



APPENDIX

Nederlandse Samenvatting
English Summary
Curriculum Vitae
List of Publications
Dankwoord

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het Aansturen van Mitose Door Cdk1 en Greatwall

Celdeling ligt aan de basis van het vormen van multicellulaire organismen waaronder ook de mens. Het delingsproces is afhankelijk van een zogenaamde celcyclus. De genetische informatie die verpakt zit in ons DNA regelt veel, zo niet alle processen die nodig zijn om deze cyclus sturen. Het menselijke genoom is opgeslagen in 23 chromosoomparen, waarvan er slechts één paar geslachtsbepalend is. Het genoom herbergt ongeveer 19.000 genen, waarvan elk is bestemd om te coderen voor één specifiek eiwit. Hoewel niet alle eiwitten essentieel zijn, hebben velen een bijzondere functie die ze belangrijk maakt voor bepaalde biologische processen. Deze functies kunnen bijvoorbeeld gericht zijn op de energieproductie in de cel die noodzakelijk is om eiwitten te bouwen, maar ook van vitaal belang is voor voortzetting van de celcyclus. De eiwitsynthese vindt met name plaats in G1 fase van de celcyclus en gaat vooraf aan de duplicatie van het genomisch DNA in S fase. Het genoom is van essentieel belang voor de levensvatbaarheid van een cel. De duplicatie ervan is nodig om zo beide kopieën te verdelen over de nieuw gevormde dochtercellen zodra de celcyclus is voltooid. Tijdens G2, een fase waarin cellen blijven groeien, worden aanvullende eiwitten gesynthetiseerd waarmee het begin van de laatste fase, mitose, kan worden ingeluid. Hier wordt het gedupliceerde genoom gescheiden en verdeeld over de twee gevormde cellen. Mechanische krachten bewerkstelligen de fysieke scheiding van de dochtercellen en zorgen er dus voor dat beide kopieën van het DNA gelijkmatig worden verdeeld (zie figuur 1, **Hoofdstuk 1**).

De belangrijkste drijvende krachten achter de celcyclus zijn enzymen die bekend staat als de Cdks, die een eiwitcomplex vormen met een ander eiwit, de cycline. Samen kunnen deze cycline-Cdk complexen een breed scala aan substraten modificeren door een proces genaamd eiwit fosforylering. Deze modificaties zijn berucht om hun regulatie van eiwit functie en zijn nodig om bepaalde cellulaire processen te sturen. De voornaamste Cdk die celdeling bevordert is Cdk1. Deze kinase werkt samen met zowel cycline A als cycline B en het zijn deze cyclines die de substraat specificiteit van Cdk1 bepalen. Er is enigszins een overlap in de substraten die gefosforyleerd worden door cycline A-Cdk1 en cycline B-Cdk1. De fosforylatie status van deze Cdk1 substraten kunnen een positief dan wel een negatief regulerend effect op het desbetreffende substraat hebben. Deze zogeheten 'phosphoregulatie' van Cdk1 substraten is van cruciaal belang om mitose te ondergaan.

Mitose wordt gestuurd door talloze kinasen die gezamenlijk de orders uitvoeren die hen worden opgedragen door hun leidinggevende, Cdk1. In **Hoofdstuk 2** hebben we onderzoek gedaan naar een kinase genaamd MASTL en de bijdrage ervan aan het celdelingsproces. We laten zien dat MASTL functioneert als de humane tegenhanger van de kinase Greatwall, en dat het nodig is voor het onderdrukken van PP2A-B55 activiteit. PP2A is een fosfatase dat Cdk1 tegenwerkt door het uitwissen van de fosforylaties die Cdk1 op zijn substraten zet. Volledig actief Cdk1 is onvoldoende om het repertoire aan mitotische substraten te

fosforyleren; de remming van PP2A-B55 is daarnaast ook nodig en vormt een extra laag van regulatie. Wij laten zien dat MASTL in mitose sterk gefosforyleerd wordt, zeer waarschijnlijk door cycline B-Cdk1. We zien dat tijdelijke uitschakeling van MASTL voorkomt dat PP2A-B55 wordt geremd in de beslissende overgang tussen G2 fase en mitose. Hoewel de cellen nog steeds in staat zijn om cycline B-Cdk1 te activeren, wordt het maximale niveau van substraat fosforylering duidelijk verlaagd. Wij leveren bewijs dat deze vermindering van cycline B-Cdk1 substraatfosforylering schadelijke gevolgen kan hebben voor de dochtercellen die na mitose gevormd worden. We laten zien dat cellen mitose kunnen ondergaan ondanks de hoge activiteit van PP2A-B55, maar vervolgens blijven steken in het eindstadium, de abscissie. Dit is het gevolg van de aanwezigheid van zogenaamde anafasebruggen, die ontstaan door de onvolledige scheiding van bepaalde chromosoomparen. Deze DNA structuren handhaven een open verbinding tussen de dochtercellen (zie ook figuur 3, **Hoofdstuk 5**). Uiteindelijk worden de anafasebruggen opgelost in de erop volgende celcyclus, wat een potentiële bron van genomische instabiliteit met zich meebrengt.

Dit werk is voortgezet in **Hoofdstuk 2 (Addendum)**, waar we onderzoek hebben gedaan naar de vermeende MASTL substraten Arpp19 en Ensa en hun relatieve bijdrage aan de remming van PP2A-B55. Het aminozuur in Arpp19 en Ensa dat door de kinase Greatwall wordt gefosforyleerd in lagere organismen blijkt ook in humane cellen essentieel om deze eiwitten te veranderen in krachtige PP2A remmers. In **Hoofdstuk 3** gaan we vervolgens dieper in op de vorming van anafasebruggen tijdens het beëindigen van mitose. We laten zien dat tijdelijke uitschakeling van MASTL de afbraak van cycline B1 blokkeert, een mechanisme dat normaal zorgt voor de inactivering van Cdk1 in mitose. Deze bevindingen verbreden ons huidige begrip van cycline B1 afbraak door het APC/C, een gigantisch eiwitcomplex dat mitotische cyclines weet te vernietigen. We zien dat MASTL bijdraagt aan de fosforylatie van het APC/C door cycline B1-Cdk1. Dit resulteert erin dat cycline B1-Cdk1 zijn eigen inactivatie mechanisme regelt met als doel cycline B1 af te breken. Wij denken dat overtollig cycline B1, aanwezig in anafase, mogelijk een remmende rol heeft op de scheiding van de chromosoomparen. Meer direct bewijs hiervoor is dat cycline B kan binden aan separase, de protease die de fysieke scheiding elk chromosoompaar regelt, en dat deze binding de activiteit van separase zou remmen. Het gevolg hiervan is dat sommige chromosomen deels verbonden blijven tijdens het beëindigen van mitose, zichtbaar als DNA verbindingen tussen de dochtercellen in G1 fase. Dit benadrukt het belang van een gecoördineerde cycline B1 afbraak, die plaats moet vinden vòòr anafase.

In **Hoofdstuk 4** zijn we een zoektocht gestart naar eiwitten die mogelijk negatief worden gereguleerd door cycline B-Cdk1. Bij onze aanpak maken we gebruik van een chemische verbinding of drug dat specifiek de activiteit van Cdk1 remt. We tonen aan dat cellen, waarin we Cdk1 activiteit deels remmen, mitose ondergaan, maar dat deze remming een ernstig probleem veroorzaakt in promotafase. Cellen met suboptimale Cdk1 activiteit kunnen hun chromosomen niet volledig uitlijnen tijdens metafase en vertragen daardoor aanzienlijk in mitose. Zodra deze cellen mitose beëindigen, produceren ze vaak niet-identieke

dochtercellen door een onevenwichtige chromosoom verdeling in anafase. Het gevolg is dat een fractie van de gevormde cellen niet levensvatbaar zijn, wat in sommige gevallen resulteert in geprogrammeerde celdood. In hetzelfde hoofdstuk beschrijven we vervolgens een elegante drug-gevoeligheids screen. In deze screen identificeren we een variant van het eiwit PRC1 (PRC1-1) en zijn bindingspartner, het motor eiwit KIF4, als belangrijkste factoren die de gevoeligheid voor Cdk1 remmende strategieën bepalen met als gevolg een fatale mitose. Onze resultaten suggereren dat cycline B1-Cdk1 een essentiële rol speelt in de remming van zowel PRC1-1 en KIF4 en daarmee een succesvolle celdeling bevordert.

Tenslotte bespreken we in **Hoofdstuk 5** de gevolgen die Cdk1 remming heeft op de celcyclus. Ook gaan we dieper in op de drempelwaarden omtrent cycline B-Cdk1 activiteit die bepalend zijn of een cel overgaat tot mitose, of, als alternatief, cellen in G2 fase stopzet. Daarnaast bespreken we hoe cycline B1-Cdk1 fosforyleringen tijdens het beëindigen van mitose worden uitgewist door PP2A-B55. Ook bespreken we hoe de verschillende fosfatasen actief worden zodra cycline B1 wordt geëlimineerd. We sluiten af door te benadrukken wat het belang is van een goede cycline B1-Cdk1 activering in de uitvoering van mitose. Eventuele gebreken in de activering kan genomische instabiliteit bevorderen, een belangrijke drijvende kracht achter het ontstaan van tumoren.

ENGLISH SUMMARY

Driving Mitosis by Cdk1 and Greatwall

Cell proliferation relies on the existence of a so-called cell division cycle. The genetic information in our DNA controls many, if not all, processes that are needed to direct this cycle. The human genome is stored on 23 chromosome pairs, of which only 1 pair is sex-determining. The genome harbours roughly 19,000 genes of which each is designated to encode for a specific protein. Whereas not all proteins may be essential, many of them are given a particular function that makes them important for certain biological processes. These processes may include energy production, which is necessary to build proteins but is also of vital importance for cell cycle continuation. Protein synthesis in G1 phase of the cycle precedes the duplication of the genomic DNA in S phase. Since the genome is essential for cell viability, its duplication ensures that two of its exact copies are presented in the newly formed daughter cells, once the cell cycle is completed. During G2, another phase where cells continue to grow, additional proteins are synthesized that enables the onset of the final stage, mitosis. Here, the duplicated genome is disjoined and distributed over the two cells that are formed. Mechanical forces physically separate the daughter cells, and so ensure both copies of the DNA are equally divided (see Figure 1, **Chapter 1**).

The major driving forces behind the cell cycle are enzymes known as the Cdks, in complex with their respective cyclin counterpart. Together, these cyclin-Cdk complexes may modify a broad range of substrates by a process called protein phosphorylation. These modifications are notorious for their regulation of protein function and are needed to drive certain cellular processes. The major Cdk that promotes cell division is Cdk1. This kinase partners with either cyclin A or cyclin B, of which both are able to direct the substrate specificity of Cdk1. The substrates phosphorylated by cyclin A-Cdk1 and cyclin B-Cdk1 may overlap to a certain extent. The phosphorylation status of these Cdk1 targets may either have a positive or negative regulatory effect on the respective substrate. In any case, the ‘phosphoregulation’ of Cdk1 targets is essential to drive mitosis.

Mitosis is driven by numerous protein kinases that take orders from their royal leader, Cdk1. In **Chapter 2** we have investigated the requirement of a kinase called MASTL in the commitment to mitosis. We demonstrate that MASTL functions as the human orthologue of Greatwall kinase, and that it specifically acts by suppressing rebellious PP2A-B55. PP2A is a phosphatase that counteracts Cdk1 by erasing the phosphorylation marks that it puts onto substrates. Activation of Cdk1 alone is insufficient to allow for its complete substrate phosphorylation; the inhibition of PP2A-B55 signifies an additional layer of regulation. Our data reveals that MASTL itself is highly phosphorylated in mitosis, most likely by cyclin B-Cdk1. We show that transient depletion of *MASTL* prevents the inhibition of PP2A-B55 at the decisive G2-to-mitosis transition point. While cells are still able to activate cyclin B-Cdk1, its peak level of substrate phosphorylation is clearly reduced. We provide evidence that this reduction in cyclin B-Cdk1 substrate phosphorylation may have deleterious

consequences for daughter cell formation. We show that cells are able to complete mitosis with high PP2A-B55 activity, but remain stuck at the final stage of abscission. The presence of so-called DNA bridges between anaphase chromosomes maintains connectivity between the daughter cells (see also Figure 3, **Chapter 5**). These DNA bridges are resolved in the successive cell cycle, but depending on their severity, may be a potential source of genome instability.

This work was further extended in **Chapter 2 (Addendum)**, where we investigated the relative contribution of the putative MASTL substrates Arpp19 and Ensa in the ability to suppress PP2A activity. We show that the evolutionary conserved Greatwall phosphorylation site in both proteins is essential to convert them into potent PP2A inhibitors. In addition, we elaborate on the specifics of DNA bridge establishment (**Chapter 3**). Our data demonstrates that depletion of *MASTL* blocks the destruction of cyclin B1, a mechanism that normally ensures the inactivation of mitotic Cdk1. These findings expand our current understanding of cyclin B1 proteolysis by the APC/C, a machine that is designed to destroy mitotic cyclins. We show that MASTL enhances the cyclin B1-Cdk1-dependent phosphorylation of the APC/C. Consequently, cyclin B1-Cdk1 directs its own inactivation mechanism by targeting cyclin B1 for degradation. We suggest that excess cyclin B1, present in anaphase, may still have an inhibitory role towards separase, the protease that directs the physical separation of each chromosome pair. As a result, some sister chromatids may remain connected during mitotic exit, forming the DNA bridges that are visible in G1 phase. This stresses the importance of the timely cyclin B1 destruction that occurs before anaphase.

In **Chapter 4** we set out to identify the target proteins that are negatively regulated by cyclin B-Cdk1. Our approach makes use of a small-molecule that specifically inhibits Cdk1 activity. We demonstrate that partial inhibition of Cdk1 activity allows cells to enter mitosis, but causes a severe problem in prometaphase. Mitotic cells with suboptimal Cdk1 activity fail to align their chromosomes and delay significantly in mitosis. Once these cells exit from mitosis, they often produce non-identical daughter cells due to imbalanced chromosome segregation in anaphase. As a result, many of the generated cells are incompatible with life and enter a death state known as apoptosis. We describe an elegant genome-wide drug sensitivity screen and reveal splice variant of PRC1 (PRC1-1) and its binding partner, the motor protein KIF4, as key inducers of fatal mitosis in response to Cdk1 inhibitory strategies. Our data suggest that cyclin B1-Cdk1 has an essential function in preventing the onset of late mitotic events which requires the inhibition of both PRC1-1 and KIF4.

Finally, in **Chapter 5** we discuss the consequences of Cdk1 suppression by multiple approaches and how this affects cell cycle progression. We elaborate on the cyclin B-Cdk1 activity thresholds that dictate whether a cell commits to mitosis, or, alternatively, keeps cells in G2 phase. In addition, we comment on the reversal of cyclin B1-Cdk1 phosphorylations during mitotic exit and how mitotic phosphatases promote their own activation once cyclin B1 is eliminated. We conclude by highlighting the importance of proper cyclin B1-Cdk1 activation

in the execution of mitosis. Any defects in its activation may promote genomic instability, a major driving force for tumorigenesis.

CURRICULUM VITAE

Erik Voets werd geboren op 25 februari 1985 te Rotterdam. In juni 2003 behaalde hij zijn VWO diploma op aan het Krimpenerwaard College in Krimpen aan den IJssel. In september datzelfde jaar is hij begonnen met de opleiding Biologie aan de Universiteit Utrecht. In juli 2006 behaalde hij vervolgens zijn bachelor diploma waarna hij in september 2006 begon aan de masteropleiding Cancer Genomics and Developmental Biology. Tijdens deze opleiding heeft Erik een onderzoeksstage gedaan in het laboratorium van prof. dr. ir. Boudewijn Burgering op de afdeling Fysiologische Chemie van het UMC Utrecht. Hier heeft Erik onderzoek gedaan naar de wisselwerking tussen de transcriptiefactor FoxO4 en de Wnt pathway. Na het afronden van dit project is hij vervolgens een onderzoeksstage gaan doen in het laboratorium van Dr. Wim Vermeulen op de afdeling Genetica van het Erasmus MC te Rotterdam. Hier heeft hij onderzoek gedaan naar de rol van het XPC eiwit in de herkenning van UV-geïnduceerde DNA schade. Daarna heeft hij nog een korte onderzoeksstage gedaan in het laboratorium van prof. dr. ir. Ben Scheres op de afdeling Moleculaire Genetica aan de Universiteit Utrecht. In 2008 behaalde hij zijn masterdiploma in Biomedical Sciences aan de Universiteit Utrecht.



In september 2008 is Erik gestart als Onderzoeker in Opleiding in het laboratorium van Dr. Rob Wolthuis op de afdeling Moleculaire Biologie in het Nederlands Kanker Instituut. De resultaten van dat onderzoek zijn beschreven in dit proefschrift.

LIST OF PUBLICATIONS

Voets E, Marsman J, Demmers J, Beijersbergen R, Wolthuis RMF.

Isoform 1 of PRC1 and its Binding Partner KIF4 are Synthetically Lethal With Cdk1 Inhibition. *Manuscript submitted*

Voets E and Wolthuis RMF.

MASTL Promotes Cyclin B1 Destruction by Enforcing Cdc20-Independent Binding of Cyclin B1 to the APC/C.

(2015) *Biology Open*, in press

Clijsters L, van Zon W, ter Riet B, **Voets E**, Boekhout M, Ogink J, Rumpf-Kienzl C, Wolthuis RMF.

Inefficient Degradation of Cyclin B1 Re-Activates the Spindle Checkpoint Right After Sister Chromatid Disjunction.

(2014) *Cell Cycle*, 13 (15), 2370-2378.

Voets E and Wolthuis RMF.

Stable Government of Mitosis by Greatwall: the Emperor's Best Servant.

(2012) *Molecular and Cellular Biology*, 32 (8), 1334-1336.

Voets E and Wolthuis RMF.

MASTL is the Human Orthologue of Greatwall Kinase That Facilitates Mitotic Entry, Anaphase and Cytokinesis.

(2010) *Cell Cycle*, 9 (17), 3591-3601.

Hoogeboom D, Essers MA, Polderman PE, **Voets E**, Smits LM, Burgering BM.

Interaction of FOXO With Beta-Catenin Inhibits Beta-Catenin/T Cell Factor Activity.

(2008) *Journal of Biological Chemistry*, 283 (14), 9224-9230.

DANKWOORD

Het was ergens in de middag van donderdag 26 juni 2008 toen ik hoorde dat ik een baan aangeboden kreeg in de onderzoeksgroep van dr. Rob Wolthuis op het NKI. Wat was ik blij met de baan! Ik stond te springen om naar Amsterdam te verhuizen en daar lekker aan de slag te gaan in het lab. Vanaf dat moment tot vandaag de dag heb ik erg genoten van mijn tijd op het NKI en ik wil graag een aantal mensen bedanken die aan deze fantastische periode hebben bijgedragen.

Allereerst wil ik graag mijn dank betuigen aan **Rob**, mijn baas en copromotor. Ik ben je erg dankbaar voor de kans die je me gegeven hebt in je lab. Naast het feit dat je me veel geleerd hebt, gaf je me ook voldoende vrijheid om de dingen te doen die ik interessant vond. Ik kon altijd je kantoor binnenlopen om iets met je te bespreken of om je het zoveelste blotje te laten zien en die vervolgens tot in elk detail te analyseren. Ik heb erg genoten van onze wetenschappelijke discussies en ik hoop dat jij op hetzelfde niveau doorgaat nu je je plek op de VU gevonden hebt. Ik wens je alle succes toe in je wetenschappelijke carrière.

Hein, bedankt dat je mijn promotor wilde zijn. Ik waardeer de moeite die je hebt genomen om me te helpen met het regelen van alles voor mijn promotie. Uiteraard ook dank aan de rest van de leden van OIO-begeleidingscommissie: **Arnoud, Huib** en **Roderick**. Bedankt voor het vertrouwen dat jullie me gegeven hebben. Ook richt ik mij graag tot de leescommissie: **Daniel Peeper, René Medema, Tom Würdinger** en **Sander van den Heuvel**. Dank voor de aandacht die jullie geschonken hebben aan het lezen van mijn proefschrift.

Dan mijn paranimfen, om te beginnen met **Michiel B/Boekie**. Ik vind het echt tof dat je mijn paranimf wilt zijn en wat was het leuk om met jou in het lab te mogen staan. Jij bracht een hoop gezelligheid met je mee. Altijd mooie verhalen met jou. Ik heb je ook een enorme groei zien maken op wetenschappelijk gebied. Als er weer een coole techniek op de markt is dan ben jij vaak de eerste die ervan op de hoogte is. Ik heb respect voor je en hoop dat jij en Evelien straks een prachtige tijd tegemoet gaan in NYC. Heel veel succes!

I also like to thank the other half of the paranimfen, **Anirudh**. It was a pleasure working on the same floor with you, maga. We also had lots of fun outside the lab, often in combination with a couple of beers. I will never forget the line you tend to use most frequently: "There are a lot of hot chicks here, dude!" Unfortunately we also lost a good friend of ours. RIP Sumanth.

Ook dank aan mijn oud-collega's van het Wolthuis lab. **Linda**, ik vond het heel gaaf om jou als collega te hebben en heb ook genoten van mijn rol als paranimf. Jij was er van het begin af aan bij en je hebt al mijn gekluns in het lab mee mogen maken. Jij bent echt in mijn aanzien gestegen als wetenschapper en ik weet zeker dat je straks een super cool project hebt dat

hoog de deur uit gaat. Geniet van die heerlijke tijd in NYC. Jij komt er wel. Ik bedank ook graag **Janneke** voor alle regedingetjes in het lab. Zonder jou hadden we die 2 verhuizingen binnen het NKI niet overleefd. Ik wens je alle geluk met je gezinnetje en veel succes met het vinden van een mooie baan. **Connie**, the crazy Austrian post-doc, thanks for our fun chats and beer moments. What was it again with you and full moon? If science fails, I would recommend you to open a cookie shop as your cookies are the best. **Bas**, het was lachen met jou in het lab. Je merkwaardige muziekeus had zo zijn charme en het was toch ook wel eens lekker om af en toe een beuk uurtje te hebben in het lab. Ik denk nog wel eens aan je als ik die uitgeschlorde bad-to-the-bone mok tegenkom. Je wordt gemist. **Wouter**, jij was de laboudste toen ik het lab binnen wandelde. Ik heb echt genoten van jouw aanwezigheid en je manier van aanpak. Je leek altijd die slome gozer, maar ondertussen heb je het toch allemaal mooi voor elkaar. Ik vergeet nooit dat avondje dat we in Amstelveen gingen stappen en daarna bij jou die stoffige friteuse gebruikten om een anti-kater snack te bakken. Wat een ranzige lucht kwam er van dat ding af en ik heb er daarna nog een hele nacht in liggen maffen. Mooie herinneringen. Ik hoop jij en Maria nog lang van elkaar kunnen genieten.

Dank ook aan de studenten die ik heb mogen begeleiden. Ik heb enorm veel geleerd van jullie. **Hamza**/aardappelman, ik hoop dat het je goed gaat en ben benieuwd wat je momenteel doet. **Judith**, onze samenwerking heeft zijn vruchten afgeworpen. Nu nog dat verhaal ergens zien te publiceren. Volgens mij heb jij het goed naar je zin daar in Nieuw-Zeeland. **Cinzia**, the small Italian girl. It was fun having you in the lab. You were always a good laugh. I cannot imagine you quitted smoking! Enjoy the family life. **Lilian**, mijn laatste student. Ik ben trots op je dat je als OIO aan de slag bent gegaan bij het Sanquin. Ik wens je alle succes toe in je carrière.

Ik wil graag de Te Riele groep bedanken voor de gezellige sfeer toen we nog op P2 zaten. **Tanja**, **Sietske** en **Marieke** ik weet zeker dat jullie het gaan maken in de wetenschap. **Sandra**, altijd leuk om met jou te babbelen. Naast de Te Riele's waren toch zeker ook de labmembers van Jonkers en De Visser goed voor de nodige gezellige momenten. **Mark**, mijn maatje uit Utrecht kwam ik daar plots weer tegen op het NKI. Wat hebben we het gezellig gemaakt op Louweshoek samen met die gekke **Jens**. En de vele uurtjes in de celkweek, vaak met die grappenmaker **Gilles**. Gezellige tijden. Herinner je nog dat schaalpje cellen in de stoof waar ik plots een gat in gebrand had? Dat was echt vaag man. Mijn leukste herinnering blijft toch nog die ene avond na Bastiaans promotiefeestje. We weten onderhand allemaal wat er zich die avond heeft afgespeeld ;). **Henri**, het was gezellig met jou op P2. Je was altijd aanwezig en als ik even in het weekend langskwam had ik in ieder geval een gesprekspartner om even een bakkie mee te doen.

De verhuizing naar B7 zorgde bracht ons een hoop nieuwe collega's. Ik wil alle mensen van de Bernards en Beijersbergen groep bedanken voor de goede sfeer op de afdeling.

Een grote bijdrage hieraan werd zeker geleverd door **Johan**. Met jou kun je goed lullen, liefst wel met een biertje erbij. Genoeg leuke momenten met jou beleeft, vooral ook op Texel. Wat was het een goed idee om een afterparty te doen op onze hotelkamer. NOT! De ochtend erna brak, met een gierende kater in een kamer met wagenwijd openstaande deur en raam. Heeft wel weer een mooi verhaal opgeleverd. **Armida** en **Jasper**, ik heb genoten van jullie aanwezigheid. Jasper, roep je nog steeds naar iedereen “lekkertje”? **Guus**, ook wij hebben genoeg goeie biermomenten gehad. Leuke hè, even The Expendables kijken met de waterpijp erbij? Ik heb weinig van die film meegekregen en ik was zeker niet de enige. **Floris**, ouwehoeren met jou is altijd gezellig. Ik kijk uit naar je promotie. **Chong**, I respect your hard-working attitude. Good luck finding a job. **Klaas**, success met het afronden van je PhD. **Kathy**, too bad our collaboration on the breast cancer panel did not work out. **Diede**, was gezellig die BBQ bij jou. Jammer dat we Tatjana niet gezien hebben. **Prashanth**, I hope you will get the position in India. Fingers crossed. **Bastiaan**, het was een mooi feessie met nieuwjaar. Die zware biertjes hakten er wel in. **Katrien**, bedankt voor de goede begeleiding die je Sanne hebt gegeven. **Marielle**, jij bent toch wel echt een feestganger. **Ben**, good to see you back. **Pasi**, good luck in your new career.

Helaas moesten we B7 verlaten, maar in ruil daarvoor kwamen we op B5 terecht. Gelukkig kregen we wel een hoop gezelligheid terug met de komst van de Medema's. Ik dank alle Medemaatjes voor de wetenschappelijke input tijdens onze maandagmorgen-meetings. **Jonne**, jij hebt altijd goede ideeën en suggesties voor de juiste proeven. Wat gaaf dat je Mar mag begeleiden. **Mar**, good luck with the start of your project. You are in good hands. **Roy**, de juiste man om over voetbal te lullen en altijd gezellig die afterborrels op B5 met jou. **Wytse**, jij bent echt grappig. Ik hoop dat je die stugge Amerikanen net zo kan vermaken als ons. **Indra**, mijn fellow-Indonesiër, ook met jou kun je lachen. Ik ben benieuwd wat je volgende avontuur wordt. **Melinda**, the other Indonsian, I respect you for your hard work every day. Nice to see you officially are a Dutch citizen now. **Mihoko**, I really hope you will soon put the beer aside and start to pick up running again. You know you can do it! **Lenno** en **Femke**, die samenwerking van jullie gaat zeker nog wat moois opleveren. Cyclone B blijft toch wel het tofste eiwit om aan te werken. **Anja**, wat ben ik blij voor je dat je die KWF beurs hebt binnengehaald. Echt supervet! **Rita**, you are smart, sweet, fun and always in for a beer. That sounds like the perfect combination. **Alba**, the Catalan girl, I admire your party mood. Enjoy dreaming about opening up a bar in Barcelona. Dank ook aan **Jeroen**/mountain man, **Daniël**/Omar en **André**/dr. Koch voor de gezellige momenten in onze B5 'man cave'. Een gevulde koektrommel was toch wel de basis voor onze leuke onzin gesprekken. Maar ook de wetenschap passeerde regelmatig de revue.

En dan is er de Rowland groep. **Benjamin**, ik waardeer jouw enthousiasme en de manier waarop jij over de wetenschap kunt praten. Ik hoop dat de switch naar Condensin je iets moois gaat opleveren. **Judith**, jij bent zeker een van de gangmakers in het lab. De vrolijkheid

en positiviteit die je uitstraalt zorgen ervoor dat iedereen zin heeft om te werken. **Ahmed**, next time you win the darts contest. Good luck raising your kid bilingual.

Uiteraard mag **Rob K** niet ontbreken aan het lijstje. Wat ben jij lekker efficiënt met alle regelingen. Ik hoop dat je gelooft in toeval en dat ik niet degene ben die elke keer weer die Deltavision sloopt. **Marianne** en **Mariet**, jullie ook enorm bedankt voor alles. Jullie hebben ervoor gezorgd dat we afgelopen jaar dan eindelijk een fatsoenlijk kerstdiner hebben gehad.

Dankzij de vele uren die ik heb gespendeerd in het kweeklab, heb ik ook de mensen van de Sonnenberg, Jalink en Moolenaar labs goed leren kennen. Ten eerste **Pablo**, my celculture buddy. You *bastardo loco* (in the good sense of the word). We first met in Louweshoek en were reunited again at B5. *Mierda* really is your favourite subject and we can talk for hours about this one thing. Ik mis onze grote vriend **Coert**. Het ga je goed als PI op het Sanquin. **Marcel**, nog even en zijn we concurrenten van elkaar, want ook jij mag straks op banenjacht. **Kasia**, good luck with your paper! **Veronica** en **Lisa**, thanks for sharing the cell culture moments with me. **Michiel v V**, **Elisa**, **Elisabetta**, **Daniela**, **Leila** en **Jeffrey**, also thanks for not kicking me out of your culture lab. We have had enough enjoyable moments together. **Maaïke**, met jou is er altijd gelach. **Bram vd B**, ga zo door met die macros. Je bent hier al praktisch onmisbaar.

Natuurlijk zijn er ook nog de borrelaars en mensen die ik op de Texel-retraites heb leren kennen. **Andrej**, you crazy f%^\$. We had so much fun, especially with that boxing bag at B7. I will never forget your reaction when Wouter and I send you a garlic pizza slice via interne post. LOL. **Niek**, met jou bestaan er volgens mij geen silent moments. Altijd genoeg te bespreken vooral met een biertje erbij. **Marc**, met jou kun je goed ouwehoeren. Jij en Niek waren toch wel een mooie combi. Ik heb ook erg genoten van onze retreat in Glasgow samen met **Rogier**. **Bert**, ook met jou heb ik goeie gesprekken gehad op de borrels. **Tada**, wanneer gaan we weer eens een keer een pot basketballen? **Lucas** en **Vincent**, keep up the good work!

Bram Z we hebben een aantal gezellige jaren gehad op de Bastenakenstraat. Jij hebt het geluk van Mark en mij over de wetenschap overleefd. Relaxed dat je nu je eigen stekkie hebt. **Tao**, ex-housemate, If there is a borrel then you are almost certainly there. I guess I really got to know you once you moved out of the house. **Xiangjun**, when it comes to cooking we can definitely learn from each other. I enjoy seeing you all active in the kitchen.

Selçuk, maatje van me, met jou kun je altijd lekker over van alles ouwehoeren. Wij hebben samen een hoop mooie momenten beleefd. Ik wens jou en Sibel alle geluk toe met straks een kersvers gezinnetje. **Olaf**, mijn twinny, ik was dan eerder geboren (ja, 4 minuten inderdaad), maar jij mag je de eerste Doctor in de familie noemen. Met jou kun je altijd goed sparren als het om de wetenschap gaat. Echt vet dat je nu met de CRISPR technologie aan de haal bent

gegaan. Ik ben trots op jou als vader en ben blij dat we **Abra** en **David** tot de familie hebben mogen verwelkomen.

Natuurlijk wil ik ook de rest van mijn familie bedanken voor de steun die ze me gaven toen ik verhuisde naar Amsterdam om daar een PhD te gaan doen. Het moment was dan eindelijk aangebroken dat Olaf en ik ons eigen weg insloegen. **Pa** en **ma**, bedankt voor jullie begrip en vertrouwen in de keuzes die ik heb gemaakt. Ik heb er tot dusver nog steeds geen spijt van gehad. **Linda** en **Roland** helaas zie ik jullie nu niet zo vaak meer, maar ik hoop dat daar verandering in gaat komen. **Oma**, ik hoop dat u na de verdediging snapt wat ik nou al die jaren in het lab heb uitgevreten.

Lieve **Sanne**, wij kennen elkaar nu bijna 4 jaar en wat hebben we al een heleboel mooie herinneringen. Onze reis naar Indonesië was zeker een hoogtepunt te noemen en ik hoop dat er nog vele tripjes zullen volgen. Ik ben blij dat ik deze mooie momenten met jou mag delen.

Erik V