

De essentie van leven

Stapje voor stapje wil het BaSyC-consortium de moleculaire modules voor de basisfuncties van een cel leren samenwerken, om ze uiteindelijk letterlijk tot leven te laten komen. 'We gaan voor de essentie. Dat is al moeilijk genoeg.'

In 2010 onthulde Craig Venter de eerste zelfreproducerende synthetische cel. Zijn team had het DNA van de bacterie *Mycoplasma mycoides* (901 genen) gesynthetiseerd en in een verwante bacteriesoort gestopt. Zes jaar later meldde hij dat ze, door een voor een genen te verwijderen, op een minimale set van 473 essentiële genen waren uitgekomen. Toch was van 30 % van deze genen nog onbekend waar ze voor dienden. 'De synthetische cel van Venter is wat we de top-downbenadering noemen', zegt Marileen Dogterom, hoogleraar bionanowetenschappen aan de Technische Universiteit Delft. 'Wij willen bottom-up beginnen met een beperkt aantal modules die biologische basisfuncties definiëren, zoals energieproductie en DNA-replicatie, en dan beetje bij beetje de complexiteit opvoeren.'

Aan elkaar knopen

Dogterom is trekker van het BaSyC-consortium (Building a Synthetic Cell) dat vorig jaar september startte met een totaal budget van € 25 miljoen. Binnen dit tienjarige NWO-zwaartekrachtprogramma werken de universiteiten van Groningen, Amsterdam, Wageningen, Nijmegen en Delft samen met het Amsterdamse onderzoeksinstituut AMOLF aan de bouw van een synthetische cel. Die cel moet zichzelf in stand houden, kunnen groeien en zich minstens een keer reproduceren. Maar als het ligt aan Bert Poolman, hoogleraar bio-

chemie aan de Rijksuniversiteit Groningen, minstens twee keer. 'Zodat hij ook kan groeien en delen. Maar onze cel zal heel simpel zijn. Ik vergelijk hem vaak met een endosymbiont, een organisme dat in een andere cel groeit en afhankelijk is van de aangeleverde stoffen.'

Hoe die cel er straks uitziet, is nog niet te voorspellen, stelt Wilhelm Huck, hoogleraar fysisch organische chemie aan de Radboud Universiteit in Nijmegen. 'We gaan niet een specifieke bestaande soort nabouwen, maar willen van gisten, bacteriën en andere organismen de meest simpele principes en meest basale enzymen lenen voor groei en celdeling en die vervolgens aan elkaar knopen tot een celachtig systeem.'

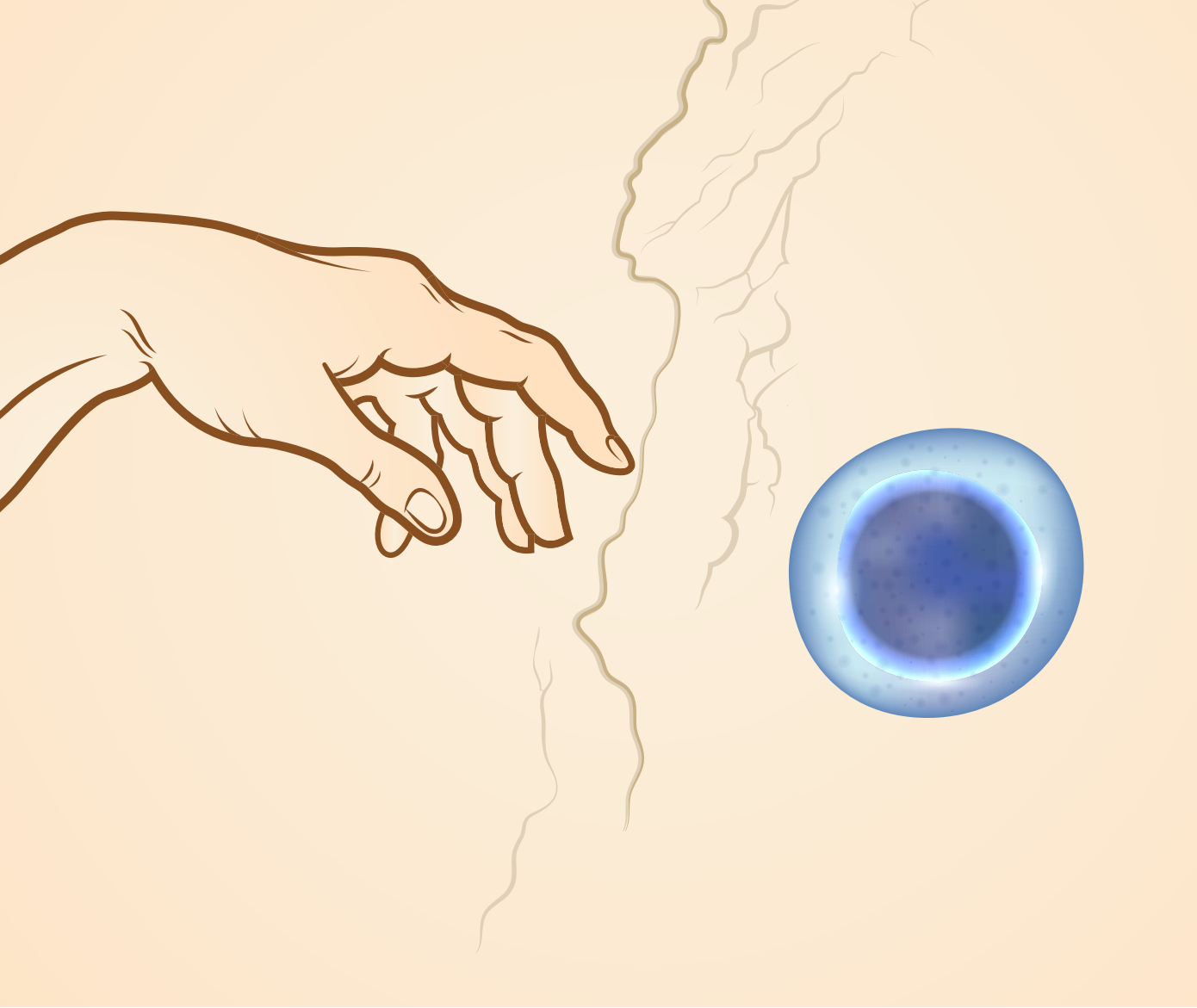
Dogterom vindt het oprecht bijzonder dat in een klein landje als Nederland toch al die puzzelstukjes aan kennis aanwezig zijn. 'Iedereen heeft zich de afgelopen tijd in verschillende biologische functies gespecialiseerd. We hebben al modules voor in-vitro-ATP-synthese, metabolisme, DNA-expressie, de regelnetwerken en het cyto-

'Voor de aansturing heb je moleculaire software nodig'

skelet. Mijn TU Delft-collega Cees Dekker en Gijsje Koenderink van AMOLF werken bijvoorbeeld aan de membraanmechanische eigenschappen en aan membranen afknijpen voor celdeling', zegt Dogterom. 'Alle puzzelstukjes samen moeten uiteindelijk een synthetische cel opleveren. Niet zoals we die nu kennen, dat is het resultaat van miljarden jaren evolutie. We gaan voor de essentie. Dat is al moeilijk genoeg.'

Structuur geven

Dogterom zelf kijkt naar de biofysica van het cytoskelet dat vorm aan de cel geeft, en ook betrokken is bij de verdeling van chromosomen tijdens de celdeling. Het cytoskelet bestaat uit microtubuli, holle, zelfassemblerende eiwitbuisjes die vanuit een centrosoom alle kanten op groeien. 'Het cytoskelet is heel dynamisch, het groeit en krimpt. We willen begrijpen hoe het cytoskelet zich organiseert onder invloed van de krachten die het zelf genereert. En hoe je zo'n systeem moet aansturen om de chromosomen op tijd op de juiste plek te krijgen', vertelt Dogterom. 'Dit bootsen we na in microdruppeltjes met een lipidebuitenlaag.'



In veel cellen zitten ook membraanloze organellen die de celinhoud structuur geven. ‘Dat weten we sinds een jaar of acht’, vertelt fysisch-chemicus Evan Spruijt van de Nijmeegse groep Soft Interfaces. Die ‘druppeltjes’ of granules vol RNA en eiwitten vormen zich door fasescheiding, net als olie en water, alleen hebben nu beide fases water als oplosmiddel. ‘Een voorbeeld van een membraanloos organel is de nucleolus in de celkern van een eukaryoot. Dit is de plek waar ribosomen worden gemaakt, de eiwitfabriekjes. De nucleolus zorgt ervoor dat RNA op zijn plaats blijft, op de juiste manier kan vouwen en kan binden aan de eiwitten die nodig zijn om een ribosoom te maken’, legt Spruijt uit.

De granule lost tijdelijk op bij de celdeling, net als de celkernmembraan. Over het algemeen zijn granules heel dynamisch en verschijnen ze of lossen ze weer op, afhankelijk van de omstandigheden. Spruijt legt uit: ‘Bij stress ontstaan bijvoorbeeld membraanloze organellen in de cel om RNA en eiwitten tegen degradatie te beschermen. Die dynamiek van oplossen en weer condenseren van de druppels, proberen we nu na te bootsen en onder controle te krij-

gen in een synthetisch systeem.’ Spruijt wil vooral begrijpen of die extra organisatielaag nodig is om straks een synthetische cel te laten functioneren.

Modules bouwen

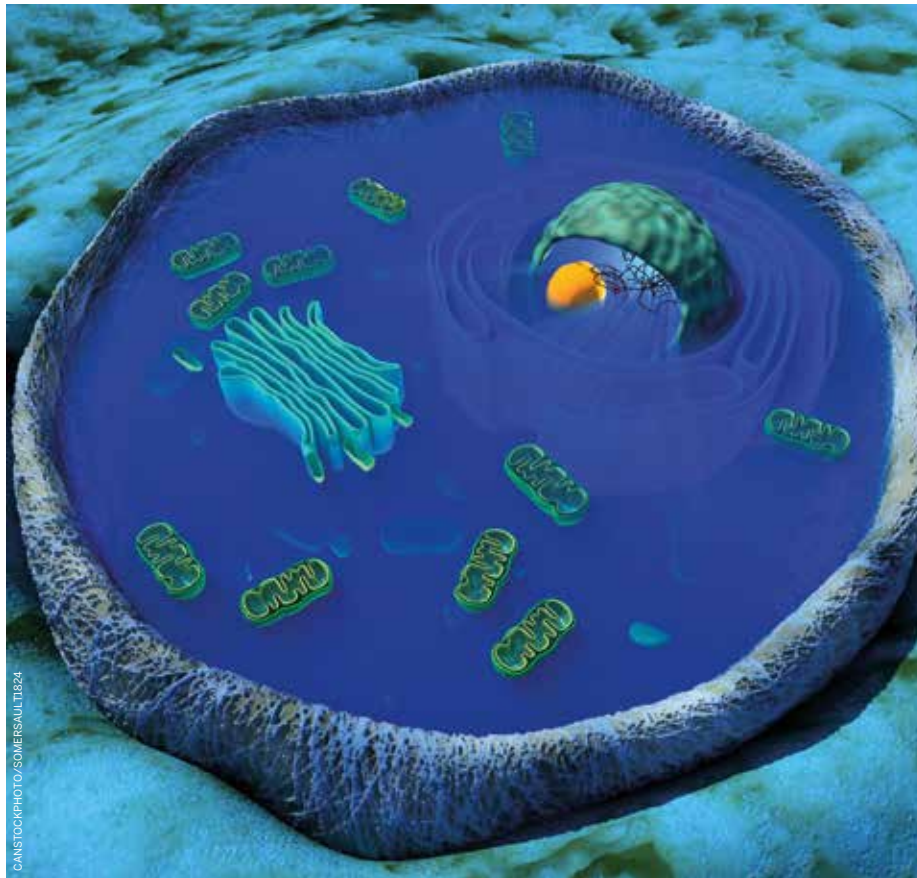
De module voor het energiemetabolisme van Poolmans groep is na jaren onderzoek het verst gevorderd. Die moet de benodigde ATP leveren om enzymatische reacties te laten verlopen. Poolman werkt hiervoor met synthetische liposomen voorzien van transporteiwitten om nutriënten en afvalstoffen uit te wisselen. ‘Factoren die je daarbij heel goed in de gaten moet houden zijn de pH, ionsterkte, osmotische druk, viscositeit en *crowding*, ofwel hoe vol een cel is’, vertelt Poolman. ‘Die fysisch-chemische eigenschappen zijn essentieel om allerlei cellulaire processen zo goed mogelijk te laten verlopen, maar worden nogal eens vergeten. Wij bouwen nu cellen waarbij we controle hebben over al die parameters om straks alle componenten die niet van nature bij elkaar voorkomen te laten samenwerken.’

Zijn Groningse collega Dirk Slotboom gaat werken aan een module om de redox-

‘Alle puzzelstukjes samen moeten een synthetische cel opleveren’

potentiaal te reguleren en constant te houden. Bij veel redoxreacties in de cel ontstaat een surplus of tekort aan elektronen dat de biochemische elektronendrager NAD(P)H opvangt.

In Nijmegen werkt Huck de komende jaren verder aan een module voor genexpressie in liposomen en de genetische netwerken die hiervoor nodig zijn. ‘Met onze microfluidische technieken kunnen we heel precies één bacterieel genoom in een liposoom stoppen, samen met de benodigde ribosomen en enzymen uit een *E. coli*-bacterie die nodig zijn voor transcriptie en translatie’, legt Huck uit. ‘Vervolgens laten we die liposomen krimpen, zodanig dat de concentratie aan moleculen hetzelfde is als ►



‘We gaan onze modules inbouwen in levende cellen’

ATP in de cel te maken, en een membraantransporteiwit dat ATP en ADP uitwisselt met de omgeving. Hiermee kunnen we straks de ATP-ADP-ratio in de cel van buitenaf bijsturen. Dat hebben we zeker nodig als we onze ATP-generende module gaan combineren met de eiwitsynthese van Huck.’

Om tijdens al het reconstructiewerk in de reageerbuis de biologie niet uit het oog te verliezen, voeren de onderzoekers ook regelmatig proeven in vivo uit. Dogterom: ‘We gaan wel degelijk op zijn Craig Venter’s onze modules inbouwen in levende cellen om te leren hoe zij zich in de context van een levende cel gedragen. Dat helpt ook om de ontwikkeling van de bottom-up-modules te versnellen. Daarbij is CRISPR-Cas-specialist John van der Oost uit Wageningen betrokken.’

► oorspronkelijk in de *E. coli*, waar de moleculen heel dicht op elkaar gepakt zitten. Omdat er nog geen membraaneiwwitten in zitten, hebben we nog niet genoeg materiaal om het hele genoom uit te schrijven.’

Moleculaire software

Nu is de grootste uitdaging om genexpressie uit te voeren met de juiste snelheid en duur. ‘Om zo’n module aan te sturen, heb je moleculaire software nodig’, zegt Huck. ‘Onze software bestaat uit biochemische reacties, die je heel lastig aan en uit kunt zetten.’ Zijn grote queeste is een netwerk van biochemische reacties bouwen dat bepaald gedrag vertoont. Het is al gelukt om rond het eiwit trypsinogeen een oscillerend systeem te bouwen met een positieve en een negatieve feedbackloop, net als in genetische netwerken.

‘Maar hoe bouw je een systeem dat bijvoorbeeld met een 24-uursfrequentie en een bepaalde amplitude oscilleert?’, vraagt Huck zich af. ‘DNA-zelfrePLICATIE is eigenlijk een typisch voorbeeld van zo’n autokatalytisch systeem, waarbij het product zijn eigen vorming katalyseert. We kennen

maar weinig van dit soort reacties. Dat komt doordat wij voor een autokatalytische cyclus in een cirkel van één feedbackloop denken. Maar in een cel gaat het misschien om 2, 3 of 75 stappen.’ Om hiervoor de moleculaire software te ontwikkelen, zoekt Huck hulp bij artificiële intelligentie, evolutionaire algoritmes en computersimulaties. ‘Een computer kan over veel grotere afstanden in zo’n genetisch netwerk zoeken. En wij bouwen het dan na om te testen.’

Laten samenwerken

De spannendste uitdaging is straks alle ontwikkelde modules te laten samenwerken. Dogterom: ‘We gaan de modules hiervoor in eerste instantie twee aan twee samenbrengen. Voor dit mix-en-matchspel moet ieder een paar variaties hebben, zodat je de samenwerking kunt bijregelen.’ Want zodra je de complexiteit laat toenemen, kom je vanzelf voor verrassingen te staan, weet Poolman. ‘Dan moet je de module of route kunnen aanpassen. Voor het energiemetabolisme hebben we nu een route waarbij we arginine gebruiken om

Fundamenteel

Als er over tien jaar geen levende synthetische cel is, is het dan mislukt? Nee, is het unanieme antwoord van de onderzoekers: het pad ernaartoe is even belangrijk. Door een cel vanuit het niets op te bouwen, leer je heel fundamenteel te begrijpen hoe cellen eigenlijk werken. Dát, zo stellen de onderzoekers, is het belangrijkste winstpunt van het project.

Bovendien kunnen de vorderingen sneller gaan nu dit onderzoeksveld groeit aan populariteit. Zo is het BaSyC-consortium nauw betrokken bij het nieuwe Origins Center, dat is voortgekomen uit een van de routes van de Nationale Wetenschapsagenda. In Duitsland is een consortium van de Max Planck-instituten actief met een groot MaxSynBio-programma. Dogterom: ‘In Engeland gaat de supramoleculaire chemie die richting op, net als de groepen van Sjibren Otto en Bert Meijer in Nederland. Verder zijn we hard bezig om samen met collega’s in Duitsland en Engeland dit ook op Europees niveau als onderzoekswaartepunt of Flagshipprogramma op de agenda te krijgen.’ ●