 3 beschrijft de resultaten waarin wij de nieuwe opzet gebruiken om de spatiale temporale organisatie van het binnenmembraan van *E. coli* bestuderen door lipiden en transmembraaneiwitten te volgen. Onze resultaten laten zien dat *E. coli*, net als eukaryotische cellen, zijn corticale cytoskelet gebruikt om de diffuse te controleren met behulp van fysisch gedefinieerde lipide nano-domeinen die lijken op de zogenoemde lipide raften die geobserveerd zijn in eukaryotische membranen.

Transport in prokaryotische cellen verschilt van eukaryotische cellen op het punt dat prokaryotische cellen moleculaire motoren hebben die actief transport mogelijk maken langs filamenten van het cytoskelet. Motor gedreven intraflagellar transport (IFT) dat plaatsvindt in de chemisch gevoelige cilia in *C. elegans* is het onderwerp van de tweede helft van dit proefschrift. Dit bidirectionele transport systeem dat het cilium opbouwt en onderhoudt wordt gedreven door de moleculaire motoren kinesin, naar het uiteinde, en dynein naar de base. In hoofdstuk 4 wordt het functioneel verschil van de twee typen kinesin uitgezet en gelinkt aan optimaal transport. In dit hoofdstuk worden cruciale inzichten beschreven, verkregen gebruik makend van dynamisch enkel molecuul super-resolutie visualisatie, die ons in staat stelt de basis principes van hoe het IFT deze obsederende motor coöperatie organiseert te begrijpen. In hoofdstuk 5 worden de tracks van de IFT componenten gebruikt om de onderliggende microtubule tracks te visualiseren. Dit maakt het mogelijk om direct de complexe ultrastructuur van de cilium in kaart te brengen. Deze structuur hebben wij weer kunnen correleren aan het dynamische IFT transport op enkel molecuul niveau. Subdomein specifieke IFT dynamica laat een sterke controle van het IFT zien door fysische interactie met de omgeving.