

Chemische Feitelijkheden

#329

Editie 81
december 2016

Arno van 't Hoog



Epigenetica

Schrijven en wissen op DNA

Epigenetica is even complex als veelbelovend. Chemische veranderingen aan DNA en aan de eiwitten waar DNA omheen gewikkeld is, leiden tot lokaal aan- en uitschakelen van genen. De samenhang van dergelijke signalen zorgt voor een zeer precieze afstemming van genexpressie. Die veranderingen liggen niet besloten in de genetische code, maar vormen een extra laag op die code.

Voor de geneeskunde opent het nieuwe perspectieven voor

behandeling en verklaart het voorheen onbegrepen verschijnselen. De nieuwste inzichten koppelen bijvoorbeeld eetproblemen en andere stoornissen aan door voedselgebrek veroorzaakte epigenetische veranderingen tijdens de zwangerschap van de moeder. En de farmaceutische industrie zit verschillende ziektes, met name kanker, op de hielen met medicijnen die epigenetische veranderingen in kankercellen teniet moeten doen.

Schrijven en wissen

Boven op de DNA-code zit een subtiele laag informatie, die ervoor zorgt dat ons beperkte genenpakket zo'n grote diversiteit aan cellen en weefsels kan maken. Kennis van dit regelmechanisme levert nieuwe inzichten in het ontstaan van ziektes plus nieuwe behandelingen met epigenetische editing.

Toen in 2003 de eerste gedetailleerde weergave van het menselijk genoom werd gepubliceerd, was de verwachting dat we met kennis van deze 3 miljard letters (A, C, G en T) tellende genenkaart snel meer te weten zouden komen over gezondheid en ziekte. Immers, wetenschappers konden nu gericht gaan zoeken naar genetische oorzaken van bijvoorbeeld overgewicht, hart- en vaatziekten en suikerziekte.

In het decennium erna is de oogst minder groot gebleken dan aanvankelijk verwacht. Vergelijking van het erfelijk materiaal van duizenden mensen kan het ontstaan van verschillende ziektes nog altijd niet goed verklaren. Het blijkt doorgaans niet zo te zijn dat een persoon of familie met aanleg voor overgewicht of suikerziekte een duidelijk ander genenpakket heeft of enkele kenmerkende mutaties.

En toch speelt erfelijkheid een rol: als wetenschappers naar grote groepen mensen kijken, blijkt dat het risico op overgewicht of suikerziekte wél voor een belangrijk deel door erfelijke factoren wordt bepaald. De grote vraag is wat die factoren zijn. Want als ze zich niet in de vierletterige code van het DNA bevinden, waar zit de informatie dan?

Vraag naar de oorsprong

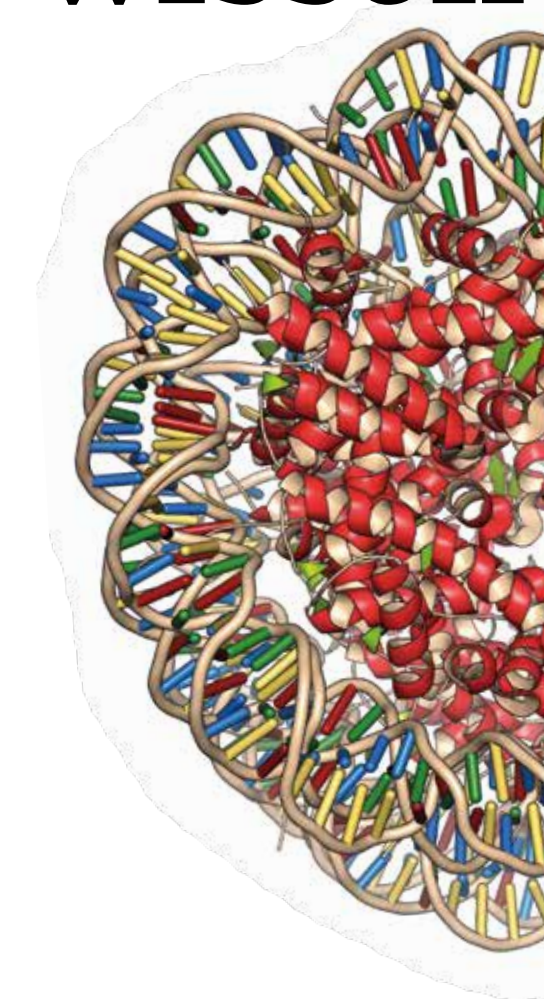
De laatste jaren richt het onderzoek zich op epigenetische veranderingen. Epigenetica klinkt als iets uitzonderlijks, maar draait om de regulering van genen in al onze cellen. Epigenetica is de verklaring voor de ver-

schillende typen cellen – botcel, hersencel, eikel, et cetera – uit hetzelfde pakket genen. Het interessante van epigenetica is dat het zowel flexibel als stabiel kan zijn. Er kan uit het genoom een grote reeks van variaties worden geput, maar keuzes komen geleidelijk ook vast te liggen: botcellen maken botcellen, huidcellen maken huidcellen. Er erft dus iets over, maar dat is niet af te lezen in het DNA-alfabet. Vandaar het voorvoegsel 'epi' voor genetica, dat 'buiten' of 'rondom' betekent.

De kennis van epigenetische mechanismen groeit de laatste jaren explosief, maar het onderzoek zelf is al eeuwen oud. De oorsprong van de term epigenetica ligt dan ook in een ver verleden. De vraag hoe een mens tijdens de zwangerschap ontstaat fascineert filosofen en natuurwetenschappers al veel langer. In de 17de eeuw zochten velen onder invloed van religieuze denkbeelden de verklaring in preformatie: de gedachte dat in geslachtscellen of een bevruchte eikel een minimens zit, dat alleen nog groter hoeft te groeien. Er zijn uit die tijd wetenschappelijke verhandelingen met prenten, waarin die situatie levendig wordt verbeeld.

Epigenese en kloneren

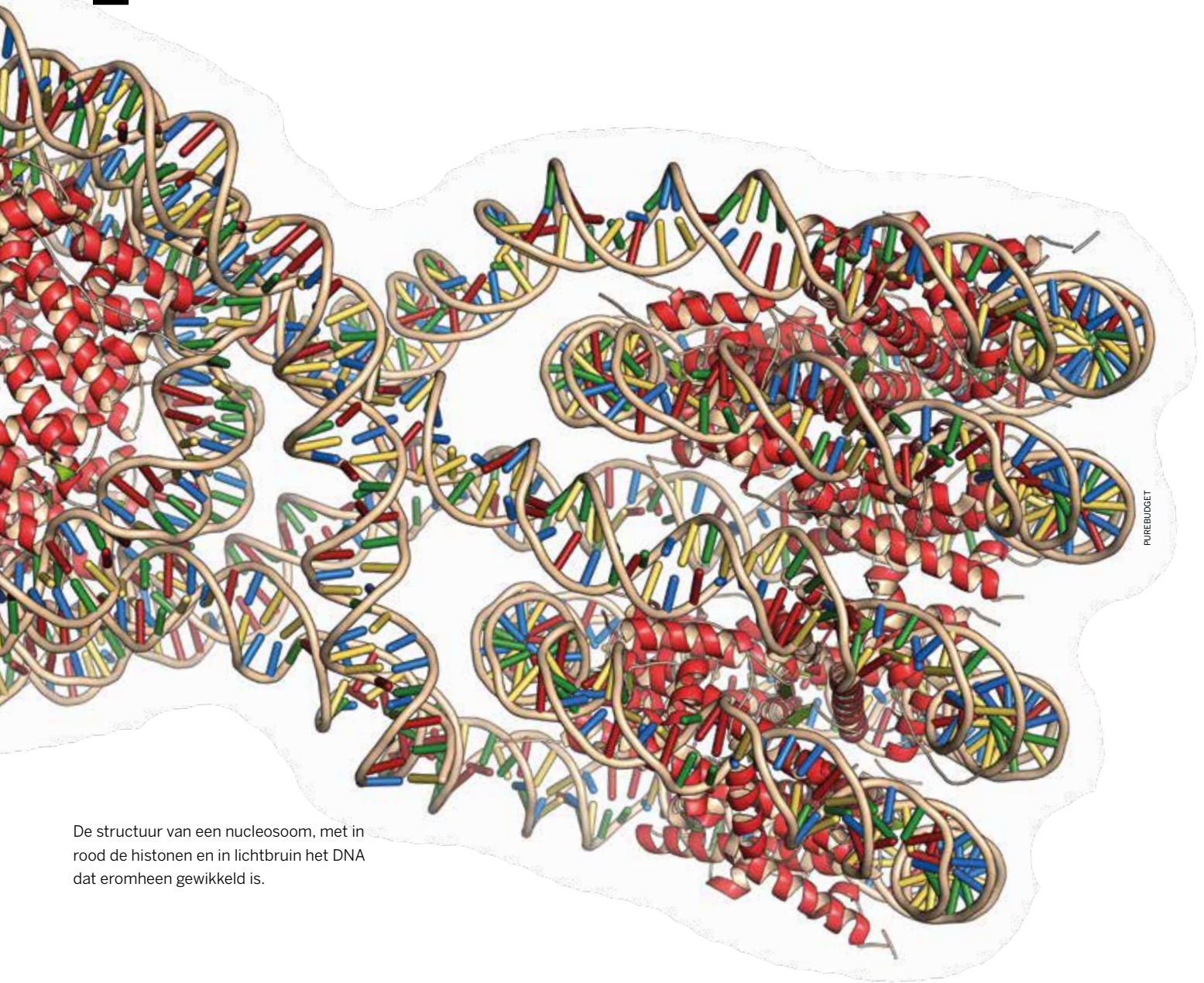
Haaks op preformatie stond een compleet ander idee – de epigenese – dat zijn oorsprong vindt bij de Griekse filosoof Aristoteles, die ervan uitging dat een organisme geleidelijk ontstaat uit een vormloze massa. Epigenese als verklaring voor groei en ontwikkeling kreeg uiteindelijk in de 19de eeuw de overhand, maar daarmee was de vraag naar het mechanisme nog



lang niet opgehelderd. Vlak na de Tweede Wereldoorlog zochten sommige wetenschappers de verklaring in elkaar stabiliserende biochemische reacties. Cellen zijn in die visie een soort reactievaatjes die tijdens de celdeling een stabiel biochemisch programma of toestand doorgeven.

Wat de bijdrage van de celkern en cytoplasma was in de sturing van zulke programma's, bleef onderwerp van discussie. Zo was het nog niet uit te sluiten dat er tijdens celdifferentiatie veranderingen in erfelijke factoren optraden: misschien werd de genetische code wel geleidelijk herschreven om verschillende cellen te kunnen maken. Vroege kloonexperimenten wezen erop dat dat waarschijnlijk niet het geval was. Onderzoekers transplanteerden in 1952 de celkern uit een kikkerembryo in een lege eikel, en er groeide gewoon een complete

op DNA



PUREBUDGET

De structuur van een nucleosoom, met in rood de histonen en in lichtbruin het DNA dat eromheen gewikkeld is.

kikker uit. In de jaren zeventig werden zulke experimenten ook met muizen gedaan. Met de geboorte van Dolly, een kloon uit een celkern uit de uier van een volwassen schaap, leerde ook het publiek dat een volwassen lichaamscel alle genetische informatie bevat voor een compleet organisme.

Inactief X-chromosoom

Kloneerexperimenten lieten tevens zien dat het DNA zelf niet verandert, terwijl het

uiterlijk van cellen heel divers kan zijn. Onderzoek aan het X-chromosoom bij muizen leverde de eerste concrete aanwijzingen voor een verklaring. Het X-chromosoom is namelijk een mooi epigenetisch studie-onderwerp. Elke vrouwelijke lichaamscel heeft twee X-chromosomen, waarvan er een het zwijgen wordt opgelegd (zie kader 'Lapjes laten zich niet klonen' op pagina 4). In 1975 verschenen de eerste publicaties die wezen op de rol van DNA-

methylering. Op inactieve X-chromosomen zagen onderzoekers veel meer methylgroepen (CH_3). Onderzoekers gaven toen ook een verklaring voor de overerving van methylering tijdens de celdeling. De machinerie die in de cel het DNA kopieert, gebruikt namelijk DNA-letters zonder methylgroepen, dus dat zou betekenen dat epigenetische informatie verloren zou gaan. De onderzoekers voorspelden het bestaan van enzy-

► Lapjes laten zich niet klonen

Op 21 december 2001 werd in Texas 's werelds eerste gekloneerde kat geboren: Carbon Copy.

Onderzoekers hadden een celkern uit het buikweefsel van lapjeskat Rainbow gehaald, en overgezet in een lege eicel. Na ruim tachtig pogingen lukte het om op die manier een draagkat succesvol zwanger te maken. Bij de geboorte bleek Carbon Copy inderdaad genetisch volledig identiek aan Rainbow. En toch bleek de tekening van beide lapjeskatten opvallend verschillend. Rainbow heeft een rood-grijs-witte vacht, Carbon Copy heeft een grijze rug met witte buik, en een klein beetje rood op haar snuit.

Identiek DNA hoeft dus geen recept te zijn voor een identiek uiterlijk. De verklaring zit in de manier waarop bij katten de vachtkleur wordt aangestuurd, namelijk door genen die liggen op het X-chromosoom. Een lapjeskat heeft twee X-chromosomen waarop verschillende kleurgenen liggen. In elke lichaamscel is altijd een X-chromosoom met een kleur-gen actief, terwijl de andere is uitgeschakeld.

Welk X-chromosoom actief is, wordt tijdens de ontwikkeling van het embryo willekeurig bepaald. Na de embryonale fase is die toestand stabiel en erfelijk: huidcellen waarin een zwart gen actief is, leveren tijdens celdeling dochtercellen met diezelfde eigenschap. Zo kunnen een paar cellen in het embryo uitgroeien tot een vacht met vlekken. De lapjeskat is een eenvoudig voorbeeld van epigenetica: verschillende vachtpatronen ontstaan door stabiele veranderingen in genexpressie, terwijl de DNA in elke cel hetzelfde is.



Een vetrijk dieet verandert de methylering van sommige genen in de spieren; dit is niet onomkeerbaar.

men die de methyleringstoestand kopiëren van de oude naar de nieuw opgebouwde DNA-keten. Jaren later bleken die enzymen inderdaad te bestaan.

Histonen en nucleosomen

Toch betekende begrip van DNA-methylering niet de oplossing van de complete epigenetische puzzel. Van DNA-verpakkingseiwitten, zogenoemde histonen, vermoedde de wetenschap sinds de jaren vijftig dat ze ook van invloed zijn op de activiteit van genen. In 1964 speculeerden onderzoekers al over chemische modificatie van histonen met acetylgroepen als een mechanisme dat genexpressie regelt.

Histonen vormen het structurele opslagmateriaal van het erfelijk materiaal in de celkern. Wie door een microscoop een chromosoom ziet, kijkt niet naar kaal DNA, maar naar een geordend complex van DNA en eiwitten. In de kern vormt DNA namelijk een basisstructuur van nu-

cleosomen: een groepje van acht histonen met een stukje DNA van 147 letters eromheen gewikkeld. Die opslag van DNA in nucleosomen kan luchtig of juist heel compact van vorm zijn en die toestand is weer van invloed op de expressie van genen. Sinds de jaren negentig is duidelijk dat histonen op tientallen manieren chemisch gemodificeerd worden, doordat enzymen bijvoorbeeld acetyl- en methylgroepen aanbrengen. Zulke subtiele chemische veranderingen beïnvloeden op hun beurt het contact met het DNA, of de mate waarin nucleosomen onderling samenklitten en in welke mate de afleesmachinerie van de cel toegang krijgt tot het DNA.

Schrijvers en wissers

In de celkern zijn er verschillende histonschrijvers en -wissers die chemische groepen aan histonen koppelen of weer verwijderen. Die wijzigingen gebeuren zeer precies. Zo is er een schrijfenzym (methyl-



transferase) dat in histon H3 het aminozuur lysine (K) op positie 4 kan voorzien van drie methylgroepen. Die toestand (H3K4me3) wordt vaak gezien in de buurt van genen die tot expressie komen. Aan de andere kant komt methylering van lysine 27 in histon H3 (H3K27me3) vaak voor in 'slapend' DNA. Allerlei enzymen zorgen er ook voor dat een histonmodificatie tijdens de celdeling wordt herkend en gekopieerd in de nieuwe DNA-streng. De epigenetische informatie blijft daardoor net als bij DNA-methylering behouden als de cel deelt. Tot slot kan de cel nog genexpressie regelen door verschillende histonvarianten in te bouwen, die uiteenlopende effecten hebben op hoe compact het DNA wordt opgeslagen. Ook de histonsamenstelling wordt bij celdeling gekopieerd. Er zijn dus minstens twee belangrijke epigenetische mechanismen waarmee de cel gen-expressie kan regelen: via methylering

van bouwstenen in het DNA, en via modificatie van histonen. Heeft de wetenschap daarmee de 'epigenetische code' compleet in kaart gebracht? Dat lijkt niet het geval. Van het X-chromosoom is sinds kort duidelijk dat veel meer epigenetische mechanismen meespelen bij het laten zwijgen van DNA, zoals niet-coderend RNA en methylering van adenine in RNA.

Epigenetische kaart

Als epigenetica inderdaad zo bepalend is voor hoe cellen en organismen groeien en ontwikkelen, is het ook goed voorstelbaar dat verstoring van epigenetische processen een rol kan spelen bij het ontstaan van afwijkingen en ziektes. Zo zijn er inmiddels talloze aanwijzingen dat voeding, levensstijl, veroudering en blootstelling aan gifstoffen sporen nalaten in het epigenetisch landschap.

Er is zelfs een nieuw vakgebied ontstaan: epigenomics. Onderzoekers vergelijken daarin de verschillen in DNA-methylering tussen patiënten en gezonde mensen, of personen binnen een familie. Het grootschalig in kaart brengen van de methyleeringsstatus van proefpersonen is technisch minder makkelijk dan het bepalen van de DNA-volgorde, maar de laatste jaren is de techniek steeds eenvoudiger en grootschaliger geworden.

Zulk onderzoek toont bijvoorbeeld dat bij mensen met overgewicht sommige genen afwijkende methylering vertonen, zoals PGC1A, dat betrokken is bij de energiehuishouding, en ABCG1, dat een rol speelt bij vetmetabolisme. Daarmee staat nog niet vast dat afwijkende methylering van deze genen dus de oorzaak is van overgewicht; het is een beginpunt voor verder onderzoek.

Tekorten tijdens zwangerschap

De vraag is hoe afwijkende methylering ontstaat. Vooral uit dierproeven is gebleken dat de voeding van grote invloed kan zijn, vooral als het embryo voor voedingsstoffen volledig afhankelijk is van de moeder. Overconsumptie of ondervoeding tijdens de zwangerschap kunnen de gezondheid van het nageslacht beïnvloeden, blijkt uit talloze dierproeven, zelfs jaren later op volgegroeide leeftijd.

Dat effect is ook aangetoond bij mensen in een inmiddels beroemd Nederlands onder-

zoek naar de gevolgen van zwangerschap in een periode van ernstige ondervoeding tijdens de Hongerwinter van 1944-1945. Kinderen van moeders die tijdens de hongerwinter zwanger werden, hebben zestig jaar later vaker last van overgewicht, harten vaatziekten, suikerziekte en schizofrenie. Hun jongere of oudere broers en zussen, die tijdens de zwangerschap geen tekorten doormaakten, hebben daar veel minder last van. Onderzoekers zien dit terug in de methylering van sommige genen. Zo is onder meer het IGF2-gen bij mensen uit een hongerwinterzwangerschap minder gemethyleerd. IGF2 lijkt op insuline en is een belangrijke groeifactor in celdeling en differentiatie, in de foetus maar ook na de geboorte.

Zulk onderzoek laat zien dat een epigenetische markerings in de genen in een embryo van enkele cellen, na ruim een halve eeuw nog stabiel aanwezig is. Hoe precies afwijkende methylering ziekte op latere leeftijd veroorzaakt, is nog niet duidelijk.

Vitaminen en aminozuren

Vooral tekorten rond de bevruchting blijken duidelijke sporen na te laten in het epigenoom. Dat is logisch, omdat vlak na de bevruchting vrijwel alle methylgroepen en andere markerings van het DNA worden gewist. Er vindt een soort herpro-



Menselijk figuur in de kop een spermacel. Een beeld uit een boek van de Nederlandse microscopist Nicolas Hartsoeker (1656-1725).



grammering en opschoning plaats, waarna de embryonale ontwikkeling van start kan gaan met het aanbrengen van nieuwe methylgroepen en histonmodificaties.

Voeding heeft waarschijnlijk zulke ingrijpende effecten op methylering in het embryo doordat allerlei aminozuren (glycine, methionine en serine) en vitamines (B6, B12 en foliumzuur) nodig zijn voor de epigenetische markeringen op DNA en histonen. Zo dient methionine als bron van methylgroepen. De mens kan dit aminozuur niet zelf aanmaken, zodat tekorten aan methionine bij de moeder de methyleringsmachinerie in het embryo verstoren, en daarmee de activiteit van genen op latere leeftijd.

Deze observatie heeft nog een gevolg: als voeding de grondstoffen levert voor epige-

netische processen, dan kan voeding ook na de geboorte van invloed zijn op methylering van DNA en histonen, en daarmee op genexpressie en gezondheid.

Kanker en overgewicht

Onderzoek laat bijvoorbeeld zien dat een vetrijk dieet de methylering van sommige genen in de spieren verandert. Afwijkende epigenetische patronen zijn niet onveranderlijk: als mensen met ernstig overgewicht gaan lijnen, lijkt de methylering van spiergenen na een periode van diëten weer op die van slanke mensen. We weten echter nog niet of zo'n afwijkend methyleringspatroon oorzaak of gevolg is van overgewicht.

Bij kanker is de rol van epigenetica duidelijker. Bij veel vormen van kanker zien we

sterk afwijkende methyleringspatronen op DNA, plus afwijkingen in histonen. Genen die normaal tot expressie komen, worden in tumorcellen het zwijgen opgelegd. Dat is bijvoorbeeld het geval met zogenoemde tumorsuppressorgenen, die van nature de celdeling binnen de perken houden.

Door overdreven sterke methylering worden tumorsuppressorgenen inactief, waardoor de cel ongecontroleerd kan delen.

Ook genen die een rol spelen bij geprogrammeerde celdood staan door methylering in tumorcellen vaak uitgeschakeld. Bij kanker is de epigenetische aansturing van de celdeling kortom op talloze manieren ontregeld. Het laat zien dat epigenetische afwijkingen minstens zo belangrijk kunnen zijn in het ontstaan van kanker als mutaties in het DNA.



Watervlooien maken onder invloed van hormonen van predatoren in het water defensieve stekels. Die epigenetische verandering kan een aantal generaties overerven. Rechts een gewone watervlo, links een gewapend exemplaar.

Die kennis wordt gebruikt om nieuwe medicijnen te ontwikkelen die aangrijpen op epigenetische processen. Zulke middelen worden al toegepast. Zo wordt Decitabine gebruikt voor bij sommige leukemievormen. Decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine) remt het enzym dat cytosinebouwstenen in DNA methyleert. Door dit middel raakt het DNA in een tumorcel bij elke deling meer en meer methylgroepen kwijt, waardoor bijvoorbeeld tumorsuppressorgenen weer actief worden, en de tumor verzwakt. Er zijn daarnaast vijf epigenetische antikankermiddelen in gebruik die de werking van histon-deacetylases remmen, waardoor genen ook actief kunnen worden.

Andere analyse-aanpak

Op dit moment zijn er nog tientallen nieuwe epigenetische therapieën in ontwikkeling. Het nadeel van al deze middelen is dat ze niet alleen in kankercellen, maar ook in alle andere gezonde cellen epigenetische processen kunnen verstoren. Daardoor hebben zulke therapieën zware bijwerkingen.

Het zou handiger zijn als correctie van epigenetische afwijkingen gericht kan plaatsvinden: alleen op specifieke genen. Die vorm van gerichte epigenome editing maakt in het fundamenteel onderzoek snel grote vorderingen. De editing-technieken draaien op het sturen van epigenetische schrijvers of wissers om de methylering van DNA of histonen te wijzigen.

Bisulfiet sequensen

In kaart brengen van methylering is een stuk complexer dan routinematig de lettervolgorde van DNA bepalen. Zo is sinds enkele jaren duidelijk dat naast methylcytosine ook hydroxy-methylcytosine bestaat. Die methyleringsvorm is vooral aanwezig in embryonale stamcellen en de hersenen, en het is een teken dat de cel bezig is methylgroepen te verwijderen. Het is dus een signaal van gen-activatie. Standaardanalyse met bisulfiet ziet geen verschil tussen methylcytosine en hydroxy-methylcytosine, een aangepast protocol kan dat wel. Maar daarmee is ons beeld van DNA-methylering nog steeds niet compleet. Sinds twee jaar zijn onderzoekers op het spoor van een andere gemethyleerde DNA-bouwsteen: methyl-adenine. In algen en fruitvliegen wordt methyl-adenine vooral gezien bij de activatie van genen. Bij zoogdieren lijkt deze modificatie genen te inactiveren. Mogelijk gaat ons beeld van DNA-methylering nog veranderen.

Tot slot vraagt onderzoek aan de verschillende modificaties van histonen een heel andere analyse-aanpak. Soms proberen onderzoekers histonmodificaties en DNA-methylering tegelijkertijd te bekijken, omdat beide processen elkaar beïnvloeden. Zo ontstaat een completer beeld van de epigenetische toestand van een gen.

Gerichte epigenome editing

Onderzoek van de Epigenetic Editing Research Group van Marianne Rots, hoogleraar moleculaire epigenetica aan de Rijksuniversiteit Groningen, laat zien dat zo'n aanpak slapende genen gericht actief kan maken. Daarvoor gebruiken de onderzoekers delen van het inmiddels wijdverbreide CRISPR-Cas9-systeem, om methyleringsenzymen doelgericht op een inactief gen af te sturen. De histonen waar het gen omheen gewikkeld zit raken daardoor gemethyleerd. Zo lukte het om in een cellijn op histon H3 drie methylgroepen aan te brengen op een positie (H3K4me3) die leidt tot gen-activatie.

De onderzoekers zien dat deze strategie werkt, maar ook dat voor het blijvend, stabiel wijzigen van de genexpressie waarschijnlijk meer dan één modificatie nodig is. Als de Groningse onderzoekers een tweede aminozuur in histon H3 tegelijkertijd methyleren (H3K79me) blijft een gen

al veel langer in een actieve toestand. Dit onderzoek leert enorm veel over welke epigenetische combinaties cellen gebruiken om genactiviteit te regelen. Tegelijkertijd gaat die kennis op termijn bijdragen aan nieuwe technieken en therapieën om ziektes met een epigenetische oorzaak gericht te corrigeren. ●

► Een epigenetisch geheugen?

Een van de meer controversiële onderwerpen in de wetenschap is de vraag in hoeverre de epigenetische veranderingen in het DNA aan latere generaties kan worden doorgegeven. Als ware het een geheugen aan omgevingservaringen of stress die vader, grootmoeder of overgrootvader hebben doorgemaakt. Bij sommige organismen blijkt dit verschijnsel aantoonbaar.

Er is een Agouti-muizenstam waarvan de moeders afhankelijk van het dieet tijdens de zwangerschap totaal verschillende nakomelingen krijgen: slanke, bruine exemplaren of zwaarlijvige, gele muizen. Die eigenschap is een gevolg van methylering van een gen in het embryo, wat wordt beïnvloed door aminozuren en vitaminen in het voer. Die methylatie-toestand blijkt te overerven als er met gele en bruine exemplaren verder wordt gefokt. Agouti-muizen geven deze epigenetische informatie niet meer dan twee generaties door. Maar zelfs dat blijft onderzoekers verbazen. Van zoogdieren is bekend dat in het embryo een grote epigenetische schoonmaak plaatsvindt: methylgroepen en histon-modificaties worden grondig verwijderd. Bij mannetjesfoetussen gebeurt later in de zwangerschap voor een tweede keer, bij de vorming van weefsels waaruit later spermacellen zullen groeien. Het is de vraag hoe epigenetische informatie twee poetsbeurten kan doorstaan. Ondanks opmerkelijke observaties met voedingsproeven bij dieren zijn er nog geen aanwijzingen dat transgenerationale epigenetica of een 'epigenetisch geheugen' een belangrijke rol speelt in de menselijke erfelijkheid.



Er is een Agouti-muizenstam waarvan de moeders afhankelijk van het dieet tijdens de zwangerschap totaal verschillende nakomelingen krijgen: bruine, vaak slankere exemplaren of zwaarlijvige, gele muizen. Die eigenschap is een gevolg van methylering van een gen in het embryo, wat wordt beïnvloed door aminozuren en vitamines in het voer. Die methyleringstoestand blijkt te overerven als er met gele en bruine exemplaren verder wordt gefokt. Agouti-muizen geven deze epigenetische informatie niet meer dan twee generaties door. Maar zelfs dat blijft onderzoekers verbazen.

Meer weten

- **Willbanks, A.**, et al (2016) The Evolution of Epigenetics: From Prokaryotes to Humans and Its Biological Consequences. *Genetics & Epigenetics* 2016:8 25-36.
- **Felsenfeld, G.** (2014) A Brief History of Epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 6 (1): a018200.
- **Tobi, E. W.** et al (2014) DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism. *Nature Communications* 5, Article number: 5592.
- **Heijmans, B.T.** et al (2008) Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105(44): 17046-9.
- **Van Dijk, S.J.** et al (2015) Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenetics* 7: 66.
- **Heard E & Martienssen RA** (2014) Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell.* 157(1): 95-109.
- **Cano-Rodriguez, D.** et al. (2016) Writing of H3K4Me3 overcomes epigenetic silencing in a sustained but context-dependent manner. *Nat Commun.* 7: 12284.

Editie Epigenetica

editie 81 | nummer 329 | december 2016
www.chemischefeitelijkheden.nl
coverbeeld: Canstockphoto/paulista

Colofon

Over Chemische Feitelijkheden

Chemische Feitelijkheden is een actuele encyclopedie over moleculen, mensen, materialen en milieu. Het is een losbladige uitgave van de KNCV en verschijnt driemaal per jaar met in totaal tien onderwerpen.

Redactie
KNCV BETA PUBLISHERS

dr. Erwin Boutsma (hoofdredacteur), drs. Franny Scholte (eindredacteur), Arno van 't Hoog (tekst)

Vormgeving & Opmaak

Marije van de Linde/Twin Media BV
Uitgever

Roeland Dobbelaer, Beta Publishers BV
Postbus 19949, 2500 CX Den Haag
070-2629100, info@betapublishers.nl

Abonnementen

MijnTijdschrift.com
088-2266626

chemischefeitelijkheden@mijntijdschrift.com

Wij hanteren de opzegregels uit het verbintenisrecht. Wij gaan ervan uit dat Chemische Feitelijkheden altijd wordt ontvangen uit hoofde van het beroep. Hierdoor wordt het abonnement automatisch met een jaar verlengd tenzij twee maanden vóór de einddatum een opzegging is ontvangen. Een abonnement op Chemische Feitelijkheden geeft via de website toegang tot tien nieuwe edities per jaar en het totale online archief. Daarnaast ontvangen abonnees in drie zendingen per jaar de losbladige edities.

Tarieven (2016)

Voor particulieren: online toegang met inlogcode en papieren editie (inclusief verzamelmap) kost € 87,75*; leden van de KNCV, KVCV en NVON krijgen € 10 korting.

Voor bedrijven en (onderwijs)instellingen: onbeperkt toegang tot de digitale edities op basis van IP-adres en papieren editie in drievoud (inclusief verzamelmappen) kost € 262,50*.

Losse nummers kosten € 9,95* per stuk en zijn te bestellen bij Abonnementenland.

* Bij betaling per acceptgiro wordt € 2,95 administratiekosten in rekening gebracht.