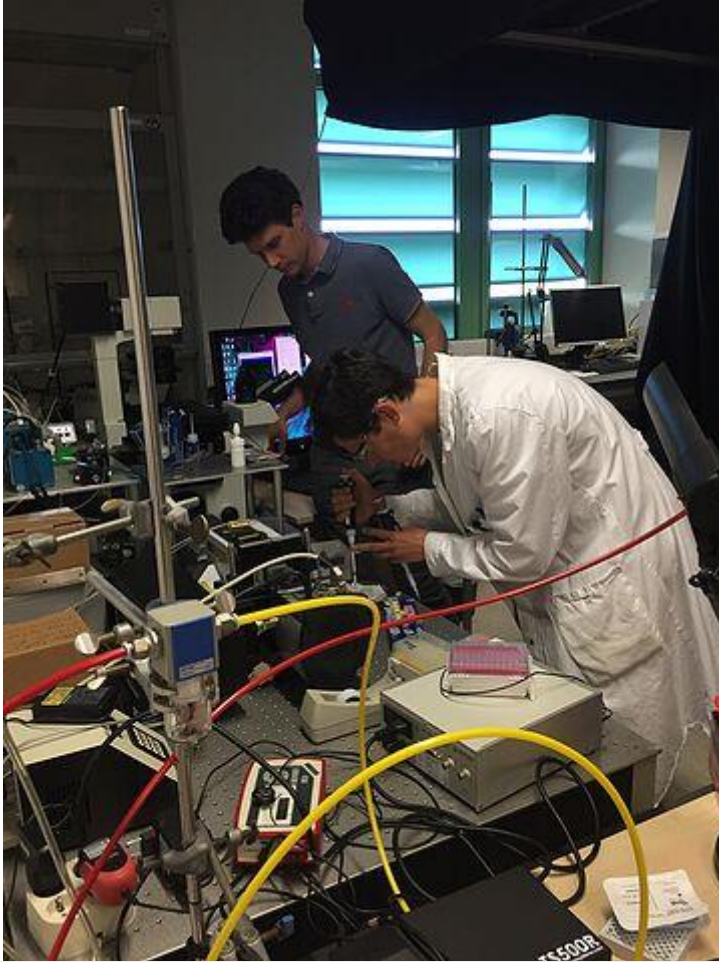


Misschien begon het leven toch in een druppeltje

Honderd jaar oude coacervaat-theorie krijgt experimentele steun. Auteur: Esther Thole | 14 oktober 2021

Er is niet veel nodig om kleine, robuuste druppeltjes te laten ontstaan die zelfstandig kunnen groeien, zo laten experimenten van Nijmeegse onderzoekers zien. Of zo'n actief druppeltje ooit de start van het allereerste leven was, kunnen ze niet met zekerheid zeggen, maar ze weerleggen hiermee wel twee veelgehoorde bezwaren tegen deze theorie.

“Kijk, daar komen ze”, zegt promovendus Wojciech Lipiński. Hij heeft net een vloeistof toegevoegd aan een paar kleine bakjes die op een microscoop staan. In een donkere kamer vol apparatuur ergens in het Huygensgebouw van de Radboud Universiteit Nijmegen turen we naar een zwart scherm. Daarop verschijnen steeds meer felgroene rondjes, die geleidelijk aan groter worden.



Wojciech Lipiński (met witte jas) maakt de oplossing klaar waarin de druppeltjes zich gaan vormen. Daarachter staat Evan Spruijt bij de microscoop.

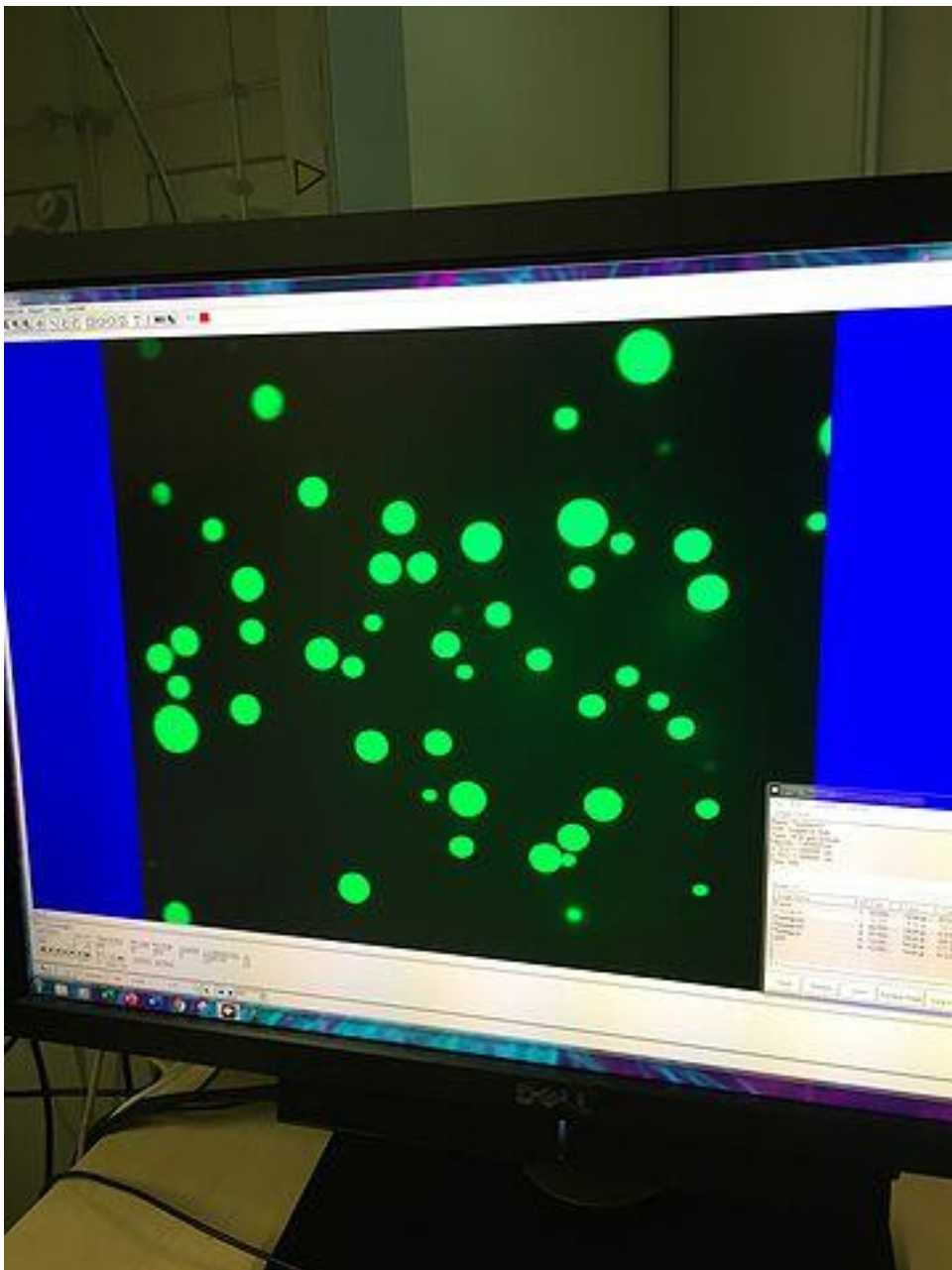
Esther Thole voor NEMO Kennislink

Prachtig om naar te kijken, maar wat gebeurt hier eigenlijk? “Je ziet kleine, eenvoudige druppeltjes die groeien doordat ze moleculen uit de omringende oplossing omzetten in hun eigen bouwstenen”, zegt groepsleider Evan Spruijt, assistant professor fysisch-organische chemie aan de Radboud Universiteit. “Deze druppeltjes vormen zichzelf en zorgen er ook zelf voor dat ze groter worden, net zoals levende cellen dat doen. Hiermee laten we zien dat deze druppeltjes zinvolle modellen zijn voor protocellen, de voorlopers van wat uiteindelijk het allereerste leven is geworden.”

Compartimentje

Nou is de term ‘protocol’ intussen nogal opgerekt. Allerhande piepkleine bolletjes en nanodeeltjes die helemaal niets met een levende cel of een voorloper daarvan te maken hebben, worden gemakshalve ook als protocol bestempeld. Dat lijkt vooral een trucje om het belang van het onderzoek te benadrukken en de kansen op financiering te vergroten.

Maar volgens Spruijt is het onderzoek van zijn groep wel degelijk direct gekoppeld aan de zoektocht naar de oorsprong van leven. “De grote vraag is nog steeds hoe ooit uit een oplossing van allerlei losse, ongeordende moleculen een compartimentje is ontstaan dat zich kon ontwikkelen tot een robuuste, levende cel.” Hij denkt dat de druppeltjes waarmee hij werkt, de zogeheten coacervaten, een goed startpunt zijn om meer te leren over het ontstaan van zo’n eerste compartimentje.



Nadat de eerste kleine groene stippen zijn verschenen, komen er snel meer druppels bij. Alle druppels worden groter, zonder dat ze met elkaar fuseren.

Esther Thole voor NEMO Kennislink

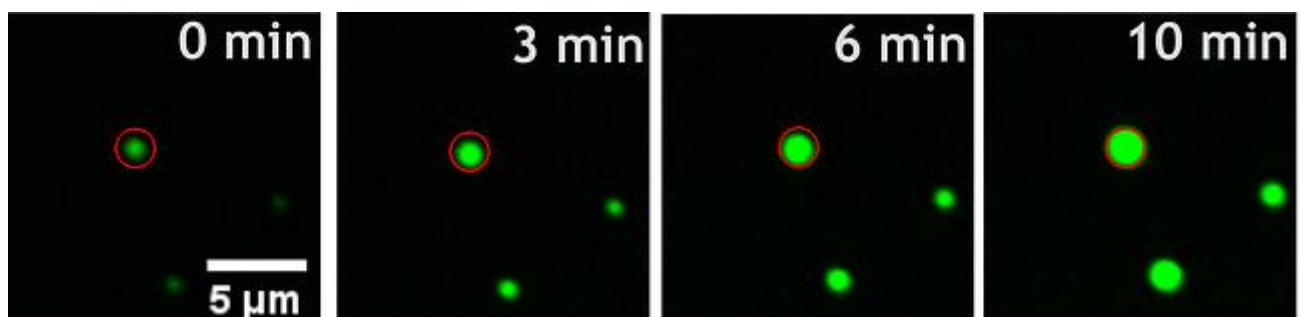
Dat idee heeft overigens een lange geschiedenis. Bijna honderd jaar geleden opperden twee wetenschappers, de Rus Aleksandr Oparin en de Brit J.B.S.

Haldane, los van elkaar de mogelijkheid dat opeenvolgende chemische reacties in de ‘oersoep’ de basis vormden voor het allereerste leven. Een paar jaar later voegde Oparin daar nog aan toe dat een simpel druppeltje dat zichzelf vormt, een coacervaat, best eens de aanloop naar een eerste versie van de cel kan zijn geweest. Die suggestie raakte gaandeweg uit beeld, maar staat de laatste jaren weer meer in de belangstelling.

Coacervaten zijn druppeltjes die zich spontaan vormen in een waterige oplossing, maar die nog steeds relatief veel water bevatten. In zo’n coacervaat heersen net iets andere omstandigheden dan in de omringende oplossing. In vaktermen spreek je dan van een fasescheiding. In de oplossing ontstaan twee verschillende fasen: de coacervaten enerzijds en de rest van de oplossing anderzijds. Dat kan heel nuttig zijn om bepaalde (bio)chemische processen te laten plaatsvinden en het is dan ook veelvoorkomend fenomeen. In de cellen van ons lichaam bevinden zich allerlei coacervaten die we kennen als membraanloze organellen. Deze ‘organen’ van de cel bieden een specifieke omgeving waarin bijvoorbeeld eiwitten hun functie kunnen uitoefenen.

Bezwaren

Tegelijkertijd zijn er ook veel wetenschappers die in coacervaten helemaal geen serieuze protocel zien. Twee bezwaren komen steeds weer terug. Het ene bezwaar betreft de buitenkant van een coacervaat, of beter, het ontbreken daarvan. Levende cellen hebben een membraan, een ‘omheining’ die de cel bijeenhoudt en duidelijk het verschil markeert tussen de binnen- en buitenkant van de cel. Coacervaten hebben zoiets niet. Dat maakt ze kwetsbaar en ook vatbaar voor een fenomeen dat Ostwald-rijping heet. Dit is het verschijnsel dat kleinere belletjes of druppeltjes na verloop van tijd leeglopen en de inhoud daarvan wordt opgeslokt door de grotere druppels, met als eindresultaat één groot geheel (dat dan vaak knapt). Badschuim en het schuim op bier bijvoorbeeld verdwijnen na verloop van tijd door die Ostwald-rijping. Volgens aanhangers van de benadering dat er eerst een membraan nodig is, zijn coacervaten daarom gewoon niet robuust genoeg om als protocel te fungeren.



Omtrek van een groeiende druppel op vier tijdstippen. Het maatstreepje geeft 5 micrometer aan (= 0,005 millimeter).

Spruijt Lab

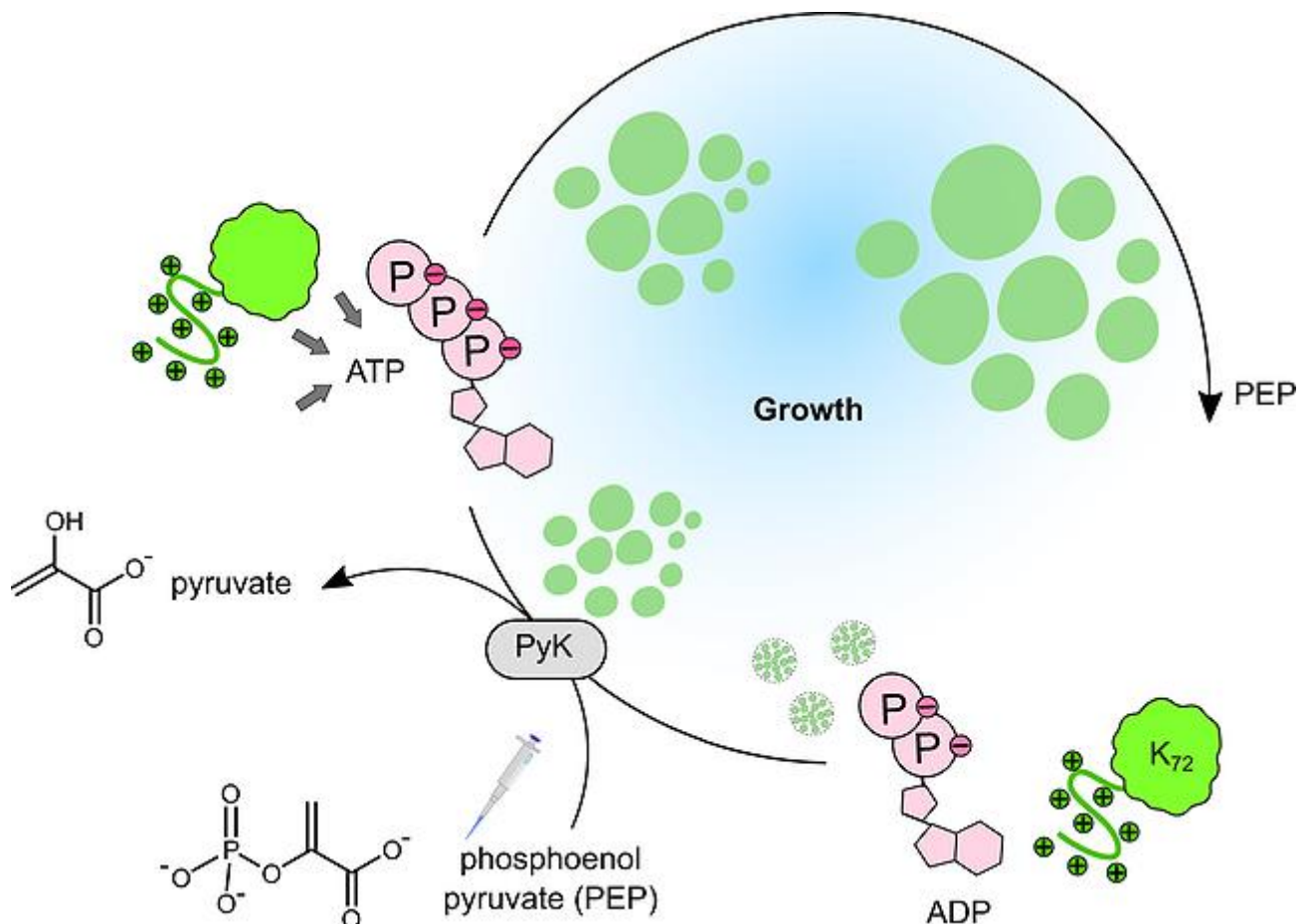
Het tweede veelgehoorde bezwaar is dat je behoorlijk grote, ingewikkelde moleculen nodig hebt om een coacervaat te vormen. Die veronderstelling is niet zo

gek, geeft Spruijt toe. “Het klopt dat in het onderzoek naar coacervaten vaak wordt gewerkt met relatief langgerekte moleculen. En als je zogeheten complexe coacervaten maakt, heb je bovendien twee verschillende bouwstenen nodig die elkaar aantrekken – bijvoorbeeld doordat het ene molecuul positief geladen is en het andere negatief. De moleculen die vaak worden gebruikt om coacervaten te maken, zijn inderdaad niet relevant als je zoekt naar de oorsprong van leven. Maar dat wil niet zeggen dat het niet eenvoudiger kan; daar was gewoon nog niet serieus naar gezocht.”

Spruijt en zijn groep besloten om, in twee aparte onderzoeksprojecten, beide bezwaren onder de loep te nemen. “Levende cellen kunnen groeien, dus protocellen moeten dat ook kunnen. We wilden daarom onderzoeken of onze coacervaten echt uit zichzelf groeien en niet alleen maar door onderlinge fusie groter worden”, legt hij uit. “Het andere project draaide om het vinden van het meest eenvoudige, kleine molecuul dat nog een coacervaat kan vormen.” Want hoe simpeler die bouwsteen, hoe realistischer het is om een rol voor coacervaten bij het ontstaan van leven te zien, zo is de gedachte. De resultaten van beide projecten zijn onlangs gepubliceerd in twee toonaangevende tijdschriften: *Nature Communications* en *Nature Chemistry*.

Lichtgevend eiwit

Spruijt had voldoende reden om aan te nemen dat de coacervaten van zijn onderzoeksgroep echt groeien. “We zagen altijd dat de oplossing waarin we onze coacervaten laten vormen, steeds troebeler werd. Dat betekent dat er druppels ontstaan en dus dat er sprake is van fasescheiding en vorming van coacervaten. Maar dat is niet genoeg om te concluderen dat de druppels zelf groeien, want het kan ook zijn dat kleinere druppels langzaam fuseren tot een grote druppel. Dat is iets anders dan actieve groei, waarbij je evenveel druppels houdt die allemaal groter worden doordat het aantal moleculen per druppel toeneemt. We moesten een manier verzinnen om te zorgen dat coacervaten de productie van hun eigen bouwstenen verzorgen en tegelijkertijd zichtbaar te maken wat er met individuele druppels gebeurt.”



Schematisch overzicht van de groeiende, groene druppels. Het enzym PyK jaagt de cyclus aan, doordat het van aangevoerd PEP (linksonder) een fosfaatgroep (PO_3) verwijdert en gebruikt om ADP (roze, onderin, 2 negatieve ladingen) om te zetten naar ATP (roze, linksboven, 3 negatieve ladingen). ATP plakt zo goed aan het groene K_{72} -complex dat er fasescheiding optreedt en druppeltjes ontstaan. Zolang er bouwstenen worden aangevoerd, blijft PyK in actie en blijven de druppels groeien.

K. Nakashima, et al, Nature Communications (2021), doi:10.1038/s41467-021-24111-x

Voor het zichtbaar maken van de coacervaten viel de keus op het eiwit GFP (Green Fluorescent Protein), dat groen licht uitstraalt. Aan dit eiwit plakten de onderzoekers een 'staart' van meerdere lysines, een aminozuur (= bouwsteen van eiwitten) dat positief is geladen. Deze GFP-lysine-combinatie kan plakken aan een ander molecuul met een negatieve lading en zo ontstaat een coacervaat. Dat werd het molecuul ATP (adenosinetriphosfaat) en dat is ook het molecuul dat in levende cellen voor de energietoevoer zorgt. Om te zien of de coacervaten de productie van hun bouwstenen stimuleren en daardoor groeien, werd ATP niet direct toegevoegd, maar in plaats daarvan een net iets kleinere variant: ADP (adenosinedifosfaat).

“De drijvende kracht van ons systeem is de omzetting van ADP naar ATP met behulp van een enzym”, zegt Spruijt. “Deze reactie hebben we al eerder gebruikt om de vorming van coacervaten in gang te zetten. De benodigde fosfaatgroep is afkomstig van het molecuul PEP. Zodra de ATP-productie op gang komt, gaat ATP plakken aan de lysine-staart en vormen zich coacervaten.” Dankzij het groene licht

van GFP is dat proces goed onder een microscoop te volgen en zo ontdekten Spruijt en zijn team dat individuele coacervaten daadwerkelijk groeien. “Onze druppeltjes blijken helemaal niet gevoelig voor Ostwald-rijping; ze zijn heel stabiel. En elke keer als we nieuwe grondstoffen toevoegen, zien we dat de coacervaten allemaal weer groter worden.”

Minimale vereisten

Het argument dat coacervaten niet relevant zijn voor onderzoek naar protocellen omdat ze heel kwetsbaar zijn en uiteindelijk allemaal samensmelten, gaat voor deze druppeltjes dus niet op. Maar wat we hier zien, is niet op alle fronten relevant voor het allereerste leven. Want enzymen – grote eiwitmoleculen met een ingewikkelde ruimtelijke structuur – drijven niet rond in de oersoep of de diepzee. Spruijt erkent dat deze experimenten niet direct te vertalen zijn naar de situatie van miljarden jaren geleden. “We gebruiken het enzym om de snelheid van de reacties op te krikken, anders zijn deze experimenten niet haalbaar. Zonder enzym lukt het wel, maar dan moet je echt heel veel tijd vrijmaken.”

Hij benadrukt dat het vooral gaat om de meer algemene principes die de experimenten laten zien. “We weten dat coacervaten zich spontaan vormen onder allerlei omstandigheden en vanuit allerlei verschillende bouwstenen. Dat is door meerdere onderzoekers al heel vaak aangetoond. Dus het is niet zo’n gek idee dat dit ook is gebeurd als stapje op weg naar het eerste leven. En ja, de bouwstenen die we hier gebruiken zijn niet allemaal realistisch als het gaat om de allereerste cel. Maar het gaat ons om het vinden van de minimale vereisten om zo’n druppeltje te laten ontstaan en te laten groeien. Wij laten zien dat slechts enkele ingrediënten en chemische reacties kunnen zorgen voor zelfstandig groeiende druppels. Het gaat niet zozeer om de specifieke moleculen, maar om de reactiestappen en de soorten bouwstenen die je nodig hebt om dit te laten gebeuren. Dat gaan we ook nog met andere bouwstenen en reactiestappen proberen, maar ik twijfel er niet aan dat het ook daarmee lukt om groeiende coacervaten te krijgen.”

Simpel

De groeiende coacervaten bestaan uit twee bouwstenen. Maar het is bekend dat je ook coacervaten kunt vormen die uit slechts één bouwsteen bestaan. Spruijt: “De vraag was echter hoe simpel die ene bouwsteen kan zijn. Wat is het meest eenvoudige molecuul dat toch in z’n eentje kan zorgen voor die fasescheiding?” Een heldere vraag, maar het lijkt verdacht veel op het zoeken naar een naald in een hooiberg. Er zijn immers zo veel verschillende, maar toch eenvoudige moleculen te bedenken. Waar begin je dan?



Spontaan vormende coacervaten op basis van een enkele, eenvoudige bouwsteen FFssFF. Grote, ingewikkelde moleculen zijn dus geen vereiste.

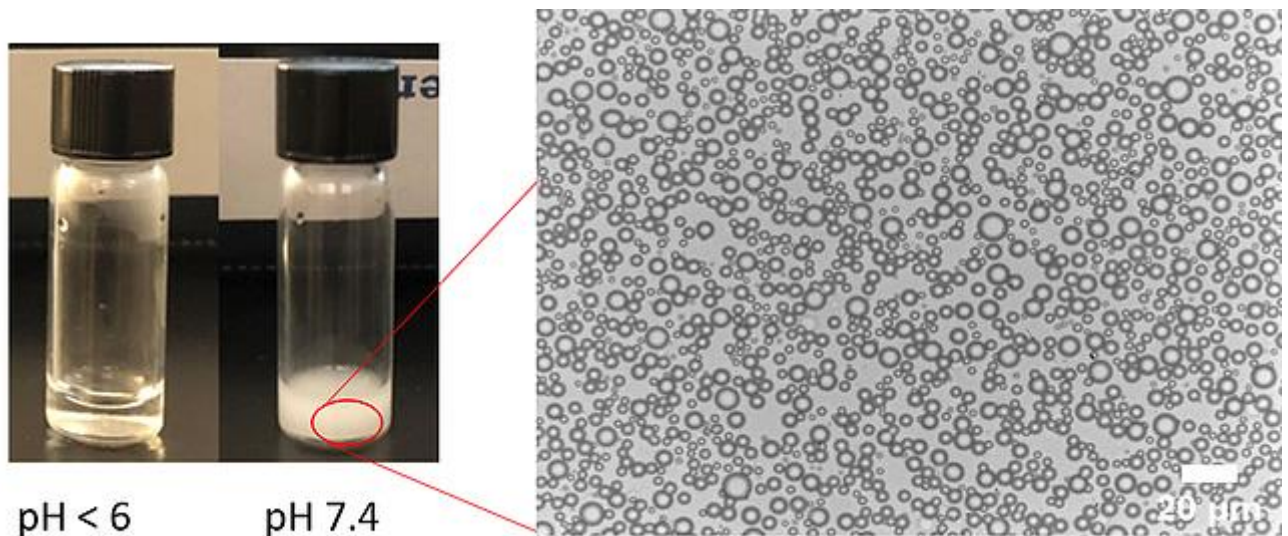
Esther Thole voor NEMO Kennislink

Er zijn gelukkig wel wat aanknopingspunten. “Het molecuul moet van zichzelf verschillende delen hebben. Er moeten stukjes zijn die liever aan elkaar willen plakken dan bij water in de buurt zijn, maar ook stukjes die wel juist graag door water worden omringd en flexibel blijven. Anders kun je geen druppeltje vormen dat ook nog veel water bevat.” De keuze viel op zogeheten peptiden, dat zijn korte strengen van enkele aminozuren. Een pluspunt van aminozuren is dat het realistische bouwstenen zijn voor het allereerste leven. En er zijn meerdere eiwitten (die altijd bestaan uit aminozuren) bekend die zelf ook aan fasescheiding doen.

Spruijt: “Van die eiwitten weten we dat ze een vast patroon hebben in hun structuur. Ze hebben *stickers*, dus plakkende stukjes die zijn gescheiden door *spacers*, de flexibele, oplosbare stukjes. Dat patroon van sticker-spacer-sticker hebben wij als uitgangspunt genomen. Voor de stickers kozen we het aminozuur fenylalanine, want daarvan weten we dat het spontaan lange vezeltjes vormt: het stapelt uit zichzelf op elkaar.” Om te zorgen dat dit wel flexibel blijft, werd als ‘spacer’ een zogeheten zwavelbrug (twee zwavelatomen) er als verbindend stukje tussen gezet. Dat leverde een minimaal bouwblokje van twee keer twee fenylalanines (F) met daartussen de zwavelbrug (ss): FFssFF.

Katalysator

Kon het niet nog kleiner, met slecht één fenyalanine aan elke kant? “Nee, dat hebben we ook geprobeerd, maar dan was de plakkracht te klein om echt een druppeltje te vormen”, zegt Spruijt. Door dipeptiden (twee aminozuren aan elkaar) te gebruiken lukte het wel om de coacervaten te laten ontstaan. Bovendien zijn deze zeer minimale coacervaten in staat om andere moleculen uit de oplossing op te nemen en bieden ze een omgeving voor chemische reacties.



Links de oplossing met daarin de eenvoudige, kleine FFssFF-bouwsteen. Door de pH (= maat voor zuurgraad) te verhogen wordt oplossing heel licht basisch en troebel. Dat laatste is een teken dat er druppeltjes ontstaan. De foto rechts is een microscopische opname van die druppeltjes. Het maatstreepje rechtsonder geeft 20 micrometer aan (= 0,02 millimeter).

Spruijt Lab

“We hebben twee typen reacties gekozen die in levende cellen heel veel voorkomen, en beide vonden zonder problemen plaats in deze eenvoudige druppeltjes. Sterker nog, de druppeltjes werken als katalysator: ze zorgen ervoor dat ze reacties veel sneller verlopen. We hebben onlangs ook nog aangetoond dat de peptidereactie, de verbinding tussen twee aminozuren, in deze druppeltjes enorm goed verloopt. Van een opbrengst van 5% in de gewone oplossing, schiet dat in deze druppeltjes naar 90%. Dat is een enorm verschil. En heel belangrijk voor het ontstaan van leven, want deze reactie is karakteristiek voor levende cellen, maar vindt daarbuiten nauwelijks plaats.”

Open deur

Coacervaten kunnen dus ook uit kleine, eenvoudige moleculen ontstaan, ze zijn stabiel en ze kunnen zelfstandig groeien. Maar wat leert ons dat over het ontstaan van het allereerste leven? Is het allemaal begonnen toen de eerste coacervaten zich

vormden? “Dat kun je op basis deze resultaten echt niet zeggen”, aldus Spruijt, “maar wat we wel laten zien is dat het met iets heel eenvoudig kan zijn begonnen. Je hebt niet veel nodig om tot een stabiel compartimentje te komen waarin ook nog belangrijke reacties plaatsvinden. En we laten zien dat chemische reacties zorgen voor de groei van die compartimentjes. Dat klinkt als een open deur, maar experimentele bevestiging was er eigenlijk niet. Je moet het toch een keer echt zien gebeuren.”

Bronnen:

Karina Nakashima, Merlijn van Haren, Alain André, Irina Robu & Evan Spruijt, *Active coacervate droplets are protocells that grow and resist Ostwald ripening*, Nature Communications (2021), [doi:10.1038/s41467-021-24111-x](https://doi.org/10.1038/s41467-021-24111-x)

Manzar Abbas, Wojciech Lipiński, Karina Nakashima, Wilhelm Huck & Evan Spruijt, *A short peptide synthon for liquid-liquid phase separation*, Nature Chemistry (2021), [doi:10.1038/s41557-021-00788-x](https://doi.org/10.1038/s41557-021-00788-x)

Dit artikel is een publicatie van **NEMO Kennislink**.

© NEMO Kennislink, [sommige rechten voorbehouden](#)

Dit artikel publiceerde NEMO Kennislink op 14 oktober 2021