

Hoe zuurstof tot endosymbiose dwong

Jan A. Gevers Leuven

Een van de zeer grote gebeurtenissen in de geschiedenis van de aarde is het ontstaan van de cel met kern (de eukaryote cel) uit een cel zonder kern (de prokaryote cel). Het idee over de vorming van de eukaryote cel wordt in brede kringen aanvaard: hij is het resultaat van endosymbiose. Endosymbiose is het proces waarbij grote archaea of oerbacteriën kleinere, gespecialiseerde levensvormen in zich opnamen waarbij een succesvolle samenwerking ontstond van tenminste twee of drie soorten.

Dat klontje samenwerkende prokaryote cellen heeft zich ontwikkeld tot wat wij nu 'de eukaryote cel' noemen (Grieks: karuon = kern; eu = goed). Uit die cellen zijn alle grote organismen opgebouwd: planten, dieren, schimmels, en daarnaast ook een groep die men 'Protisten' pleegt te noemen: wieren, pantoffeldiertjes, amoeben, en vele andere. Niemand weet waardoor die microben gingen samenwerken. Er is echter wel een theorie die momenteel het meeste opgeld doet: het 'gifgas' zuurstof zou hen daartoe gedwongen hebben.

Het begin

Vier en een half miljard jaar geleden was er geen zuurstof in de atmosfeer van de jonge planeet Aarde. Alleen in de hoogste luchtlagen liet waterdamp zich door ultraviolet licht splitsen in waterstofgas en zuurstofgas, zoals dat ook gebeurde op andere planeten: Mars bijvoorbeeld is rood gekleurd door roest. Maar het zuurstofgas haalde het oppervlak van Aarde waarschijnlijk niet en het kwam zeker niet voor in de diepere lagen van de korst of in de troebele oceanen, plassen en poelen waarin leven kon ontstaan. De eerste tekenen van leven zijn ontdekt door analyse van stabiele koolstofisotopen en zijn gedateerd op een slordige miljard jaar na het oerbegint (zie kader). Wij spreken van vóór 3,5 Ga geleden (Ga = giga-annum, miljard jaar). Hoe leven is ontstaan weet niemand. Maar op het moment waarover dit

verhaal gaat, waren er vermoedelijk ten minste twee vormen van micro-organismen: bacteriën en archaea.

Archaea

Archaea (vroeger: 'Archaeobacteriën') zijn micro-organismen of microben. Onder de microscoop zien ze er op het eerste gezicht net zo uit als bacteriën, maar ze zijn anders. Je vindt ze vooral in geisers, zoutpannen, of zure plassen op aarde: het zijn extremofielen, minnaars van extreme omstandigheden, bewoners van de rand. Maar ze zitten ook in koeienmagen, waar ze methaan maken; ze zitten in moerassen, diep onder de grond en in de zee. Het aantal soorten dat wordt ontdekt groeit met de dag. Sommige bacteriën kunnen ook onder extreme omstandigheden leven. De bekende *Thermophilus aquaticus* is een bacterie, geen archaeon. Maar hij leeft ook in hete bronnen. Het scherpe onderscheid tussen bacteriën en archaea is gelegen in hun erfelijke code: archaea verschillen meer van bacteriën dan u en ik van de vliegengzwam. Het verschil zit hem in hun DNA. De erfelijke code in DNA kan tegenwoordig van alle organismen nauwkeurig worden gelezen door de zogenaamde 'sequencers', automaten die via een chemische analyse de volgorde van de 'letters' in de code bepalen. Vervolgens rekent een computerprogramma uit hoe groot het verschil is tussen de onderzochte organismen. Op grond van die verschillen heeft men de plaats van archaea in de evolutiestamboom kunnen vaststellen. Deze stamboom toont drie hoofdtakken, namelijk naar bacteriën, naar archaea en naar een bundel van organismen bestaande uit cellen met een kern: dieren, planten, schimmels en 'protisten'. Die bundel noemt men 'eukarya' (afb. 1).

Eukarya

Eukarya of eukaryota bestaan uit cellen die allemaal voorzien

De stabiele isotopen ^{13}C en ^{12}C

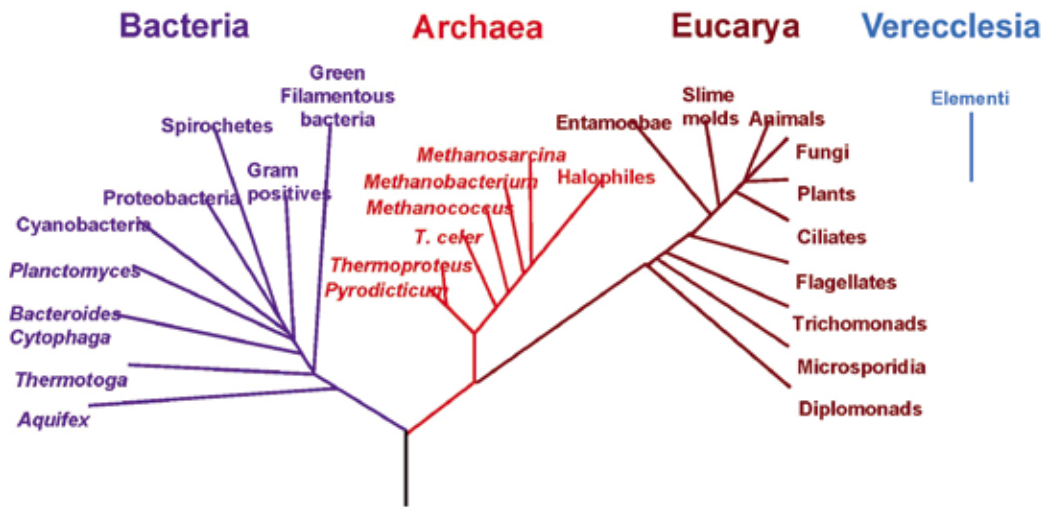
Isotopen zijn atomen met dezelfde chemische eigenschappen maar met een verschillend atoomgewicht. Van koolstof kennen wij isotopen met een atoomgewicht van 12 (gewoon koolstof), 13 (zwaar koolstof) en tenslotte 14 (radioactief koolstof). De korte schrijfwijze van deze isotopen is ^{12}C , ^{13}C en ^{14}C . In hun atoomkern is het aantal protonen in elk koolstofisotoop hetzelfde, namelijk zes. Het aantal neutronen verschilt echter, en bedraagt in ^{12}C zes, in ^{13}C zeven en in ^{14}C acht. De eerste twee koolstofisotopen zijn vanaf het begin van ons zonnestelsel aanwezig in een onveranderde onderlinge verhouding. Ze zijn immers stabiel en veranderen dus niet. Het isotoop ^{14}C is instabiel; dat het toch in de natuur aanwezig is, komt doordat het voortdurend door kosmische straling in hogere luchtlagen wordt aangemaakt. Over ^{14}C laten we het hierbij.

In de natuur vinden we op elke duizend koolstofatomen ongeveer elf atomen ^{13}C en 989 atomen ^{12}C . Wat ons hier interesseert is dat levende organismen verschillend omgaan met deze twee isotopen. Zij tonen een voorkeur voor de lichtere variant. In biochemische termen: een substraat met ^{12}C wordt door een enzym iets gemakkelijker omgezet in een product dan een substraat met ^{13}C . Zo pakt een bacterie liever $^{12}\text{CO}_2$ dan $^{13}\text{CO}_2$ om in zijn lichaam in te bouwen. Ook

andere biochemische reacties in het organisme vertonen deze voorkeur. Dat betekent dat in ons lichaam, net als in alle andere organismen, dus ook in steenkool, olie en aardgas, minder ^{13}C tenopzichte van ^{12}C zit dan in kalksteen. Schelpen, koralen, forams, coccolieten etc. vormen daarop geen uitzondering, want hoewel er een levend wezen nodig was om ze te vormen was hier geen sprake van een biochemisch proces via enzymen.

Andersom kan de koolstof-isotopenverhouding in een sediment gebruikt worden als een teken van leven. Dat levensteken verandert niet, ook niet als het gesteente heel oud of chemisch veranderd is: immers, niet de chemie maar de biochemie vertoont de voorkeur voor ^{12}C . Indachtig de stelling van James Hutton (1726–1797) en Charles Lyell (1797–1875) dat wat vroeger gebeurde volgens dezelfde natuurwetten verliep als nu, mogen wij aannemen dat de voorkeur van leven voor ^{12}C vroeger hetzelfde was als tegenwoordig. In sommige koolstofhoudende gesteenten die ouder zijn dan 3,8 miljard jaar (Isua, West-Groenland) is een significant tekort aan ^{13}C tenopzichte van ^{12}C aangetoond (Mojszis et al., 1996. Evidence for life on earth before 3.800 million years ago. *Nature*, 348: 55-59). De stelling van de auteurs was dat zij hiermee het bestaan van levende processen in die verre oertijd plausibel hadden gemaakt.

Phylogenetic Tree of Life



Afb. 1. Stamboom van alle levende organismen op Aarde, gebaseerd op een stuk erfelijke code. (Bron: Madigan et al. 2003)

zijn van tenminste één kern. Hun cellen zijn groter dan die van archaea en bacteriën, die géén kern hebben en tezamen ook wel 'prokaryota' genoemd worden. Eukaryoten zijn uit prokaryoten ontstaan, maar overgangsvormen zijn in de huidige wereld onbekend. De *missing link* is dus nog niet gevonden en zal waarschijnlijk ook niet worden gevonden. Want als er al iets zou bestaan als een *missing link*, dan zou dat een klontje bacteriën en archaea moeten zijn, dat in een vaste samenwerking (symbiose), van generatie op generatie zou overleven.



Afb. 2. Stromatolieten bij eb in de ondiepe, zoute wateren van Shark Bay, Western Australië. (Bron: ASLO: American Association of Limnology and Oceanography).

Men neemt aan dat de hedendaagse archaea en bacteriën precies lijken op die van toen. En zo kunnen wij *nu* kijken hoe ze vermoedelijk miljarden jaren geleden leefden. Vermoedelijk leefden de archaea en bacteriën 3,5 miljard jaar geleden naast elkaar in hun muffe atmosfeer. Zij haalden hun dagelijkse energie op duistere of schemerige plaatsen uit de vergisting van wat daar te vergisten was; verder gebruikten ze de elementen die vrijkwamen uit chemische reacties tussen mineralen, en waarschijnlijk

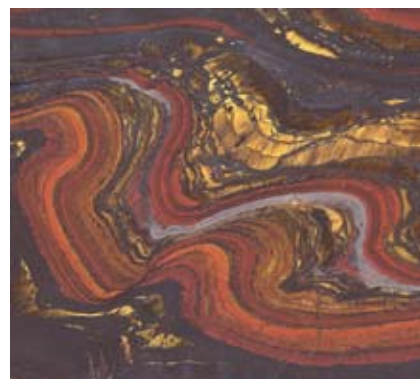
leefden zij ook van zonlicht, zoals de hedendaagse Halobacteriën dat doen en daarmee de zoutpannen rood kleuren. Dat zijn archaea met een vitamine-A-achtig pigment: bacteriorhodopsine. Maar zuurstofgas maakten zij nog niet vrij!

Stromatolieten

De oudste fossielen ter wereld zijn de zogenaamde stromatolieten. Op doorsnee zijn het net stapels dunne pannenkoeken, geheel versteend. Dergelijke stapels leven nu nog steeds, bijvoorbeeld in de ondiepe zee van Shark Bay, West-Australië en nog op een aantal andere zeer afgelegen plaatsen in de wereld. In de bovenste laag van de stapel vinden we dicht op elkaar levende bacteriën. De meeste hebben een blauw-groene kleur en men noemt ze daarom cyanobacteriën of, in de volksmond, 'blauwalgen' (Grieks: kuanos = donkerblauw). Ze bevatten chlorofyl, groene bladkleurstof, en daarmee kunnen ze, geholpen door een speciale constructie van mangaanatomyten, in zonlicht zuurstofgas vrijmaken uit water. Na elke bloei sterven de bacteriën af en laten een kalklaagje achter. Zo wordt de stapel steeds hoger. Strikt genomen is een stromatoliet dus niet de verstening van het organisme zelf, maar een structuur die door de organismen wordt veroorzaakt (afb. 2).

Hoe zuurstof tot samenwerking dwong

Aanvankelijk bond de zuurstof die gevormd werd door de blauwalgen onmiddellijk aan massa's stoffen zoals methaan, zwavelwaterstofgas (rotte eierengeur), ijzersulfide en zelfs aan gedegen ijzer. Later, men schat 2,7 miljard jaar geleden, begon



Afb. 3. Een plaat gepolijste Banded Iron Formation (BIF) uit Australië. Het gesteente bevat vuursteen, hematiet en 'tigger-oog', een amfibool vervangen door silica (geel). (Foto: dr. B. Dutrow, Baton Rouge, LA, USA).



Afb. 4. Banded Iron Formations, Australië. BIF konden gevormd worden als gevolg van door levende organismen vrijgemaakt zuurstofgas in een milieu met veel ijzerverbindingen. (Bron: Simon Poulton NORDCee, Nordic Center for Earth Evolution)

er vrij zuurstofgas in de atmosfeer te komen. Het zorgde voor een grote opruiming van ferro-zouten en -oxiden, die als ferri-zouten en -oxiden neersloegen in de zee. De massaliteit hiervan kan men zien aan de enorme *banded iron formations* op verscheidene plaatsen ter wereld (afb. 3, 4).

Zuurstof is bijzonder venijnig. De chemische naam van zuurstof is oxygenium (Grieks: oxos = scherp, zuur). Daar konden de stromatolieten zelf blijkbaar wel goed tegen, maar veel andere bacteriën in de omgeving niet, en ook de archaea bleven liever ver uit de buurt, mag je veronderstellen. De producenten kregen daardoor meer plaats om te kunnen groeien.

Cyanobacteriën maakten zuurstofgas vrij door water (H_2O) te splitsen in waterstofatomen (H) en zuurstofatomen (O).

Ze gebruikten zonlicht als energiebron ('de lichte reactie').

De cyanobacterie bracht het zuurstofgas in de directe omgeving en hield de waterstofatomen vast om er voedsel mee te maken, glucose. Dat is een ingewikkeld proces, dat 'de donkere reacties' wordt genoemd (afb. 5).

De zuurstofgebruiker komt opzetten!

Maar op zeker moment kwam er een slimme bacterie opzetten die niet alleen resistent was tegen zuurstof, maar er zelfs nuttig gebruik van kon maken. Hij gebruikte het om meer bruikbare energie uit voedsel vrij te maken dan via de ouderwetse methode van vergisting. En de zuurstof verloor tegelijkertijd zijn giftigheid! De bacterie kon nu andere bacteriën en archaea om zich heen verzamelen. Hij kon ze zelfs bruikbare energie aanbieden, want die had hij genoeg. (Voor de kenners: voedsel, glucose, wordt eerst vergist en daarna via de ademhalingsketen van de grote rest van zijn energie ontdaan. Deze energie wordt opgeslagen in adenosine trifosfaat, ATP, een stof die in alle organismen wordt gebruikt om endotherme reacties, transporten, modificaties etc. te bevorderen.)

In de nabijheid van de nieuwbakken zuurstofgebruikers was het goed toeven. De microben gingen steeds dichterbij elkaar leven; ze gingen zelfs samenwerken en lieten echte symbioses

ontstaan. Het verhaal gaat dat het misschien een archaeon was die nog verder ging: hij stulpte zich om een zuurstofvreter heen. Binnen in zijn archaeonlichaam kon de bacterie verder leven. Daarmee was de gastheer verlost van de scherpe zuurstof en genoot hij van de energie (ATP) die zijn slimme inwoner voor hem over had.

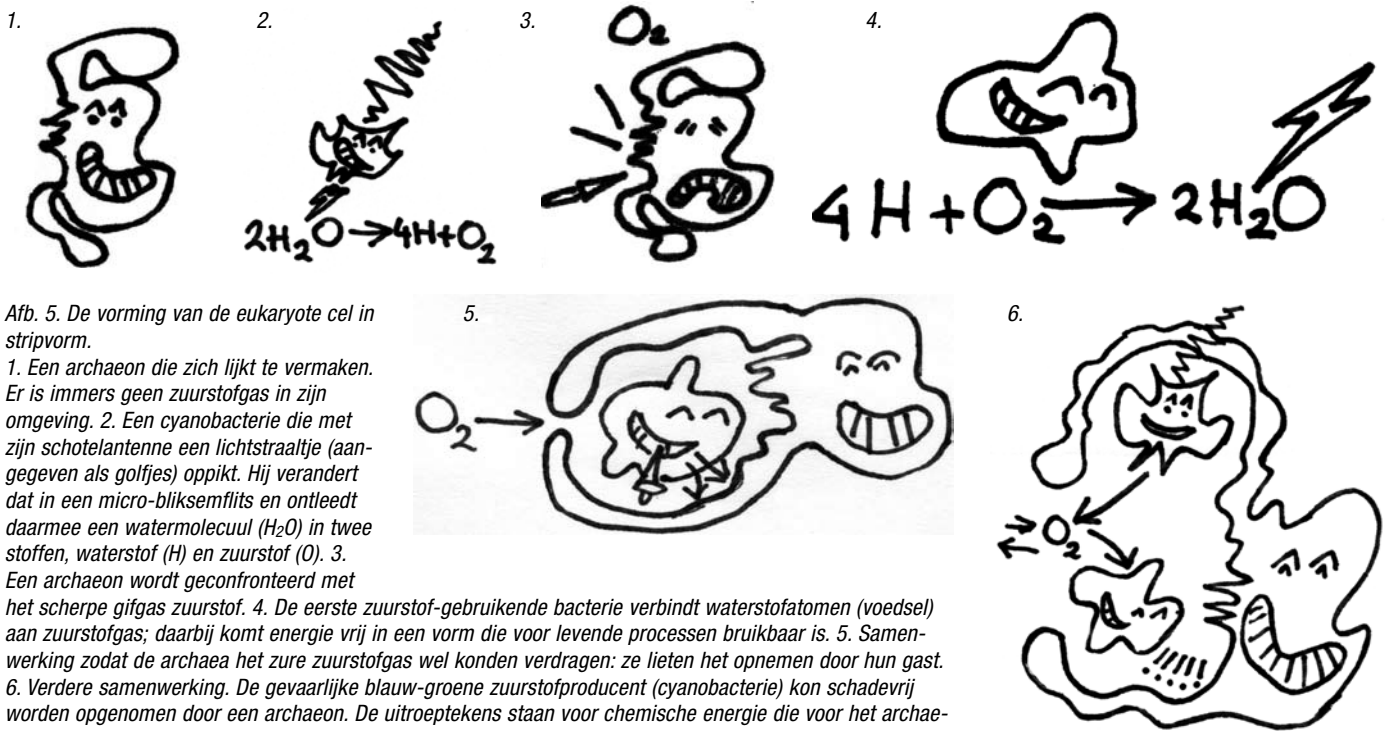
Het verhaal gaat nog verder. De gast moest wel wat te eten krijgen. Geen nood, want de archaea hadden ruime ervaring met het vergaren van voedsel. Door vergisting kwamen zij aan hun eigen energie, maar nu konden ze het eindproduct van die vergisting nog opvoeren aan hun inwoner. Die kon daar, door zuurstof te gebruiken, veel meer energie uit vrijmaken dan de gastheer met zijn vergisting.

De samenwerking ging steeds beter en de archaea konden met hun inwoner steeds dichterbij de gevaarlijke blauw-groene zuurstofproducent komen. Sommige konden het zich zelfs permitteren om deze cyanobacterie óók te laten inwonen. De zuurstof zou dan, nog vóórdat hij schade zou kunnen aanrichten, worden gebruikt door de inwoner die er al eerder was, de bacterie! En zo geschiedde.

Nog mooier was dat de nieuwe inwonende cyanobacterie hapklare brokken glucose maakte uit water, koolzuur en zonlicht. De overschotten hiervan mocht de archaeon hebben. Die begon, als vanouds, met de vergisting, maar het product van die vergisting bevatte nog veel voedingswaarde. Vroeger moest de archaeon dat weggooien, maar nu kon hij het, zoals hierboven al werd aangegeven, te eten geven aan de zuurstofgebruikende inwoner.

De inwoners zijn nog steeds herkenbaar!

Onze aanname in dit verhaal was dat het heden ons iets kon leren over het verleden. En kijk: wij zijn opgebouwd uit cellen. Elke cel bevat kleine, zuurstofgebruikende korrels die precies doen wat hierboven staat beschreven. Zo'n korrel heet: 'mitochondrion' (Grieks: mitos = draad; chondros = korrel; de



Afb. 5. De vorming van de eukaryote cel in stripvorm.

1. Een archaeon die zich lijkt te vermaken. Er is immers geen zuurstofgas in zijn omgeving. 2. Een cyanobacterie die met zijn schotelantenne een lichtstraaltje (aangegeven als golfjes) oppikt. Hij verandert dat in een micro-bliksemflits en ontleedt daarmee een watermolecuul (H_2O) in twee stoffen, waterstof (H) en zuurstof (O).

3. Een archaeon wordt geconfronteerd met het scherpe gifgas zuurstof.

4. De eerste zuurstof-gebruikende bacterie verbindt waterstofatomen (voedsel) aan zuurstofgas; daarbij komt energie vrij in een vorm die voor levende processen bruikbaar is.

5. Samenwerking zodat de archaea het zure zuurstofgas wel konden verdragen: ze lieten het opnemen door hun gast.

6. Verdere samenwerking. De gevaarlijke blauw-groene zuurstofproducent (cyanobacterie) kon schadevrij worden opgenomen door een archaeon. De uitroepstekens staan voor chemische energie die voor het archaeon ter beschikking kwam.

ontdekkers dachten dat de korrels met een draad aan elkaar verbonden waren, maar dat bleek later niet zo te zijn). Het mitochondrion staat bekend als de energiefabriek van de cel en is inderdaad een afstammeling van de zuurstofgebruikende bacterie uit de oertijd! Mitochondriën bevatten namelijk DNA met een erfelijke code die verwant is aan de code van een vrij levende, zuurstofgebruikende bacterie. Die bacterie is waarschijnlijk de afstammeling van de slimme oerbacterie-in-symbiose.

Ook de bladgroenkorrels in de hedendaagse plantaardige cel bevatten DNA. De erfelijke code daarvan is verwant aan die van de hedendaagse cyanobacterie. De handboeken geven zonder commentaar zowel mitochondriën als chloroplasten (bladgroenkorrels) aan in de stambomen (zie afb. 1).

De afstamming van de celkern is nog niet duidelijk (Martin, 2005). In de celkern zit het DNA van de cel opgeborgen. De code daarvan wordt teruggevonden in zowel bacteriën als archaea. Recente analyse van die codes wees uit dat de informatie-technologie van de cel vooral verwant is aan die van de archaea. Met andere woorden, het in gebruik nemen van de erfelijke DNA-code voor het functioneren van de cel is ingebracht door archaea. De code voor de dagelijkse huishouding in de cel is meer verwant aan die van bacteriën (Lake, 2006). Dat

past bij het feit dat prokaryoten grote delen van hun DNA kunnen uitwisselen tussen verschillende soorten. Zo is ook veel van het mitochondriale DNA in bewaring gegeven aan de kern en hetzelfde is het geval met de bladgroenkorrel. Het verhaal is rond. De microben van nu hebben hun geheim prijs gegeven door hun code aan ons te laten zien. Daarmee is de evolutie van toen tot een sluitend verhaal gereconstrueerd. Die evolutie liep niet alleen op mutatie-en-selectie, maar ook op combinatie-en-selectie. Of het verhaal waar is weet ik niet, maar mooi is het wel: we zullen er zeker nog meer van horen!

Referenties

- Gevers Leuven, J.A. Moet de wortel op de schop? Infusis (personeelsblad Museum Naturalis, Leiden) april 2005
 Gevers Leuven, J.A. Leven in viermaal symbiose. Infusis juni 2005.
 Lake, J.A. Disappearing act (essay). Nature 2007; 446:983.
 Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. Brock Biology of Microorganisms. 10e editie, 2003, figuur 2.7.
 Martin, W. Archaeobacteria (Archaea) and the origin of the eukaryotic nucleus. Current Opinion in Microbiology 2005; 8:630-7