

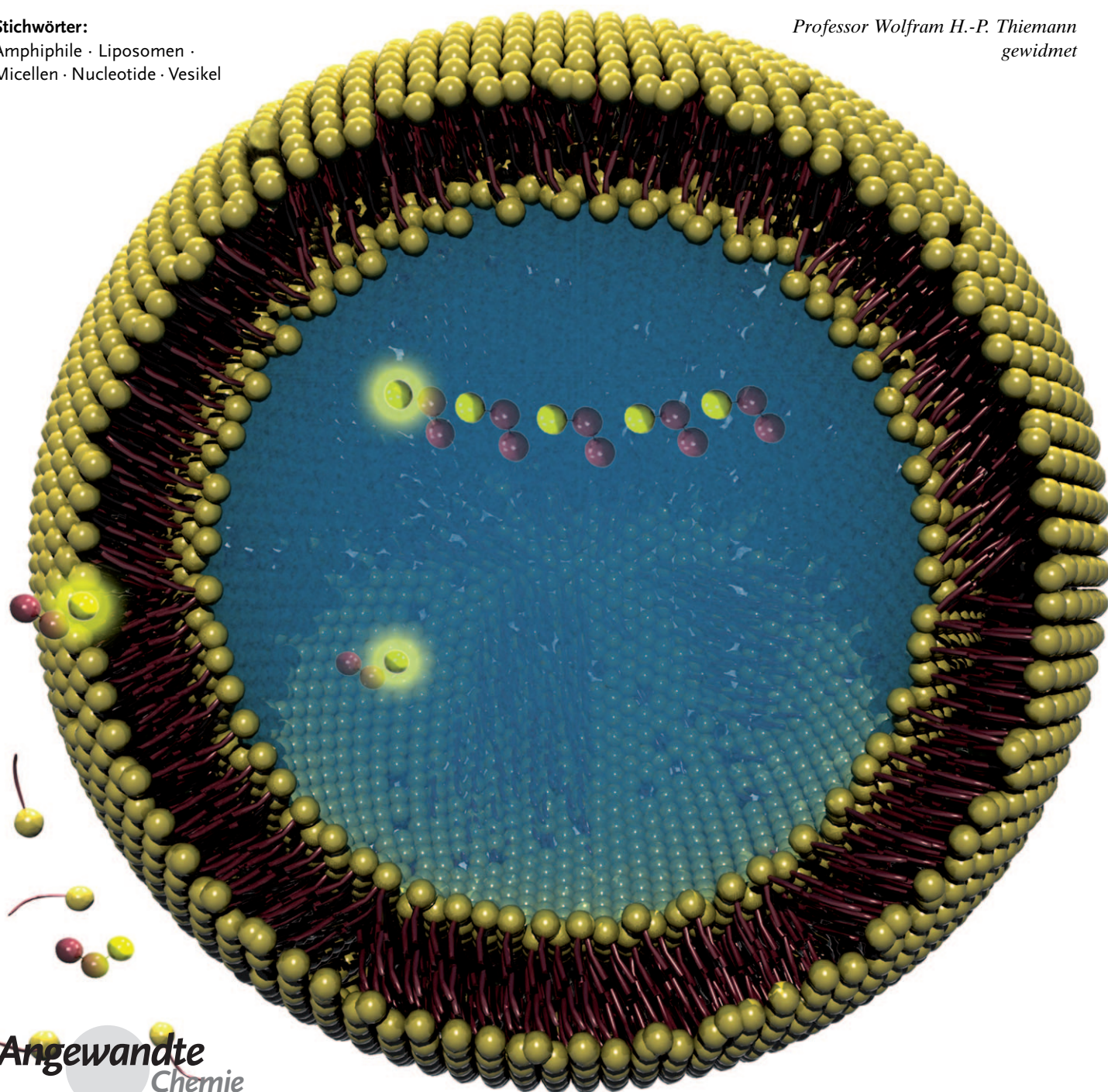
# Die Entstehung erster Zellen – von der Nährstoffaufnahme hin zur Verlängerung eingeschlossener Nucleotide

Uwe J. Meierhenrich,\* Jean-Jacques Filippi, Cornelia Meinert, Pierre Vierling und Jason P. Dworkin

**Stichwörter:**

Amphiphile · Liposomen ·  
Micellen · Nucleotide · Vesikel

Professor Wolfram H.-P. Thiemann  
gewidmet



**E**in neues Verständnis des Ursprungs des Lebens auf der Erde gründet sich auf jüngsten, bedeutenden Entdeckungen zur Biophysik von Membranen. Es wurde gezeigt, dass Vesikel aus Membran-Doppelschichten eine facettenreiche Mikroumgebung zur Verfügung stellen, in der sich erste Stoffwechselreaktionen entwickelt haben können. Zellmembran-ähnliche Aggregate amphiphiler Moleküle, die Oligonucleotide einschließen können, wurden erfolgreich im Labor hergestellt. Im Rahmen von Laborstudien zur Entstehung des Lebens gelang die Verlängerung eines DNA-Primers im Inneren von Fettsäurevesikeln, sobald das extravasikuläre Medium mit aktivierten Nucleotiden versetzt wurde. Diese Studien zeigten, dass zellähnliche Vesikel durchlässig genug sein können, um geladene Moleküle wie aktivierte Nucleotide aufzunehmen, die sich wiederum im Protozellinneren am Kopieren von DNA-Matrizen beteiligen. Wir fassen in diesem Aufsatz jüngste Experimente in diesem Bereich zusammen und beschreiben ein mögliches Szenario zum Ursprung erster primitiver Zellen, wobei wir der Verlängerung eingeschlossener Nucleotide besondere Aufmerksamkeit widmen.

## 1. Einleitung

Alle Formen heute bekannten Lebens beruhen auf Zellen. In typischen prokaryotischen und eukaryotischen Zellen trennt eine zellbegrenzende Phospholipid-Doppelschicht, in der sich zudem Glycolipide, Steroide und Cholesterin befinden, das flüssige Äußere vom Zellinneren. In speziellen Kompartimenten des Zellinneren, die gut untersuchte Moleküle enthalten, liest die RNA-Maschinerie den genetischen Code ab und baut funktionelle Proteine auf. Die Phospholipid-Doppelschicht umfasst zwei hydrophile Oberflächen sowie ein hydrophobes Inneres, das die Zelle wie eine Schutzwand davor bewahrt, dass polare Moleküle wie Aminosäuren, Nucleinsäuren, phosphorylierte Kohlenhydrate, Proteine und Ionen ohne enzymatischen Kontrollmechanismus eindringen. Dafür benötigen weit entwickelte Zellen, die aus Hunderten verschiedener Membranlipide aufgebaut sind,<sup>[1]</sup> ausgeklügelte Proteinkanäle für den Austausch von Molekülen mit der extrazellulären Umgebung. Nun stellt sich die Frage, ob die moderne Biochemie Mechanismen erkennen und zurückverfolgen kann, die Zellen und ihre Membranen zu einer Zeit hervorbrachten, als primitives Leben und dessen biologische Evolution auf der Erde begannen. Solches Wissen zu erlangen, ist ein wichtiges Ziel sowohl der Grundlagenforschung als auch im Hinblick auf mögliche Anwendungen etwa in künstlichen Zellen.

Biochemische Erkenntnisse lassen darauf schließen, dass Zellen wichtige Voraussetzungen zur Entstehung des Lebens schufen, indem sie es ermöglichten, (an)organische Moleküle aus der externen, präbiotischen Umgebung verdünnter, (an)organischer Moleküle aufzunehmen und zu konzentrieren, und zudem Wachstum sowie Matrizen kopierende Reaktionen in ihrem Innern erlaubten. Ein genaues Verständnis der präbiotischen Evolution von Vesikeln und ihren Membran-Doppelschichten steht daher im Mittelpunkt grundle-

gender Debatten zum Ursprung des Lebens auf der Erde. Es gibt jedoch ein Problem: Phospholipidmembranen sind hocheffektive Barrieren für polare und geladene Moleküle und benötigen dementsprechend komplexe Kanäle und Pumpen, um den Austausch von Molekülen mit der extrazellulären Umgebung zu ermöglichen. Phospholipidmembranen in heutigen Organismen sind für viele wichtige Moleküle zellulären Lebens, zellulären Wachstums und der Vermehrung von Zellen nicht durchlässig, und es mangelt ihnen an dynamischen Eigenschaften, die für Membranwachstum und Nährstoffaufnahme der Urzelle unabdingbar sind. Durch jüngste Studien an Modellzellsystemen vertiefte sich nun das Verständnis der spontanen Bildung primitiver zellähnlicher Vesikel aus amphiphilen Molekülen, der Nährstoffaufnahme durch die Membran-Doppelschicht sowie der Verlängerung eingeschlossener Nucleotide. In diesem Aufsatz berichten wir über diese faszinierenden Fortschritte aus dem Blickwinkel von Chemikern und Biochemikern.

## Aus dem Inhalt

<b>1. Einleitung</b>	3827
<b>2. Selbstorganisation amphiphiler Moleküle zu zellähnlichen Vesikeln: eine Protozelle im Labor</b>	3828
<b>3. Divide et impera: Wachstum und Teilung primitiver Zellen</b>	3832
<b>4. Hin zur Dynamik des Lebens: Nährstoffaufnahme durch Doppelschichtmembranen</b>	3835
<b>5. Nichtenzymatische Verlängerung eingekapselter Nucleotide in zellähnlichen Vesikeln</b>	3836
<b>6. Zusammenfassung und Ausblick: von Amphiphilen zu lebenden Zellen</b>	3838

[\*] Prof. Dr. U. J. Meierhenrich, Dr. J.-J. Filippi, C. Meinert, Dr. P. Vierling  
LCMBA UMR 6001 CNRS, Institut de Chimie de Nice  
Université de Nice-Sophia Antipolis  
Faculté des Sciences, Parc Valrose, 06108 Nizza (Frankreich)  
Fax: (+33) 4-9207-6151  
E-Mail: Uwe.Meierhenrich@unice.fr  
Homepage: <http://www.unice.fr/lcmba/meierhenrich/>  
Dr. J. P. Dworkin  
Astrochemistry Laboratory, Code 691.0  
NASA Goddard Flight Space Center  
Greenbelt MD 20771, Maryland (USA)

Hintergrundinformationen zu diesem Aufsatz inklusive eines 3D-Videos zur Entstehung primitiver Zellen sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.200905465> zu finden.



## 2. Selbstorganisation amphiphiler Moleküle zu zellähnlichen Vesikeln: eine Protozelle im Labor

Moleküle, die sich aus einem ungeordneten Zustand heraus anordnen und dabei vesikuläre, zellähnliche Strukturen bilden, ziehen seit Jahrzehnten das Interesse von Forschern auf sich. Die oberflächenaktiven Moleküle<sup>[2]</sup> erfordern einen amphiphilen Charakter, was bedeutet, dass polare und nichtpolare funktionelle Gruppen in ein und demselben Molekül zugegen sein müssen. Fettsäuren und Fettalkohole sind typische Beispiele für Moleküle mit der Fähigkeit zur Selbstorganisation, d.h. zur räumlichen Ausrichtung von Nachbarmolekülen. In Zellen moderner Organismen vorkommende Phospholipide, ebenso wie zwitterionische Gemini-Tenside,<sup>[3,4]</sup> zeigen diese Charakteristika ebenfalls.

Wegen der außerordentlichen Forschungsfortschritte bezüglich der dynamischen Eigenschaften von Fettsäureaggregaten im Zusammenhang mit der Entstehung des Lebens wollen wir uns in diesem Aufsatz auf Fettsäuren konzentrieren, wobei wir berücksichtigen, dass Fettsäurevesikel für ihre Bildung relativ hohe Konzentrationen und spezielle physikochemische Stimuli erfordern. Für den Aufbau von Phos-

pholipidvesikeln sind Amphiphilkonzentrationen erforderlich, die bis zu sechs Größenordnungen geringer sind als diejenigen von Fettsäuren zur Bildung von Fettsäurevesikeln.

Fettsäuren und Fettalkohole werden häufig in Experimenten nachgewiesen, die eine präbiotische Umgebung simulieren. Diese amphiphilen Moleküle können unter präbiotischen Bedingungen hergestellt werden, zumindest solange die Moleküle chemisch relativ einfach sind und solange sie nicht enantiomerenrein benötigt werden.<sup>[2]</sup> Gängige Theorien zum Ursprung des Lebens unterscheiden zwischen zwei Mechanismen der Entstehung amphiphiler Moleküle: Ein Ansatz fußt auf geologischen Stätten wie maritimen, hydrothermalen Systemen und der andere auf extraterrestrischen Quellen wie protosolaren Nebeln, die durch interplanetare und interstellare Nebel gespeist werden. Die chemische Analyse der beiden Mechanismen bringt jeweils eigene, charakteristische Herausforderungen mit sich.

### 2.1. Fischer-Tropsch-Synthese amphiphiler Moleküle in wässriger Phase

Fischer-Tropsch-Reaktionen haben die Aufmerksamkeit von Geochemikern als mögliche Quellen organischer und amphiphiler Moleküle auf sich gezogen. Die Fischer-Tropsch-Synthese ist dafür bekannt, in verschiedenen geologischen Umgebungen (Vulkane, Magmatit) vorzukommen. Lange wurde angenommen, dass der Fischer-Tropsch-Prozess wegen der inhibierenden Wirkung von Wasser nicht in wässriger Phase ablaufen könne. Laborexperimente von Simoneit et al. zeigten jedoch, dass die chemische Bildung, Akkumulation und Selektion von Amphiphilen über Fischer-Tropsch-Reaktionen auch in wässriger Phase möglich ist.<sup>[5,6]</sup> Zudem wurden Fischer-Tropsch-Reaktionen in wässriger Phase in



Uwe J. Meierhenrich studierte Chemie an der Philipps-Universität Marburg. Nach der Promotion an der Universität Bremen identifizierte er Aminosäuren in einem künstlichen Kometen am Max-Planck-Institut für Sonnensystemforschung in Katlenburg-Lindau und am C.B.M. in Orléans in Vorbereitung auf die Kometenmission Rosetta. 2005 wurde er als Professor an die Universität Nizza-Sophia Antipolis berufen. Sein Buch, „Amino Acids and the Asymmetry of Life“, wurde 2008 herausgegeben.



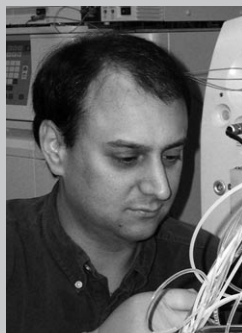
Cornelia Meinert erhielt 2004 das Diplom in Chemie an der Universität Leipzig, wo sie in der organischen und Umweltchemie tätig war. Sie beendet derzeit ihre Doktorarbeit zu Studien über präparative Kapillar-Gaschromatographie bei Werner Brack am Helmholtz-Zentrum. 2009 begann sie einen Forschungsaufenthalt bei U. J. Meierhenrich an der Universität Nizza-Sophia Antipolis. Sie befasst sich dort mit dem Ursprung der biomolekularen Asymmetrie und mit enantioselektiven GCxGC-Techniken.



Jean-Jacques Filippi studierte Naturstoffchemie an der Universität Pasquale Paoli (Korsika). 2000 ging er an die Universität Nizza-Sophia Antipolis, wo er 2005 promovierte. Er war Postdoktorand an der Universität Hohenheim in der Arbeitsgruppe Strasdeit und befasste sich dort mit präbiotischer Chemie, bevor er 2006 einen Ruf als Assistenzprofessor an der Universität Nizza erhielt. Seine Forschungsgebiete sind Aromastoffe und die präbiotische Chemie.



Pierre Vierling ist Chemiker und promovierte an der Universität Straßburg. 1979 trat er eine Stelle des CNRS an der Universität Nizza-Sophia Antipolis (UNS) an. 1996 wurde er dort wissenschaftlicher Direktor und ist derzeit Direktor des LCMB. Er beschäftigt sich mit der Vektorisierung von Genen (DNA), mit einem besonderen Schwerpunkt auf hochfluoridierten Systemen für „künstliche Viren“ und der selektiven Übertragung von DNA in Zielzellen.



Jason P. Dworkin begann Forschungen zum Ursprung des Lebens mit Joan Oró an der Universität Houston, wo er über Aminosäuren und Coenzyme forschte. Er beendete seine Doktorarbeit in Biochemie bei Stanley Miller an der UCSD mit einer Arbeit über prä-RNA-Nucleinbasen. Als Postdoktorand war er am NASA Ames Institut tätig und gründete die Analytische-Astrobiologie-Forschungsgruppe am NASA Goddard Space Flight Center, wo er heute Direktor des Astrochemie-Zweiges ist.

hydrothermalen Systemen auf dem mittellatlantischen Rücken beobachtet, die zunehmend als mögliche Brutstätten für den Ursprung des Lebens auf der Erde diskutiert werden. Dies liegt darin begründet, dass primitive Lebensformen in der Umgebung hydrothermalen Systeme auf dem Grund der Ozeane entdeckt wurden, wo Magma als flüssiger Stein durch die Erdkruste dringt und mit dem Meerwasser reagiert.

In kontemporären hydrothermalen Systemen findet sich jedoch eine Vielzahl organischer Moleküle aus biologischen Prozessen. Experimentelle Simulationen bieten eine gute Möglichkeit, etwaige präbiotische, organische Synthesen in derartigen Systemen zu identifizieren. Zur Simulation hydrothermalen Quellen wurden dementsprechend Fischer-Tropsch-Reaktionen unter kontrollierten Temperatur- und Druckbedingungen im Labor durchgeführt. Wässrige Lösungen von Ameisensäure und Oxalsäure wurden in hydrothermalen Flüssigkeiten zur Produktion von CO, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> (als Quellen für Kohlen- und Wasserstoff) genutzt, um diese flüchtigen, gasförmigen Verbindungen nicht einem Autoklaven zuführen zu müssen. Nach Kühlung, Extraktion und GC-MS-Analyse in den Reaktionsgefäßen wurde die Bildung von Lipiden mit Kohlenstoffgerüstlängen zwischen C<sub>2</sub> und C<sub>35</sub> inklusive *n*-Alkoholen und *n*-Carbonsäuren beobachtet. Die Reaktionsprodukte wurden zusätzlich durch Experimente mit <sup>13</sup>C-markierten Reaktanten verifiziert. Die Kohlenstoffquellen Ameisensäure und Oxalsäure brachten dieselben Klassen von Lipiden wie auch dieselben langkettigen Substanzen hervor. Die optimale Temperatur für die Carbonsäurebildung lag bei 300 °C; höhere Temperaturen verringerten die Ausbeute aufgrund von Cracking-Prozessen.<sup>[6]</sup> Tabelle 1 fasst relative Konzentrationen und Bereiche der Kohlenstoffzahl von Carbonsäuren zusammen, die durch Fischer-Tropsch-Reaktionen in wässriger Phase bei verschiedenen Temperaturen erhalten wurden.

Werte des Kohlenstoff-Präferenz-Indexes (KPI) variieren zwischen 0.95 und 1.15 und zeigen somit keine Dominanz bestimmter Kohlenstoffzahlen. KPI-Werte nahe eins belegen, dass das Kettenwachstum durch C<sub>1</sub>-Kohlenstoffeinheiten erfolgt. Die Fischer-Tropsch-Reaktion in wässriger Phase wird somit durch die Transformation von Oxalsäure in C<sub>1</sub>-Kohlenstoffeinheiten wie CO eingeleitet, gefolgt von der CO-Insertion in das terminale Ende der wachsenden Carbonsäure, und führt daher nach einer Reduktion zu einer homologen Serie von Carbonsäuren.<sup>[6]</sup> Dieser Mechanismus unterscheidet sich von der klassischen industriellen Fischer-Tropsch-Synthese, bei der das Wachstum der Kohlenwasserstoffkette durch die Reaktion von CO/CO<sub>2</sub> mit H<sub>2</sub> in der Gasphase durch oberflächenkatalysierte, schrittweise Poly-

merisation von Methylen erfolgt.<sup>[5,6]</sup> Außer amphiphilen Molekülen wurden auch geradkettige Alkohole, Alkylformate, Aldehyde, Ketone, Alkane und Alkene als Produkte der Fischer-Tropsch-Reaktion in wässriger Phase identifiziert. Methylalkane wurden bei *T* > 250 °C nachgewiesen, und ihre maximale Konzentration lag bei 350 °C. Aufgrund des beschriebenen hydrothermalen Fischer-Tropsch-Synthesemechanismus in wässriger Phase haben die identifizierten Moleküle eine lineare Struktur, und es bilden sich lediglich kleine Mengen an verzweigten und cyclischen Kohlenwasserstoffen.<sup>[5]</sup> Über eine Bildung von Carbonsäuren mit verzweigtem Kohlenstoffgerüst wurde nicht berichtet.

Die Synthese amphiphiler Moleküle unter hydrothermalen Bedingungen wurde von Hazen und Deamer gezeigt,<sup>[7]</sup> die Brenztraubensäure (die auch unter hydrothermalen Bedingungen synthetisiert werden kann) hydrothermalen Prozessen aussetzten. Die chemische Analyse und spezifische Oberflächentests der Produkte ergaben Kettenlängen zwischen 2 und 18 Kohlenstoffatomen, und die Produkte dispergierten in eine große Zahl sphärischer Strukturen von mikroskopischer Größe mit internen Bereichen, die durch Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen werden konnten. Die entstandenen Produkte ordneten sich selbst zu Vesikeln an.

Interessanterweise ging die Synthese der amphiphilen Lipide unter simulierten präbiotischen hydrothermalen Bedingungen schnell vonstatten.<sup>[8]</sup> Es wurde angenommen, dass die Akkumulation amphiphiler Lipide im wässrigen Milieu nicht nur zu Micellen, sondern auch zu membranähnlichen Vesikeln führen kann und somit Vorstufensubstrate für Protzellen zur Verfügung stellt,<sup>[5,6]</sup> wie wir in den folgenden Abschnitten ausführen werden.

Die Hypothese zum Ursprung lebender Zellen auf Basis der Fischer-Tropsch-Synthese in wässriger Phase fand große Aufmerksamkeit, da sich die Hinweise verdichteten, dass frühe Formen des Lebens aus hyperthermophilen Organismen bestanden, die sich in geothermalen Regionen wie hydrothermalen Vulkanen entwickelten. Diese Meinung wird allerdings nicht von allen Forschern geteilt.<sup>[9]</sup> Von heutigen hyperthermophilen Organismen auf die molekulare Architektur der ersten zellähnlichen Vesikel zurückzuschließen (zuweilen als Top-down-Ansatz bezeichnet) ist problematisch, denn heutige hyperthermophile Organismen enthalten hoch spezialisierte, durch enzymatische Mechanismen hergestellte Lipide, und es ist anzunehmen, dass diese Lipide im Laufe der Entwicklung durch evolutionäre Anpassung entstanden sind, und nicht als molekulares Fossil frühen Lebens anzusehen sind.<sup>[10]</sup>

## 2.2. Interplanetare und interstellare Synthese amphiphiler Moleküle

Auch extraterrestrisches Material, mit dem die frühe Erde in Kontakt kam, wird als Quelle Doppelschichten bildender Amphiphile in Erwägung gezogen. Außer Aminosäuren<sup>[11–13]</sup> und Vorstufen biologischer Cofaktoren<sup>[14]</sup>

**Tabelle 1:** Bereiche der Kohlenstoffzahl von Carbonsäuren als Produkte von Fischer-Tropsch-Synthesen in wässriger Phase bei verschiedenen Temperaturen.<sup>[6]</sup>

	100 °C	150 °C	200 °C	250 °C	300 °C	350 °C	400 °C
Bereich	7–9	7–22	7–13	7–16	7–18	7–13	7–18
C <sub>max</sub> <sup>[a]</sup>	7	7	9	7	7	7	8
rel. Konzentration <sup>[b]</sup>	–	7	7	8	20	6	4
KPI <sup>[c]</sup>	–	0.98	1.14	1.15	1.05	1.07	0.95

[a] C<sub>max</sub> = Kohlenstoffzahl der häufigsten Carbonsäure. [b] In µg pro 100 µg Extrakt. [c] KPI =  $\Sigma(C_9 + C_{11} + C_{13} + C_{15} + C_{17} + C_{19} + C_{21} + C_{23}) / \Sigma(C_8 + C_{10} + C_{12} + C_{14} + C_{16} + C_{18} + C_{20} + C_{22})$ .

wurden auch amphiphile Moleküle mit acht und mehr Kohlenstoffatomen in simuliertem präkometärem Eis nachgewiesen.<sup>[15]</sup> Präkometäres Eis kann im Labor in Hochvakuumkammern produziert werden, in denen eine interstellare Umgebung hinsichtlich Temperatur, Druck, Vakuumultraviolett- oder Protonenstrahlung simuliert wird und Moleküle aus der Gasphase über mehrere Tage auf einer definierten Oberfläche kondensieren. Einige Milligramm simulierten präkometären Eises können nach chemischer Analyse wertvolle Informationen über das primitive Material, aus dem sich das Sonnensystem bildete, liefern. Der Eintrag extraterrestrischen Materials – so lautet die Hypothese – bereicherte das organische Inventar der frühen Erde und gab den Anstoß zur Entstehung des Lebens. Moleküle, die in Proben von simuliertem präkometärem Eis identifiziert wurden, könnten eine entscheidende Rolle in der präbiotischen Chemie inklusive der Entstehung erster zellähnlicher Vesikel gespielt haben.

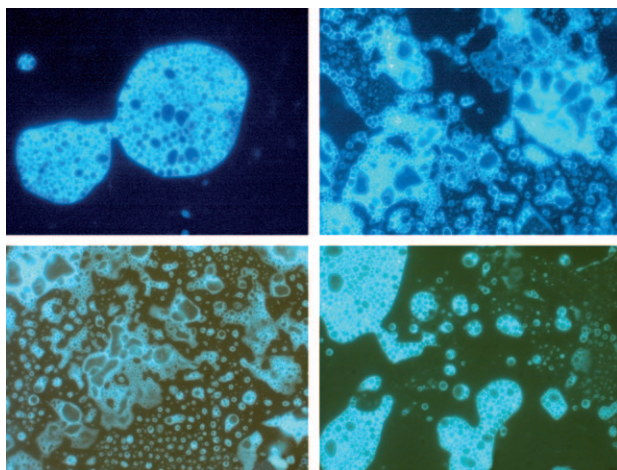
Nach der Extraktion von Proben simulierten präkometären Eises mit Methanol/Chloroform wurde die Mischung extrahierter Moleküle auf einen Objektträger gegeben, getrocknet und mit alkalischem Natriumphosphatpuffer versetzt, um einen pH-Wert von 8.5 einzustellen. Die hier beschriebenen Bedingungen sind identisch zu denjenigen,<sup>[16]</sup> unter denen organische Verbindungen aus einem kohlenstoffhaltigen Meteoriten extrahiert worden waren, und die eine große Zahl selbstorganisierter Strukturen hervorbrachten.<sup>[15]</sup> Die produzierten Moleküle organisierten sich, wie in Abbildung 1 dargestellt, zu wasserunlöslichen Tröpfchen ( $\leq 50 \mu\text{m}$  im Durchmesser) und einem Schaum in verschiedenen Formen. Dworkin et al. folgerten aus physikochemischen Messungen, dass amphiphile Moleküle im Extrakt zugegen sind und dass deren lipophile Kette mindestens acht Kohlenstoffatome enthält.<sup>[15]</sup> Weiterführende Experimente

mit einem eingeschlossenen Farbstoff bestätigten, dass sich die amphiphilen Komponenten der Tropfen zu Membranvesikeln mit definierten Innenräumen anordneten.<sup>[15]</sup>

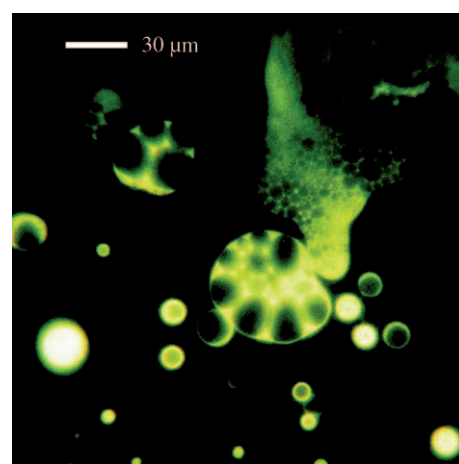
### 2.3. Identifizierung amphiphiler Moleküle in kohlenstoffhaltigen Meteoriten

Seit langem werden funktionelle organische Moleküle aus dem kohlenstoffhaltigen Meteoriten Murchison extrahiert. Dieser Meteorit zählt zu den Meteoriten vom CM2-Typ, die dafür bekannt sind, dass sie bis zu einigen Prozent ihrer Masse aus organischem Kohlenstoff bestehen. Der Meteorit hat eine komplexe Geschichte und ist sicherlich nicht von der gleichen chemischen Zusammensetzung wie das in Abschnitt 2.2 präsentierte, simulierte präkometäre Eis; allerdings wurden im Murchison-Meteoriten enantiomerenangereicherte Aminosäuren,<sup>[13, 18–20]</sup> chirale und achirale Diaminosäuren,<sup>[21]</sup> Nucleinbasen,<sup>[22–23]</sup> amphiphile Moleküle und auch bolaamphiphile Dicarbonsäuren<sup>[24]</sup> identifiziert. Chloroform/Methanol-Extrakte einer Probe des Meteoriten zeigten, dass sich Vesikel bilden, sobald der organische Extrakt mit Phosphatpuffer versetzt wird. Um zu bestimmen, ob die extrahierten amphiphilen Moleküle zu Vesikeln mit definierten Innenräumen aggregieren, versetzten Dworkin et al. einen Extrakt des Murchison-Meteoriten über einen Standard-Dehydrierungs/Rehydrierungs-Zyklus<sup>[25]</sup> (siehe Abschnitt 4.1) mit einem hydrophilen Pyraninfarbstoff.<sup>[15]</sup> Wie in Abbildung 2 gezeigt, bilden sich außer Öltröpfchen und anderen Formen mikrometergroße Vesikel, die den fluoreszierenden Pyraninfarbstoff in ihrem Innenraum einschließen. Da Extrakte des Murchison-Meteoriten nur in begrenzter Menge zur Verfügung stehen, konnte die chemische Zusammensetzung der membranbildenden amphiphilen Moleküle in dieser Studie nicht bestimmt werden.<sup>[10]</sup>

Arbeiten von Pizzarello et al. unter Anwendung von Festphasen-Mikroextraktionsverfahren (SPME) offenbarten,



**Abbildung 1.** Extrahierte Tropfen von simuliertem präkometärem Eis, aufgenommen bei pH 8.5 mit einem Fluoreszenzmikroskop bei 100-facher Vergrößerung. Das präkometäre Eis wurde durch 0.8-MeV-Protonenbestrahlung von amorphem Eis aus  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{NH}_3$  und CO (100:50:1:1) bei 15 K in einer Hochvakuumkammer simuliert.<sup>[17]</sup> Als Gaszusammensetzung wurde eine Mischung gewählt, die in Zusammensetzung und Konzentrationen die Hauptkomponenten interstellaren Eises wiedergibt. Die vier Aufnahmen wurden mit verschiedenen Filtern gemacht und zeigen unterschiedliche Bereiche des Extrakts.



**Abbildung 2.** Verbindungen eines Meteoriten in neuem Licht: Vesikel aus dem Extrakt des Murchison-Meteoriten schließen den zugefügten Pyranin-Farbstoff ein; die Vesikel enthalten einen  $\mu\text{m}$ -großen Innenraum. Weiterhin sind auch Öltröpfchen und inverse Emulsionen sichtbar.<sup>[15]</sup> Copyright (2001) National Academy of Sciences, U.S.A.



dass Monocarbonsäuren mit geringem Molekulargewicht die größte Fraktion der wasserlöslichen organischen Verbindungen im Murchison-Meteoriten und in anderen kohlenstoffhaltigen Meteoriten stellen.<sup>[26]</sup> Mehr als 50 Monocarbonsäuren wurden in einer 11,3 g schweren Probe aus dem Inneren des Murchison-Meteoriten identifiziert, und zwar in Mengen, die um den Faktor 10–100 größer sind als die von Aminosäuren. Die elementspezifische Isotopenanalyse mithilfe eines Isotopenverhältnis-Gaschromatographen inklusive Verbrennungskammer (GC-c-IRMS) lieferte neue Möglichkeiten, um den Ursprung und die Entstehungsmechanismen organischer Verbindungen in Meteoriten besser zu verstehen. Derartige Messungen zeigten  $\delta(\text{D})$ - und  $\delta(^{13}\text{C})$ -Werte, die einen interstellaren Ursprung der amphiphilen Moleküle bestätigen.<sup>[26]</sup> Außer geradkettigen Monocarbonsäuren mit Kettenlängen bis zu  $\text{C}_{10}$  wurde auch eine große Vielfalt von zufällig substituierten, verzweigten Monocarbonsäuren identifiziert. Diese komplexe Mischung verzweigter Monocarbonsäuren ist vermutlich durch exotherme, thermodynamisch begünstigte interstellare Radikalreaktionen in der Gasphase entstanden, die zwischen 10 und 100 K ablaufen. Vor mehr als 30 Jahren wurden durch vergleichsweise primitive analytische Studien 18 Monocarbonsäuren in den Murray- und Murchison-Meteoriten nachgewiesen, die mit den später von Pizzarello et al. identifizierten molekularen Hauptbestandteilen identisch sind.<sup>[27]</sup>

Bereits 1989 wurden in Extrakten aus dem Inneren einer 90 g schweren Probe des Murchison-Meteoriten Hinweise auf eine Oberflächenaktivität gefunden, bei der sich sowohl monomolekulare Filme an Luft-Wasser-Grenzflächen als auch Vesikel mit eingeschlossenen polaren Lösungsmitteln bildeten.<sup>[16]</sup> Damit war belegt, dass sich Amphiphile aus dem Murchison-Meteoriten als extrahierte Moleküle chemisch identifizieren lassen. Die amphiphilen Moleküle zeigten Lipid-ähnliches Verhalten und Selbstorganisation in Vesikeln. Die Befunde legten nahe, dass extraterrestrisches Material eine größere Bandbreite chemischer Eigenschaften und Verhaltensweisen hat, als zuvor angenommen.<sup>[15]</sup> Amphiphile Moleküle können auf Oberflächen von Planeten wie der frühen Erde niedergegangen sein, wo sie sich dann mit endogenen, auf dem Planeten synthetisierten Verbindungen mischten.<sup>[10]</sup>

In Szenarien zur Entstehung des Lebens finden Fettsäurevesikel besondere Beachtung, denn sie sind (im Unterschied zu den Phospholipiden heutiger Zellen) einfache Versionen amphiphiler Moleküle. Wir schlussfolgern, dass Fettsäuren und andere amphiphile Moleküle aus kohlenstoffhaltigen Meteoriten zu einem membranbildenden Selbstorganisationsprozess beitragen können, ebenso wie solche Fettsäuren, die durch Fischer-Tropsch-Synthese in wässriger Phase entstanden sind.<sup>[28]</sup>

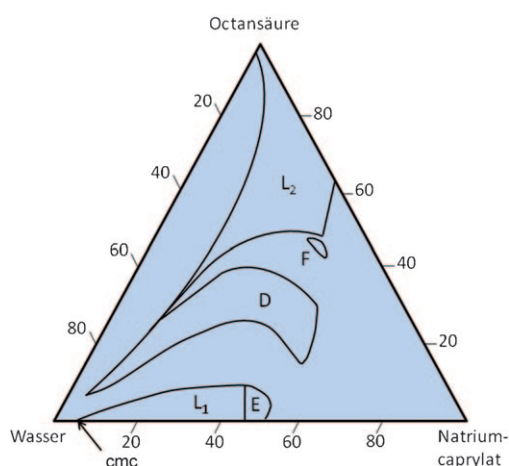
#### 2.4. Der Entwurf der ersten Zelle: Selbstorganisation von Amphiphilen zu zellähnlichen Vesikeln

Amphiphile Moleküle, die eine gesättigte Kohlenwasserstoffkette und eine polare Kopfgruppe enthalten, können sich im wässrigen Milieu in Abhängigkeit von der Konzentration,

Kettenlänge und Kopfgruppe sowie von Parametern wie der Temperatur, Gegenionen und dem pH-Wert in Form verschiedener Phasen anordnen. Amphiphile Moleküle, wie mittel- und langkettige Monocarbonsäuren, Alkohole, Amine, Alkylphosphate und Alkylsulfate,<sup>[1]</sup> sowie organisch-anorganische Nanopartikel-Hybridssysteme<sup>[29,30]</sup> bilden sphärische Micellen typischerweise oberhalb der Krafft-Temperatur<sup>[31]</sup> und oberhalb der kritischen Micellbildungskonzentration (cmc). Diese amphiphilen Moleküle bilden oberhalb einer kritischen Konzentration (cvc, zuweilen cbc) Doppelschichten und Vesikel,<sup>[32,33]</sup> die wiederum in einem schnellen dynamischen Gleichgewicht mit einzelnen amphiphilen Molekülen und Micellen stehen. Wir weisen darauf hin, dass die cvc gewöhnlich deutlich höher liegt als die cmc. Außer Vesikeln und Micellen sind in der wässrigen Phase immer auch freie (d.h. nicht in Vesikeln oder Micellen eingebundene) amphiphile Moleküle zugegen.<sup>[33]</sup>

Lipid-Vesikel, die auch als Liposomen (genau genommen sind Liposomen aus Lipiden hergestellte Vesikel)<sup>[34]</sup> und oft auch einfach als Vesikel bezeichnet werden,<sup>[35]</sup> sind quasi-sphärische Schalen aus Doppelschicht-Lipiden, die eine wässrige Phase einkapseln.<sup>[36–38]</sup> Unilamellare und multilamellare Vesikel bilden sich aus einer Dispersion amphiphiler Moleküle (oder Mischungen davon), die sich im wässrigen Milieu in eine lamellare Phase anordnen. Diese quasi-sphärischen supramolekularen Strukturen sind aus einigen Tausend bis einigen Millionen Molekülen aufgebaut,<sup>[1]</sup> und ihre Durchmesser variieren zwischen 20 nm und 100  $\mu\text{m}$ .<sup>[2]</sup> Infolge ihrer Strukturähnlichkeit zu einer Zellmembran werden unilamellare Vesikel als deren Vorstufen angesehen.<sup>[2]</sup> Sie werden auch als „Protobionts“, „Probiotics“,<sup>[39]</sup> „Protozellen“<sup>[40]</sup> und „Progenotes“,<sup>[41,42]</sup> ambitioniert auch als „künstliche Zellen“<sup>[43]</sup> bezeichnet. Es wird allgemein angenommen, dass diese Vorstufen einfacher als erste Zellen waren, möglicherweise deutlich kleiner als die kleinsten Bakterien.<sup>[43]</sup>

In Abbildung 3 ist das vereinfachte tertiäre Phasendiagramm für das Natriumcaprylat-Octansäure-Wasser-System wiedergegeben.<sup>[44]</sup> Lamellare Strukturen und infolgedessen Vesikel bilden sich in Region D, d.h., wenn sowohl Natriumcaprylat als auch Octansäure zugegen sind. Amphiphile Carbonsäuren mit einer Kohlenwasserstoffkette aggregieren zu Vesikeln, wenn die anionische und die protonierte, nicht-ionische Form in gleichen Teilen vorliegen,<sup>[33]</sup> also typischerweise bei einem pH-Wert innerhalb der Vesikel nahe dem  $\text{pK}_\text{s}$ -Wert der Carbonsäure.<sup>[28]</sup> Es wurde vorgeschlagen, dass die Bildung intermolekularer Wasserstoffbrücken zwischen protonierten und ionischen Carboxylaten die Ursache für die Stabilität von Carbonsäurevesikeln ist.<sup>[45,46]</sup> Grund ist die Verringerung der elektrostatischen Abstoßung benachbarter Kopfgruppen. Die Stabilität von Aggregaten aus amphiphilen Molekülen, die durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden, wurde durch Messungen an protonierten und ionischen Carboxylat-Clustern in der Gasphase bestätigt.<sup>[47]</sup> Vesikelmembranen sind in dem pH-Bereich stabil, in dem protonierte und nichtprotonierte Formen koexistieren. Bei höheren pH-Werten bilden sich Micellen, bei geringeren pH-Werten kondensieren Öltröpfchen.<sup>[32,46,48]</sup> Bei Raumtemperatur bildet 85 mM Nonansäure (Pelargonsäure) beispielsweise stabile Vesikel bei pH 7, was dem  $\text{pK}_\text{s}$ -Wert der No-



**Abbildung 3.** Tertiäres Phasendiagramm des Natriumcaprylat-Octansäure-Wasser-Systems bei 20°C, angegeben in Gew.-%. Der Bereich der isotropen Lösung  $L_1$  repräsentiert eine wässrige Lösung, der Bereich der isotropen Lösung  $L_2$  die Lösung von Natriumcaprylat in Wasser und Octansäure. E und F (die flüssig-kristallinen, zweidimensionalen und hexagonalen Phasenbereiche) sind normal bzw. invers. Der lamellare flüssigkristalline Bereich D liegt im Zentrum des Phasendiagramms. Das Phasendiagramm ähnelt stark denjenigen von längerkettigen Carbonsäuren und auch von Kaliumcarboxylat-Carbonsäure-Wasser-Systemen.<sup>[44]</sup>

nansäure in der Doppelschicht entspricht.<sup>[10]</sup> Wir weisen den Leser abermals darauf hin, dass diese Konzentrationen deutlich höher sind als die mikromolaren Konzentrationen, bei denen diverse in heutigen Organismen existierende Phospholipide Vesikel bilden. Unterhalb von pH 6 ist die Carboxygruppe der Nonansäure protoniert, was die Vesikel destabilisiert. Oberhalb von pH 8 mangelt es an protonierten Carboxylaten; infolgedessen gehen die Vesikel verloren, und es bilden sich Micellen.

Die Zugabe von weiteren Amphiphilen, z. B. lipophilen Alkoholen<sup>[32]</sup> und Glyceriden von Fettsäuren,<sup>[49]</sup> führte zu einer Stabilisierung der Fettsäurevesikel in einem breiteren pH-Bereich, selbst in Gegenwart zweiwertiger Kationen. Die Zugabe kleiner Mengen von Nonanol zum oben beschriebenen Nonansäuresystem führte zur Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen Hydroxy- und Carboxygruppen. Dadurch wurden die Vesikel bereits bei niedrigeren Konzentrationen von etwa 20 mM gebildet und waren bei pH 6–11 haltbar, was eine Stabilisierung im alkalischen Bereich bedeutet.<sup>[32]</sup> Auch wenn das Vesikelmembran-stabilisierende System deutlich komplexer ist und Van-der-Waals-Bindungen zwischen den Kohlenwasserstoffketten, hydrophobe Wechselwirkungen sowie Lösungsmittelleffekte umfasst, stützt diese Beobachtung doch die Annahme, dass die Stabilität von Doppelschichtmembranen durch pH-gesteuerte Wasserstoffbrücken benachbarter Kopfgruppen steigt. Eine weitere Stabilisierung von Vesikeln im alkalischen pH-Bereich wurde von Namani und Deamer<sup>[28]</sup> für das Decylamin-Decansäure-System beschrieben, in dem Decylamin als Wasserstoffbrückendonator fungiert. Der pH-Bereich zur Vesikelbildung kann auch ins saure Milieu verlagert werden, indem ein Tensid wie Natriumdodecylbenzolsulfonat (SDBS) zu Decansäure<sup>[33]</sup> oder zusätzliches Decylamin zum Decylamin-Decansäure-System

gegeben wird, wo Decylamin im sauren pH-Bereich als Wasserstoffbrückendonator wirkt.<sup>[28]</sup>

Die Doppelschichtstruktur unstabiler gesättigter Fettsäuren ist labil gegen zweiwertige Kationen wie  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  und  $Fe^{2+}$ . Durch Zugabe von Alkylaminen, z. B. von Decylamin zu Decansäure, bilden sich Doppelschichten, die gegen zweiwertige Kationen in einer Konzentration bis 0.1 M stabil bleiben.<sup>[28]</sup> Dies ist eine wichtige Beobachtung, denn katalytisch wirkende Ribonucleinsäuren erfordern gewöhnlich signifikante Konzentrationen von  $Mg^{2+}$ . Chen et al. beschrieben eine katalytische RNA im Inneren eines Vesikels aus Myristoleinsäure ((Z)-9-Tetradecensäure) und Glycerolmonoester. Das Vesikel blieb bei Konzentrationen zweiwertiger Kationen wie  $Mg^{2+}$  stabil, die eine RNA-Katalyse ermöglichten.<sup>[50]</sup>

Mit zunehmender Länge der lipophilen Kohlenwasserstoffkette nehmen cmc und cvc ab, und die Vesikelstabilität nimmt zu.<sup>[10]</sup> So bilden auch gesättigte Monoalkylcarbonsäuren von Kettenlängen ab  $C_{13}$  Doppelschichten, jedoch nur sofern ihr Kohlenwasserstoffbereich in fluiden Phase bleibt, d. h. oberhalb der Temperatur des Kristall-Flüssigkristall-Phasenübergangs.<sup>[28]</sup>

Wir folgern, dass sich amphiphile Moleküle durch Bildung hydrophober, Van-der-Waals- und Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen zwischen benachbarten Kopfgruppen über einen weiten pH-Bereich hinweg in Form von Membranen und Vesikeln anordnen können.<sup>[46]</sup> Die Vesikel können dabei durch Zugabe von Alkoholen, Aminen und selbst polyaromatischen Kohlenwasserstoffen stabilisiert werden. Weitere Forschungen an Vesikeln sollten sich daher auf Mischungen amphiphiler Moleküle und ihre Reaktion auf verschiedene chemische und physikalische Stimuli konzentrieren.

### 3. Divide et impera: Wachstum und Teilung primitiver Zellen

Sobald sich zellähnliche Vesikel durch Selbstorganisation amphiphiler Moleküle zu sphärischen Doppelschichten aggregieren, ist zu beobachten, dass diese Vesikel unter physikalischen und chemischen Bedingungen, die sich im Labor einfach einstellen lassen, weiter wachsen und sich teilen. Das kontrollierte Wachstum primitiver, zellähnlicher, aus Fettsäuren bestehender Vesikel erfolgte durch Aufnahme zusätzlicher Fettsäuren, die dem externen Medium in Form von amphiphilen Molekülen oder Micellen langsam hinzugefügt wurden.<sup>[35,51–53]</sup> Dieses Phänomen ist nicht überraschend und wird durch das lyotrope Phasenverhalten der Fettsäure in Wasser verursacht. Der Wachstumsprozess geht vonstatten, solange die Konzentration der Fettsäure im Konzentrationsbereich der in Abbildung 3 gezeigten, lamellaren Region D bleibt. Ein solches Wachstum Zellmembranen-ähnlicher Doppelschichten wird durch das schnelle Gleichgewicht zwischen einzelnen amphiphilen Molekülen, Micellen und Doppelschichten angetrieben, das in der Aufnahme von Amphiphilen und Micellen durch die Doppelschichtstruktur resultiert, einhergehend mit der Verringerung der Micellenkonzentration.

Die einfachsten mechanistischen Modelle für das Wachstum eines Vesikels aus Carbonsäuren bestehen in 1) der direkten Fusion von Micellen mit Vesikeln in einem einzigen Schritt, 2) der Auflösung von Micellen in Carbonsäureeinheiten und deren Einbau in eine vorab gebildete Membran oder 3) der Fusion von Vesikeln.<sup>[48]</sup> Erste Studien zum Mechanismus von Wachstum und Teilung von aus Carbonsäuren aufgebauten Vesikeln wurden von Luisi und Mitarbeitern durchgeführt.<sup>[52]</sup> Walde et al. beschrieben die Zunahme des Durchmessers von Vesikeln aus Ölsäure ((Z)-9-Octadecensäure) und Oleat nach einem Konzentrationsanstieg amphiphiler Moleküle in der sphärischen Umgebung der Vesikel.<sup>[52]</sup> Die beobachtete Zunahme der Vesikelgröße und -zahl wurde als autopoietische Selbstreproduktion bezeichnet, da der Prozess in der Umgebung der ursprünglichen Vesikel stattfand.<sup>[52,53]</sup>

### 3.1. *Vivat, crescat, floreat: Vesikelwachstum*

Durch Kryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Kryo-TEM) konnte ein Wachstum von Vesikeln nach dem Versetzen mit Fettsäuremicellen nachgewiesen werden.<sup>[35]</sup> Hierfür wurde das wasserlösliche Protein Ferritin, das wegen seines eisenhaltigen Kerns mit Kryo-TEM detektiert werden kann, in die inneren wässrigen Phasen vorab gebildeter Vesikel eingefügt. Man konnte zwischen der Größenverteilung gefüllter (Ferritin enthaltender) und leerer Vesikel unterscheiden. Die Kryo-TEM-Daten über gefrorene Vesikelsuspensionen belegten zum einen das Vesikelwachstum nach dem Versetzen mit frischen oberflächenaktiven Molekülen und zum anderen die Teilung großer Vesikel, die zu einer wachsenden Zahl kleiner Vesikel führte. Allerdings konnte die Kryo-TEM-Methode nicht dazu verwendet werden, das Vesikelwachstum in Echtzeit zu verfolgen.<sup>[48]</sup>

Vor kurzem nutzten Szostak und Mitarbeiter eine innovative Methode unter Verwendung membranlokalisierter FRET-Farbstoffe (FRET = resonanter Fluoreszenzenergietransfer), um zwischen dem Wachstum von Fettsäurevesikeln durch direkte Fusion von Micellen und Vesikeln einerseits sowie durch die Einbindung freier Fettsäuremoleküle in Vesikel andererseits zu unterscheiden. Ein membranlokalisiertes FRET-Donor-Akzeptor-Paar ermöglichte es, während eines kontrollierten Vesikelwachstums durch fein dosierte Zugabe von Micellen das Wachstum der Vesikeloberfläche zu messen. Während Fettsäuremoleküle in die Membran eingelagert wurden, nahm die FRET-Effizienz ab, da auch die Dichte der FRET-Farbstoffe in der Membran sank. Im Unterschied zu früheren Experimenten ermöglichte diese Methode 1) die quantitative Verfolgung des Wachstums vorgelegter Vesikel, selbst bei gleichzeitiger Bildung neuer Vesikel, und 2) Echtzeitmessungen eines kontrollierten Membranwachstums.<sup>[48]</sup> Kinetische Daten zeigten, dass keines der drei zu Beginn von Abschnitt 3 erwähnten, simplen mechanistischen Modelle des Vesikelwachstums tatsächlich gültig ist, weshalb ein neuer Mechanismus vorgeschlagen wurde, der zuvor völlig unerwartete intermediäre Aggregate einschließt. Die Struktur dieser metastabilen intermediären Aggregate konnte jedoch nicht eindeutig bestimmt werden. Als Kandi-

daten gelten Doppelschichtplättchen, körbchenförmige Membranen und zylindrische, lange Micellen. Die Größen dieser heterogenen intermediären Aggregate wurden durch dynamische Lichtstreuung bestimmt, wobei der hydrodynamische Radius mit etwa 45 nm, und damit wesentlich größer als der Radius sphärischer Micellen, angegeben wurde.<sup>[48]</sup>

Eine zeitauflösende Studie zum Übergang von Micellen in Vesikel an einem Phospholipid-Gallensäure-System ergab, dass auch hier intermediäre metastabile Zustände vorkamen, die als zylindrische, wurmartige Micellen beschrieben wurden, die sich wiederum über Scheibchen hin zu Vesikeln entwickelten.<sup>[54]</sup> Membranplättchen und -scheibchen wurden als kurzlebige Strukturen beim Übergang von Micellen in Vesikel auch in einem Modellgallensystem beschrieben.<sup>[55]</sup> körbchenförmige Partikel und offene, teilweise zu Röhrchen gerollte Doppelschichten wurden bei der Entstehung von Vesikeln durch einen Ansatz zur elastischen Biegeenergiebestimmung identifiziert.<sup>[56]</sup> Die spontane Bildung und das Wachstum von Vesikeln in einer micellenhaltigen Lösung wurden zudem durch Kleinwinkel-Neutronenstreuungs-(SANS)-Experimente studiert, wobei zeitliche Auflösungen im Bereich einiger hundert Millisekunden möglich waren. Erhaltene Daten zum Phospholipid-Gallensäure-System zeigten, dass sich vor dem Übergang zu Vesikeln zylindrische Micellen bilden.<sup>[57]</sup> Für das Natriumbis(2-ethylhexyl)sulfosuccinat(AOT)-System wurde gefunden, dass die erforderliche Micellenzahl zur Bildung eines Vesikels 25–50 beträgt.<sup>[58]</sup> Auch Kryo-TEM-Studien zum Phasenverhalten des inversen Übergangs von Vesikeln zu Micellen zeigten nach der Auflösung von Phospholipidvesikeln hin zu oberflächenaktiven Molekülen, dass sich nicht nur sphärische, sondern auch zylindrische, lange Micellen als intermediäre Nanostrukturen bilden.<sup>[59]</sup> Die hier vorgestellten vesikulären Phospholipid- und AOT-Systeme verhalten sich allerdings anders als die zuvor genannten Fettsäuresysteme.

Die Bildung von Vesikeln kann auch durch Mineralien ausgelöst werden. Montmorillonit<sup>[43]</sup> sowie verschiedene Mineralien und Oberflächen wie Quarz, Pyrit und Goldnanostrukturen<sup>[60]</sup> beschleunigen den Übergang von Fettsäuremicellen in Vesikel aus Doppelschichtmembranen. Selbst Siliciumoxidpartikel von 6 nm Durchmesser, und damit kleiner als das kleinstmögliche Vesikel, förderten die Vesikelbildung. Wahrscheinlich ging der Vesikelbildung die Bildung kleiner Membranplättchen voraus, die an ihren Kanten unabhängig und abgelöst von den Siliciumoxidkügelchen weiterwuchsen. Diese Art oberflächenunterstützter Vesikelbildung wurde in Echtzeit studiert und ermöglichte es, die Bildung von Vesikeln zu beobachten, die sich von Mikrosphären ablösten, unmittelbar nachdem Micellen der wässrigen Phase hinzugefügt worden waren.<sup>[60]</sup> Die Autoren nahmen an, dass eine Kationenschicht an der Montmorillonit-Oberfläche negativ geladene Micellen sowie freie Fettsäuremoleküle anzog, was deren Konzentration lokal erhöhte und ihre Aggregation zu Doppelschichtmembranen vereinfachte.<sup>[51]</sup>

Chen et al. demonstrierten, dass sich das Wachstum von Fettsäurevesikeln sowie die potenzielle Entwicklung selbstreplizierender Systeme im Innern der Vesikel über den osmotischen Druck steuern lässt.<sup>[61]</sup> Einströmende Monomere wurden durch intravesikuläre Polymerisierung zu RNA im



Innern der Vesikel fixiert, was den osmotischen Druck erhöhte und das Vesikelwachstum förderte. Eine effizientere RNA-Replikation führte in dieser Studie zu einem schnelleren Vesikelwachstum.<sup>[61]</sup>

### 3.2. Dynamische Eigenschaften von Vesikeln

Im Unterschied zu Micellen werden Membranvesikel als Systeme fernab des chemischen Gleichgewichts beschrieben. Sie sind thermodynamisch instabil und erfordern Energie zu ihrer Bildung.<sup>[34]</sup> In jüngster Zeit fand die Tatsache besondere Beachtung, dass Nichtgleichgewichtsstrukturen auf allen Ebenen biologischer Systeme auftreten; wie es Kondepudi und Prigonié ausdrückten: „Wir können die Natur um uns herum nicht beschreiben, ohne auf Nichtgleichgewichtssituationen einzugehen“.<sup>[62]</sup> In diesem Zusammenhang wurde gezeigt, dass Populationen unterschiedlich großer Vesikel einige Tage lang in derselben Lösung koexistieren können, ohne mit der anderen Population zu fusionieren. Die verschiedenen Vesikelgrößen entsprechen Energieminima, allerdings wurde nach ihrer Mischung keine Tendenz zur Entwicklung einer homogenen Größenverteilung festgestellt. Es wurde hingegen beobachtet, dass sich die individuellen amphiphilen Moleküle im lokalen Gleichgewicht mit der vesikulären Struktur befinden. Luisi und Cheng folgerten, dass zwei Vesikelpopulationen verschiedener Größenverteilungen nicht nur koexistieren, sondern – bedingt durch höhere Aufnahmezeiten amphiphiler Monomere aus der umgebenden Lösung durch größere Vesikel – miteinander konkurrieren, z. B. um die Aufnahme von Reagentien.<sup>[34]</sup>

Aus Fettsäuren, Fettalkoholen und Glyceriden von Fettsäuren aufgebaute Vesikel sind thermisch stabil und können ihren molekularen Inhalt bis zu Temperaturen über 80 °C bewahren.<sup>[63]</sup> Doppelschichtvesikel sind dynamische Systeme, und einzelne Moleküle können leicht in die vesikuläre Struktur aufgenommen oder aus dieser abgegeben werden. Fettsäuren in einer Doppelschichtmembran befinden sich in schnellem Austausch mit Fettsäuren aus der wässrigen Umgebung. Amphiphile Monomere können zudem zwischen den beiden Schichten eines Vesikels wechseln.<sup>[1]</sup> Es wurde beobachtet, dass sie sich von der äußeren in die innere Schicht bewegen und umgekehrt.<sup>[64]</sup> Dieses Verhalten wird für die Nährstoffaufnahme zellähnlicher Vesikel durch Doppelschichtmembranen und die Abgabe von Metaboliten wichtig sein.

### 3.3. Eine neue Generation von Zellen: kontrollierte Vesikelteilung

In Abwesenheit der komplexen Maschinerie, die die Teilung moderner Zellen steuert,<sup>[65–66]</sup> muss die Teilung wachsender Vesikel auf intrinsischen Eigenschaften der Vesikel und auf physikochemischen Kräften der Umgebung beruhen.<sup>[46]</sup> In Forschung und Entwicklung, wo Vesikel als Modellmembranen genutzt werden, sowie in der Pharmazie, wo Vesikel als Nanobehälter für den Wirkstofftransport Anwendung finden,<sup>[67]</sup> werden Vesikel meistens durch die Extrusion von Vesikelsuspensionen durch kleinporige Filter

hergestellt. Zu seiner „Teilung“ tritt ein Vesikel unter Druck in eine Membranpore, nimmt eine zylindrische Form an und fragmentiert in kleinere Vesikel, mit einem Durchmesser ähnlich dem Porendurchmesser, der vom Verhältnis aus Vesikelgröße und Porendurchmesser abhängt.<sup>[37]</sup> Zwar findet die Extrusionsmethode breite Anwendung, jedoch bleibt der Mechanismus, unter dem die anfänglichen Vesikel aufbrechen und kleine Vesikel bilden, weiter ungeklärt.<sup>[37–38]</sup>

Szostaks Gruppe unterscheidet zwischen zwei Mechanismen zur Vesikelteilung: 1) Das Vesikel wird in kleine Membranfragmente zerbrochen, die sich zu einer neuen Generation kleinerer Vesikel zusammenfügen; 2) kleine Vesikel werden abgeschnürt, was den molekularen Inhalt des ursprünglichen Vesikels nur unwesentlich verdünnt.<sup>[51]</sup> Der Fluoreszenzfarbstoff Calcein wurde in Myristoleinolat-Vesikel von 90 nm Größe eingeführt, die man durch langsame Micellenzugabe auf eine Größe von 140 nm anwachsen ließ. Die Calcein-haltigen Vesikel wurden durch Poren mit einem Durchmesser von 100 nm gepresst, sodass Vesikel eines mittleren Durchmessers von 88 nm erhalten wurden. Es wurde gezeigt, dass während der Extrusion 55 % des Farbstoffs aus den Vesikeln verloren gingen.<sup>[51]</sup> Die Befunde belegen, dass die Teilung der Myristoleinolat-Vesikel mit einem nur geringfügig größeren Farbstoffverlust einhergeht als jenem, der nach Bildung zweier Tochterkugeln aus einer großen Kugel zu erwarten wäre.

In weiterführenden Studien wiederholten Szostak et al. Zyklen von Wachstum und Teilung, indem eine Population von durch Poren gepressten Myristoleinolat-Vesikeln durch Zugabe von Myristoleinolat-Micellen „gefüllt“ und anschließend durch Extrusion wieder geteilt wurde.<sup>[51]</sup> Die Menge an eingekapseltem Calcein wurde nach jeder Wachstums- und Extrusionsperiode kontrolliert. Wie erwartet, ging während der fünf Wachstumsphasen kaum Farbstoff verloren, wogegen nach jeder Extrusionsphase 40 % des Calceins eingebüßt wurden. Diese Experimente gelten als prinzipieller Beweis, dass Vesikelwachstum und -teilung durch einfache physikochemische Kräfte hervorgerufen werden können, ohne dass eine komplexe biochemische Maschinerie erforderlich ist.<sup>[51]</sup> Des Weiteren können auch Scherkräfte die Teilung von Vesikeln auslösen.<sup>[46]</sup>

Interessanterweise ist bei Zugabe kleiner Mengen von Fettsäuren zu vorab gebildeten Vesikeln die endgültige Größenverteilung der entstehenden Vesikel ähnlich zu derjenigen der ursprünglichen Vesikel. Dieses Phänomen wurde als „Matrix-Effekt“ bezeichnet.<sup>[68,69]</sup> Diese Studien regten Forschungen zur Verteilung der amphiphilen Moleküle in gemischten Phospholipid-Oleat-Vesikeln und deren Einfluss auf die Größenverteilung neu gebildeter unilamellarer Vesikel an. Die Regulierung der Größenverteilung neu gebildeter Vesikel hing von der Menge des Oleats in den vorab gebildeten Vesikeln ab.<sup>[70]</sup>

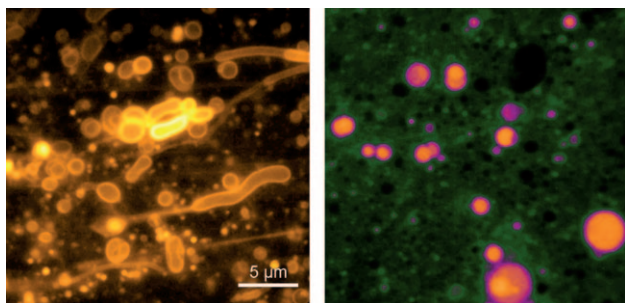
2008 wurde ein Szenario vorgestellt, in dem das Kopieren einer molekularen Matrize im Innern eines zellähnlichen Vesikels, gefolgt von der zufälligen Segregation des replizierten genetischen Materials, zur Bildung von Tochter-Protozellen führte (siehe Abschnitt 5).<sup>[64]</sup>

## 4. Hin zur Dynamik des Lebens: Nährstoffaufnahme durch Doppelschichtmembranen

### 4.1. Einkapselung während der Vesikelbildung durch Dehydratisierung/Rehydratisierung

Die Integration funktioneller chemischer Systeme in die innere wässrige Phase von Vesikeln ist eine zentrale Aufgabe der Biophysik.<sup>[43]</sup> Die Dehydratisierung/Rehydratisierung ist eine der effizientesten Einkapselungsmethoden und ermöglicht die Einführung von Nährstoffen und funktionellen Molekülen ins Vesikelinnere während der Vesikelbildung. Ein solcher Prozess kann durchaus die Bildung zellähnlicher Vesikel auf der frühen Erde ausgelöst haben.

Vesikel aus einer Decansäure-Decanol-Mischung können eine Vielzahl organischer Makromoleküle, darunter Fluoreszenzfarbstoffe (Abbildung 4a), einkapseln. Die Bildung von Vesikeln in Gegenwart eines Farbstoffs führte zu dessen Einkapselung. Eine nachfolgende Gelpermeationschromatographie ermöglichte die Trennung der Vesikel von nicht eingekapseltem Farbstoff und damit die Verwendung der farbstoffhaltigen Vesikel für weitere Experimente.<sup>[32]</sup> Nicht nur Farbstoffe, sondern auch Enzyme wie Katalase sowie Oligonucleotide können mithilfe der Dehydratisierung/Rehydratisierung in Fettsäurevesikel eingekapselt werden (Abbildung 4b).<sup>[25,32]</sup>



**Abbildung 4.** Links: mit fluoreszierendem Rhodamin angefarbte Decansäure-Decanol-Vesikel; rechts: 600-mere von DNA, durch Dehydratisierung/Rehydratisierung in Decansäure-Vesikel eingekapselt (Maßstab: 1:1500). Die DNA wurde mit 3,6-Bis(dimethylamino)acridin (Acridinorange), einem nucleinsäureselektiven Farbstoff, angefarbt, um den Kontrast der mikroskopischen Aufnahme zu verstärken. Wiedergabe mit Genehmigung von David Deamer (UC Santa Cruz).

Wie in Abschnitt 3.1 beschrieben, beschleunigt Montmorillonit den Übergang von Fettsäuremicellen in Vesikel. Die durch Oberflächen vermittelte Anordnung zu Doppelschichtmembranen ermöglicht auch die Einkapselung katalytisch aktiver Oberflächen z.B. von Montmorillonit. Durch eine vorangehende Adsorption von RNA an einer Montmorillonit-Oberfläche können zudem RNA-Oligonucleotide in Vesikel eingekapselt werden.<sup>[51]</sup> Die beobachtete Einkapselung mineralischer Partikel in Vesikel übertrug somit das katalytische Potenzial der RNA-markierten mineralischen Oberfläche in das Innere des Vesikels.

Auch photoaktive Halbleiter, wie 20 nm große Titandioxidpartikel, wurden mithilfe der Dehydratisierung/Rehydratisierung in Vesikel eingebracht. Die Partikel behielten

ihre photoaktiven Eigenschaften bei und ermöglichten einfallendem Licht die Induktion photoelektrochemischer Reaktionen, ähnlich der kontemporären Photosynthesereaktion, die für den Ursprung des Lebens gegebenenfalls relevant war.<sup>[71]</sup>

### 4.2. Die statische Löslichkeits-Diffusions-Theorie

Phospholipid-Membranen moderner biologischer Zellen zeigen nur eine limitierte Permeabilität für ionische Nährstoffe wie Aminosäuren, Nucleotide und Phosphate, was sich in niedrigen Permeabilitätskoeffizienten von  $P \approx 10^{-12} \text{ cm s}^{-1}$  widerspiegelt.<sup>[72]</sup> Deamer et al.<sup>[10]</sup> stellten demzufolge die Frage: „Wie mögen frühe Formen zellulären Lebens Zugang zu Nährstofflösungen erhalten haben?“ Wir sind mit der paradoxen Situation konfrontiert, dass die für das Leben erforderlichen, vesikulären Membranen permeabel genug für die Aufnahme von Nährstoffen sein sollten, aber zugleich eine Barriere darstellen sollten, die den Verlust aufgenommener primitiver katalytischer und genetischer Systeme zu verhindern vermag. Ohne eine solche Barriere würden frisch synthetisierte Substanzen in die umgebende Phase diffundieren, wodurch das Potenzial zur Bildung interaktiver chemischer Systeme und zur Artenentstehung verloren ginge.<sup>[73]</sup> Zur Erhöhung der Membranpermeabilität für gelöste Stoffe sollte man Membranen in der fluiden, flüssig-kristallinen Phase anstelle der kristallinen Gelphase verwenden; zudem kann man die Dicke der Membran verringern. Dies lässt sich erreichen, indem die Länge der Seitenketten der lipophilen Gruppen in den amphiphilen, die Membran aufbauenden Molekülen reduziert wird,<sup>[10,74]</sup> indem eine *cis*-Doppelbindung oder Kettenverzweigung eingefügt wird oder indem amphiphile Moleküle mit größeren Kopfgruppen verwendet werden.<sup>[64]</sup>

Verschiedene Mechanismen wurden vorgeschlagen, um die Aufnahme von Nährstoffen durch Doppelschichtmembranen zu beschreiben. Die statische Löslichkeits-Diffusions-Theorie interpretiert die Doppelschichtmembran als eine flüssige Kohlenwasserstoffphase, die zwei wässrige Phasen voneinander trennt. Eindringende Moleküle verteilen sich in die hydrophobe Region, diffundieren hindurch und verlassen die Membran, indem sie sich in der gegenüber gelegenen, wässrigen Phase wieder lösen. Dieser Prozess wird durch den Konzentrationsgradienten angetrieben und ist auch als passiver Diffusionsmechanismus bekannt. Somit können Permeabilitätskoeffizienten berechnet werden, sobald die entsprechenden Verteilungs- und Diffusionskoeffizienten sowie die Dicke der Membran bekannt sind. Die Löslichkeits-Diffusions-Theorie kann für ungeladene Moleküle angewendet werden, da sich diese relativ gut in der intermediären Kohlenwasserstoffphase lösen. Diese Theorie erklärt auch, warum ungeladene Aminosäuremethylester eine Doppelschichtmembran um Größenordnungen schneller passieren als ihre zwitterionischen Stammverbindungen: Aminosäuren sind weniger lipophil als ihre Methylester. Transmembranäre pH-Gradienten, die ebenfalls auf Konzentrationsgradienten beruhen, werden zur aktiven und quantitativen Beladung von Vesikeln genutzt.<sup>[72]</sup>

#### 4.3. Der dynamische Poren-Mechanismus

Für kleine Ionen wurden für das Durchdringen dünner Doppelschichtmembranen Diskrepanzen zwischen berechneten und gemessenen Permeabilitäten gefunden. Der dynamische Poren-Mechanismus berücksichtigt, dass die Permeation von Ionen durch Doppelschichtmembranen durch Poren oder Hohlräume erfolgt. Diese Poren sind flüchtige, hydratisierte Defekte, die durch thermische Fluktuationen in der Doppelschicht hervorgerufen werden, die zu Ungleichmäßigkeiten in der Schichtanordnung führen.<sup>[75]</sup> Kleine Ionen können in diese Poren eindringen, die sich in der Kopfgruppenregion der amphiphilen Moleküle befinden, können die hydratisierten Defekte passieren und so die hohe Energiebarriere umgehen, die eine Verteilung in das hydrophobe Innere der Membran mit sich brächte.<sup>[74]</sup> Sind die Membranen ausreichend dünn, stellen Poren den bevorzugten Permeationsweg für Ionen dar. Es wurde gezeigt, dass ionische Substrate wie das Nucleotid ATP eine vesikuläre Doppelschicht aus Dimyristoylphosphatidylcholin (DMPC) an der Gel-fluiden Haupt-Phasenübergangstemperatur von 23.3 °C in Raten passieren, wie sie für die Belieferung einer eingekapselten Matrizen-abhängigen RNA-Polymerase benötigt werden.<sup>[73]</sup> Bei der Phasenübergangstemperatur war die Permeation maximal. Bei 37 °C, der optimalen Temperatur für viele enzymkatalysierte Reaktionen, ging die Permeabilität hingegen um zwei Größenordnungen zurück.

Selbst wenn die Autoren den dynamischen Poren-Mechanismus zur Permeation von ATP vorschlugen, kann auch der so genannte Flip-Flop-Mechanismus zur Erklärung der erhaltenen Befunde nicht ausgeschlossen werden: Alternativ zum dynamischen Poren-Mechanismus können geladene Moleküle an die äußere Schale einer vesikulären Membran und die dortigen polaren Kopfgruppen amphiphiler Moleküle koordinieren. Die amphiphilen Moleküle können dann von der äußeren/inneren in die innere/äußere Schale springen und dabei die geladenen Moleküle in das Innere/Äußere eines Vesikels mitführen (siehe Abschnitt 3.2). Dieses dynamische Flip-Flop-Phänomen ist von größter Wichtigkeit bei der Haupt-Phasenübergangstemperatur der Doppelschicht ebenso wie in der fluiden Phase (anders als in der Gelphase). Es wird zudem von den chemischen Eigenschaften der springenden amphiphilen Moleküle, z.B. deren Hydrophobie, und der Polarität der Kopfgruppe beeinflusst. Zum Beispiel sind protonierte Fettsäuren mit  $t_{1/2}$ -Sprunggeschwindigkeiten im Millisekundenbereich deutlich dynamischer als polarere, negativ geladene Carboxylate<sup>[76]</sup> und Phospholipide ( $t_{1/2} > \text{Tage}$ ).<sup>[77]</sup> Für weitere Beispiele verweisen wir auf den Übersichtsartikel von Hamilton.<sup>[76]</sup>

Das funktionelle Enzym Katalase wurde in Decansäure-Decanol-Vesikeln eingekapselt, und sein Substrat Wasserstoffperoxid wurde dem extravesikulären Milieu zugeführt. Die Doppelschichtmembran erwies sich

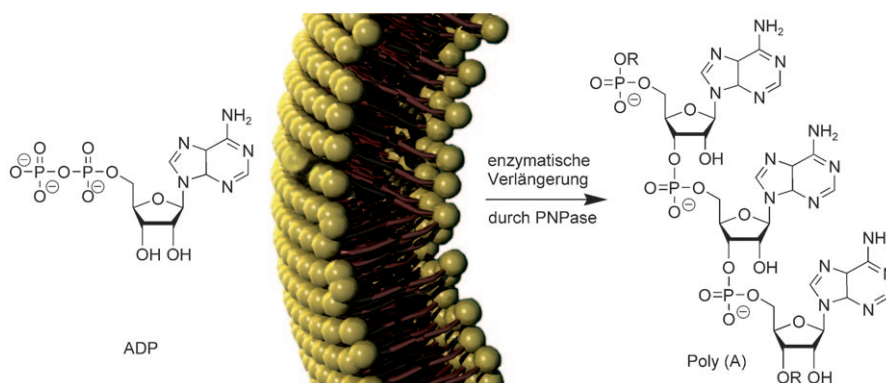
als permeabel für Wasserstoffperoxid, bei dessen Aufnahme in das Vesikel Sauerstoff im Vesikellinnern entstand. Die katalytische Funktion der Katalase blieb erhalten, und das Enzym wurde im Innenraum des Vesikels gegen Einflüsse von außen, z.B. gegen die Katalase abbauende Protease, geschützt.<sup>[32]</sup> Ähnlich wurden Polymerase-Enzyme mitsamt ihren Substraten in einem zellähnlichen Vesikel eingekapselt, wo polymere Produkte entstanden, die hier vor einer Zerstörung durch hydrolytisch wirkende Enzyme im extravesikulären Medium geschützt waren.<sup>[73]</sup> Walde et al. kapselten Polynucleotid-Phosphorylase (PNPase)-Enzyme in Ölsäure-Oleat-Vesikel ein und versetzten das externe Medium mit ADP. Der Nährstoff ADP, der bei pH 9 drei negative Ladungen trägt, durchdrang die vesikuläre Doppelschicht und gelangte in den Innenraum, wo PNPase die Bildung der Ribonucleinsäuresequenz Poly(A) im Inneren der Vesikelmembran katalysierte (Schema 1).<sup>[45]</sup>

Wir haben gesehen, dass amphiphile Moleküle unter wohldefinierten physikochemischen Bedingungen eine Population von Vesikeln aus Doppelschichtmembranen bilden können, die sich durch Wachstum und Teilung „replizieren“ und die die Möglichkeit zum Einschluss von Makromolekülen haben, während sie permeabel für kleine, polare, gelöste Substanzen bleiben.<sup>[16,48]</sup> Der dynamische Poren- und der Flip-Flop-Mechanismus haben es gegebenenfalls ermöglicht, dass frühe Zellen Zugang zu funktionellen ionischen Nährstoffen in ihrer Umgebung hatten.

#### 5. Nichtenzymatische Verlängerung eingekapselter Nucleotide in zellähnlichen Vesikeln

2003 wurde die Vermutung geäußert, dass der Einschluss mineralischer Partikel in Membranvesikeln eine Nutzung des katalytischen Potenzials der mineralischen Oberfläche zur Verlängerung eingeschlossener Nucleotide ermöglicht.<sup>[51]</sup>

2008 wurde nun die Verlängerung eines eingeschlossenen genetischen Polymers in einem zellähnlichen Vesikel beobachtet, in dem weder eine mineralische Oberfläche noch enzymatische Unterstützung vorhanden waren. Synthetische, Cytosinbasen enthaltende Einzelstrang-DNA-Moleküle, die als Primer und Matrizen für ihre eigene Verlängerung agier-



**Schema 1.** ADP durchdringt die vesikuläre Doppelschicht und gelangt in das Innere von Ölsäure-Oleat-Vesikeln. Katalysiert durch PNPase, erfolgt eine intraprotocelluläre enzymatische ADP-Verlängerung unter Bildung von Poly(A), das im Vesikel verbleibt.<sup>[45]</sup>



ten, wurden in Membranvesikeln eingeschlossen. Aktivierte Nucleotide, die die komplementären Guanosenbasen enthielten, wurden dem umgebenden Medium des Vesikels hinzugefügt. Die Mischung von Molekülen, aus der die vesikuläre Membran aufgebaut war, enthielt Carbonsäuren sowie ihre entsprechenden Alkohole und Monoglyceride. Die molekulare Membranzusammensetzung wurde im Hinblick auf eine maximale Permeabilität für Ribose, die Zuckerkomponente der RNA, optimiert; ihre Permeabilität für Polymere wie DNA war hingegen minimal.<sup>[78]</sup> In den optimierten zellähnlichen Vesikeln wurde eine Verlängerung der synthetischen DNA-Primer beobachtet, wenn das externe Medium Schritt für Schritt mit Guanosin-haltigen, Imidazol-aktivierten Nucleosiden versetzt wurde. Dagegen fand bei parallelen Experimenten mit 1-Palmitoyl-2-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin(POPC)-Vesikeln keine Verlängerung statt.<sup>[64]</sup> Die Autoren nahmen an, dass die Permeation des Imidazol-aktivierten und negativ geladenen Nucleotids durch die Membran der Wechselwirkung seiner polaren funktionellen Gruppe mit der Kopfgruppe der amphiphilen Moleküle zu verdanken war; die nichtpolaren Regionen des Nährstoffes wechselwirkten dabei mit den hydrophoben Ketten der Amphiphile. Der Amphiphil-Nährstoff-Komplex springt daraufhin von der äußeren in die innere Membranschale (siehe Abschnitt 4.3) und trägt dabei den Nährstoff in den Innenraum des Vesikels. Dieses Experiment demonstriert, dass präbiotisch plausible, aus Fettsäuren aufgebaute Membranen überraschend hohe Permeabilitäten für geladene Moleküle wie Nucleotide aufweisen, die aus dem externen, nährstoffhaltigen Medium inkorporiert werden können, um an effizienten, Matrizen kopierenden Reaktionen im Inneren der Protozelle teilzunehmen (Schema 2).

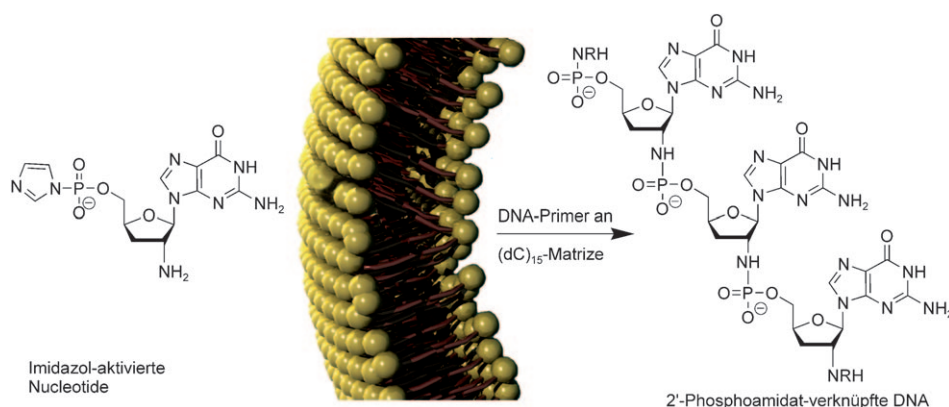
Selbst wenn Imidazol-aktivierte Nucleotide sicherlich nicht durch eine präbiotische Umgebung zur Verfügung gestellt wurden, mag die dekodierte nichtenzymatische Verlängerung eingeschlossener Nucleotide im Innern von Protozellen weitreichende Konsequenzen haben: Sie legt einen heterotrophen Ursprung des Lebens nahe; d.h., dass frühe lebende Organismen oder Systeme kohlenstoffhaltige organische Nährstoffe aus der Umgebung aufnahmen. Die Autoren argumentieren, dass frühe, aus Carbonsäuremembranen aufgebaute Protozellen nicht autotroph gewesen sein können,

weil dann intern hergestellte Metaboliten hinaus diffundiert wären.<sup>[64]</sup> Zelluläres Leben mag zunächst Energie und Nährstoffe aus der Umgebung aufgenommen haben, und komplexere autotrophe Lebensformen entwickelten sich erst im Verlauf der späteren Evolution.<sup>[78]</sup> Die heute vorliegenden experimentellen Daten begründen, warum Vesikel aus Carbonsäuremembranen als geeignetes Modell für eine Protozelle in der frühen Evolution anzusehen sind, aus der zelluläres Leben hervorging.<sup>[73]</sup>

Die Evolution von Zellen ging weiter. Es wird angenommen, dass eine typische Protozelle nicht nur informationshaltige Matrizen, sondern auch aus Aminosäuren aufgebaute Polymerase oder Replikase einzuschließen vermag, sodass die Sequenzinformation aus der Matrize in funktionelle Moleküle übertragen werden kann.<sup>[10]</sup> Vor kurzem wurde über eine Oligopeptidsynthese ausgehend von Aminosäuremonomeren berichtet, die in Fettsäure- und Phospholipidvesikeln in einer simulierten hydrothermalen Umgebung stattfand. Der Einschluss von Glycinmonomeren verstärkte die Oligomerisierung.<sup>[79]</sup> Für die Polymerase- und Replikasearchitektur sind Nährstoffe in Form von Aminosäuren erforderlich, die in der Lage sein müssen, die Barriere der Membran zu durchdringen, um in das Innere der zellähnlichen Vesikel vorzudringen. Unser Wissen um wichtige Etappen des Ursprungs des Lebens wird in naher Zukunft sicherlich erneut vergrößert, wenn unter kontrollierten experimentellen Bedingungen nicht nur geladene Nucleotide, sondern auch zwitterionische Aminosäuren von Vesikeln aufgenommen werden, während polymerisierte Nucleinsäuren im vesikulären Innern zurückgehalten werden.

Ein erster experimenteller Versuch zur Synthese einer minimalen Zelle kombinierte die Reproduktion einer Ölsäure-Oleat-Vesikelmembran mit der gleichzeitigen Replikase-assistierten Replikation internalisierter RNA.<sup>[80]</sup> Derzeit wird debattiert, ob Vesikelmembranen wachsen und sich teilen, wenn sie mit amphiphilen Molekülen und Membranvorstufen sowie mit Replikasen und RNA-Bausteinen gefüttert werden und ob sich so verbesserte Replikasen<sup>[81]</sup> entwickeln können.<sup>[46]</sup> Szostak et al. wiesen darauf hin, dass Vesikel, die eine verbesserte Replikase tragen, nicht notwendigerweise auch eine verbesserte Fähigkeit zum Überleben oder zur Reproduktion haben.<sup>[46]</sup> Derartige Systeme könne

man nicht als „lebend“ bezeichnen. Dafür wäre eine RNA-kodierte Aktivität erforderlich, die einen Vorteil beim Überleben, beim Wachstum oder bei der Replikation der vesikulären Membran verleiht und eine interne Kontrolle der Zellteilung gewährleistet.<sup>[46]</sup> Ein Beispiel wäre ein Ribozym, das amphiphile Lipide synthetisieren könnte und damit der Membran zum Wachstum verhelfen könnte. Membran und Genom wären dann gekoppelt, der „Organismus“ könnte sich als Ganzer entwickeln, und



**Schema 2.** Negativ geladene, Imidazol-aktivierte Nucleotide passieren die vesikuläre Membran und nehmen am nichtenzymatischen Kopieren einer Oligo-dC-DNA-Matrize teil. Die Membran des Vesikels besteht aus Decansäure, Decanol und dem Decansäureglycerolmonoester.<sup>[64]</sup>

seine Vesikel mit verbesserten Ribozymen hätten einen Wachstums- und Replikationsvorteil.<sup>[46]</sup> Weiterführende Studien zeigten in der Tat, dass ein intravesikuläres amplifizierendes RNA-System ein Vesikelwachstum bewirken kann, indem amphiphile Moleküle von Nachbarvesikeln mit geringerem osmotischem Druck in die Membran eingelagert werden.<sup>[50]</sup>

## 6. Zusammenfassung und Ausblick: von Amphiphilen zu lebenden Zellen

Die endogene Fischer-Tropsch-Synthese in wässriger Phase und der exogene Eintrag durch Meteoriten und Kometen sind wichtige mögliche Quellen für präbiotische und biogene Moleküle auf der frühen Erde. Beide Prozesse stellen amphiphile Moleküle zur Verfügung, die sich unter genau definierten physikochemischen Bedingungen zu Membranvesikeln anordnen können. Von Vesikeln wird angenommen, dass sie das Potenzial zur präbiotischen Katalyse aufweisen. Durch die Kompartimentierung ist die eingekapselte Replikase nicht nur fähig zu, sondern unweigerlich auch Subjekt von Variation, natürlicher Auslese und damit Darwinscher Evolution.<sup>[46]</sup> Aufgrund experimenteller Studien im Labor können wir annehmen, dass sich zellähnliche, aus Doppelschichten aufgebaute Membrankompartimente bildeten, sobald die Konzentrationen organischer Moleküle anstiegen. Weitere Moleküle wurden in diesen Kompartimenten eingeschlossen. Das Leben, das Metabolismus, Wachstum, Reproduktion und Anpassung durch natürliche Auslese miteinander kombiniert, begann, als eine oder mehrere dieser Komponenten einen Weg nicht nur zum Wachstum, sondern auch zur Reproduktion fanden, und zwar auf der Basis eines Zyklus von katalytischer Funktion und genetischer Information. Bei allen Versuchen einer experimentellen Simulation des Ursprungs der hypothetischen Vorstufe erster lebender Systeme ist die Verknüpfung zwischen dem Kopieren eines Matrizenmoleküls und dem Metabolismus einerseits sowie dem Wachstum der Membran und der Reproduktion des Kompartiments andererseits von zentraler Bedeutung.<sup>[82]</sup> Aus Lipiden aufgebaute Vesikel mögen als physikalische Behälter für informationshaltige Polymere, wie DNA und RNA, sowie für metabolische Systeme, die die zellulären Moleküle regulieren und regenerieren, gewirkt haben.<sup>[43]</sup>

Einige Autoren haben vorgeschlagen, dass der RNA-Welt eine Lipidwelt voranging.<sup>[1]</sup> Aggregate Lipid-artiger Moleküle begannen allerdings zu einem bestimmten Zeitpunkt in der präbiotischen Evolution, die Monomere heutigen Lebens, wie Nucleotide und Aminosäuren, einzuschließen. Infolge von deren Oligomerisierung wurden Fähigkeiten zur Katalyse und zum molekularen Kopieren innerhalb der Aggregate verbessert.

Ein wichtiges Ziel für zukünftige Forschungen zum Ursprung des Lebens wird es sein, physikochemische Parameter zu entdecken, unter denen zellähnliche Vesikel eine geeignete Mikroumgebung aufbauen konnten, in der diverse chemische Reaktionen möglich waren. Diese Reaktionen umfassen eine rudimentäre Photosynthese wie auch die Genese von RNA- und Proteinmonomeren, gefolgt von der Synthese

Matrizen kopierender Moleküle im Vesikelinneren.<sup>[1]</sup> In diesem Zusammenhang wird weithin angenommen, dass das Design einer künstlichen Zelle – der vereinfachten Version einer biologischen Zelle – in naher Zukunft<sup>[4,83]</sup> durchaus vorstellbar ist.<sup>[46]</sup> Sollten diese Voraussagen zutreffen, dann dürften schon bald aufregende Entdeckungen auf uns zukommen. Die Frage nach der ersten möglichen Anwendung künstlicher Zellen blieb bisher unbeantwortet. Mit der Zeit wird man auf diesem Gebiet vermutlich völlig neue Technologien entwickeln, z.B. selbstreparierende und selbstreplizierende Nanosysteme. Mit einem Metabolismus und einer Genetik, die heutigen Organismen unähnlich sind, werden derartige Systeme die Basis für eine lebende Technologie mit enormen Möglichkeiten, aber auch wesentlichen sozialen und ethischen Auswirkungen darstellen.<sup>[43]</sup> Experimentell besteht bereits die Möglichkeit, eine Population von Zellen mit zufälligen RNA-Sequenzen zu füttern, um dann zu beobachten und zu bestimmen, welche neuen Ribozym-Aktivitäten für sich bildende einfache Zellen vorteilhaft sind.<sup>[46]</sup> Auf lange Sicht wird es möglich werden, zumindest einige Aspekte der Evolution der Proteinbiosynthese auch unter Verwendung verschiedener Aminosäuresätze zu verstehen.<sup>[46]</sup>

*Diese Arbeit wurde unterstützt von der Agence Nationale de la Recherche (ANR-07-BLAN-0293), dem NASA Astrobiology Institute und dem Goddard Center for Astrobiology. Die Autoren danken Dr. Marla Moore (GSFC) für die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen von simuliertem präkometärem Eis. Titelbild und 3D-Video wurden von Adil Boujibar (Ingemedica, Toulon, Frankreich) erstellt. Wir danken Dr. David Deamer für Abbildung 4.<sup>[a]</sup>*

Eingegangen am 29. Oktober 2009,  
veränderte Fassung am 27. November 2009  
Online veröffentlicht am 30. April 2010

- [1] D. Segré, D. Ben-Eli, D. W. Deamer, D. Lancet, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, 31, 119–145.
- [2] P. Walde, *Origins Life Evol. Biosphere* **2006**, 36, 109–150.
- [3] F. M. Menger, A. V. Peresypkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 5614–5615.
- [4] H. H. Zepik, P. Walde, T. Ishikawa, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 1343–1345; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 1323–1325.
- [5] T. M. McCollom, G. Ritter, B. R. Simoneit, *Origins Life Evol. Biosphere* **1999**, 29, 153–156.
- [6] A. I. Rushdi, B. R. T. Simoneit, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, 31, 103–118.
- [7] R. M. Hazen, D. W. Deamer, *Origins Life Evol. Biosphere* **2007**, 37, 143–152.
- [8] A. I. Rushdi, B. R. T. Simoneit, *Origins Life Evol. Biosphere* **2006**, 36, 93–108.
- [9] S. L. Miller, A. Lazcano, *J. Mol. Evol.* **1995**, 41, 689–692.
- [10] D. W. Deamer, J. P. Dworkin, S. A. Sandford, M. P. Bernstein, L. J. Allamandola, *Astrobiology* **2002**, 2, 371–381.
- [11] M. P. Bernstein, J. P. Dworkin, S. A. Sandford, G. W. Cooper, L. J. Allamandola, *Nature* **2002**, 416, 401–403.
- [12] G. M. Muñoz Caro, U. J. Meierhenrich, W. A. Schutte, B. Barbier, A. Arcones Segovia, H. Rosenbauer, W. H.-P. Thiemann, A. Brack, J. M. Greenberg, *Nature* **2002**, 416, 403–406.
- [13] U. J. Meierhenrich, *Amino Acids and the Asymmetry of Life*, Springer, Heidelberg, **2008**.

- [14] U. J. Meierhenrich, G. M. Muñoz Caro, W. A. Schutte, W. H.-P. Thiemann, B. Barbier, A. Brack, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 4895–4900.
- [15] J. P. Dworkin, D. W. Deamer, S. A. Sandford, L. J. Allamandola, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 815–819.
- [16] D. W. Deamer, R. M. Pashley, *Origins Life Evol. Biosphere* **1989**, *19*, 21–38.
- [17] L. J. Allamandola, S. A. Sandford, G. Valero, *Icarus* **1988**, *76*, 225–252.
- [18] J. R. Cronin, S. Pizzarello, *Science* **1997**, *275*, 951–955.
- [19] S. Pizzarello, Y. Huang, M. R. Alexandre, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 3700–3704.
- [20] D. P. Glavin, J. P. Dworkin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 5487–5492.
- [21] U. J. Meierhenrich, G. M. Muñoz Caro, J. H. Bredehöft, E. K. Jessberger, W. H.-P. Thiemann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 9182–9186.
- [22] P. G. Stoks, A. W. Schwartz, *Nature* **1979**, *282*, 709–710.
- [23] Z. Martins, O. Botta, M. Foge, M. A. Sephton, D. P. Glavin, J. S. Watson, J. P. Dworkin, A. W. Schwartz, P. Ehrenfreund, *Earth Planet. Sci. Lett.* **2008**, *270*, 130–136.
- [24] S. Pizzarello, Y. Huang, L. Becker, R. J. Poreda, R. A. Niemann, G. Cooper, M. Williams, *Science* **2001**, *293*, 2236–2239; S. Pizzarello, Y. Huang, *Meteorit. Planet. Sci.* **2002**, *37*, 687–696.
- [25] D. W. Deamer, G. L. Barchfeld, *J. Mol. Evol.* **1982**, *18*, 203–206.
- [26] Y. Huang, Y. Wang, M. R. Alexandre, T. Lee, C. Rose-Petruck, M. Fuller, S. Pizzarello, *Geochim. Cosmochim. Acta* **2005**, *69*, 1073–1084.
- [27] G. Yuen, K. A. Kvenvolden, *Nature* **1973**, *246*, 301–302.
- [28] T. Namani, D. W. Deamer, *Origins Life Evol. Biosphere* **2008**, *38*, 329–341.
- [29] M. S. Nikolic, C. Olsson, A. Salcher, A. Kornowski, A. Rank, R. Schubert, A. Frömsdorf, H. Weller, S. Förster, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2790–2792; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2752–2754.
- [30] L. Carbone, L. Manna, C. Sönnichsen, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4346–4347; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4282–4283.
- [31] S. Rasi, F. Mavelli, P. L. Luisi, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 14068–14076.
- [32] C. L. Apel, D. W. Deamer, M. N. Mautner, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2002**, *1559*, 1–9.
- [33] T. Namani, P. Walde, *Langmuir* **2005**, *21*, 6210–6219.
- [34] Z. Cheng, P. L. Luisi, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 10940–10945.
- [35] N. Berclaz, M. Müller, P. Walde, P. L. Luisi, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 1056–1064.
- [36] F. M. Menger, K. D. Gabrielson, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2260–2278; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2091–2106.
- [37] D. G. Hunter, B. J. Frisken, *Biophys. J.* **1998**, *74*, 2996–3002.
- [38] B. J. Frisken, C. Asman, P. J. Patty, *Langmuir* **2000**, *16*, 928–933.
- [39] A. I. Oparin, K. L. Gladilin, *BioSystems* **1980**, *12*, 133–145.
- [40] H. J. Morowitz, B. Heinz, D. W. Deamer, *Origins Life Evol. Biosphere* **1988**, *18*, 281–287.
- [41] W. F. Doolittle, J. R. Brown, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 6721–6728.
- [42] C. Woese, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 6854–6859.
- [43] S. Rasmussen, L. Chen, D. W. Deamer, D. C. Krakauer, N. H. Packard, P. F. Stadler, M. A. Bedau, *Science* **2004**, *303*, 963–965.
- [44] K. Fontell, L. Mandell, *Colloid Polym. Sci.* **1993**, *271*, 974–991.
- [45] P. Walde, A. Goto, P.-A. Monnard, M. Wessicken, P. L. Luisi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7541–7547.
- [46] J. W. Szostak, D. P. Bartel, P. L. Luisi, *Nature* **2001**, *409*, 387–390.
- [47] M. Meot-Ner (Mautner), D. E. Elmore, S. Scheiner, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7625–7635.
- [48] I. A. Chen, J. W. Szostak, *Biophys. J.* **2004**, *87*, 988–998.
- [49] P.-A. Monnard, C. L. Apel, A. Kanavarioti, D. W. Deamer, *Astrobiology* **2002**, *2*, 139–152.
- [50] I. A. Chen, K. Salehi-Ashtiani, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13213–13219.
- [51] M. M. Hanczyc, S. M. Fujikawa, J. W. Szostak, *Science* **2003**, *302*, 618–622.
- [52] P. Walde, R. Wick, M. Fresta, A. Mangone, P. L. Luisi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11649–11654.
- [53] R. Wick, P. Walde, P. L. Luisi, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1435–1436.
- [54] S. U. Egelhaaf, P. Schurtenberger, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 2804–2807.
- [55] F. M. Konikoff, D. Danino, D. Weihs, M. Rubin, Y. Talmon, *Hepatology* **2000**, *31*, 261–268.
- [56] D. D. Lasic, R. Joannic, B. C. Keller, P. M. Frederik, L. Auvray, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2001**, *89–90*, 337–349.
- [57] M. A. Long, E. W. Kaler, S. P. Lee, *Biophys. J.* **1994**, *67*, 1733–1742.
- [58] I. Grillo, E. I. Kats, A. R. Muratov, *Langmuir* **2003**, *19*, 4573–4581.
- [59] P. K. Vinson, Y. Talmon, A. Walter, *Biophys. J.* **1989**, *56*, 669–681.
- [60] M. M. Hanczyc, S. S. Mansy, J. W. Szostak, *Origins Life Evol. Biosphere* **2007**, *37*, 67–82.
- [61] I. A. Chen, R. W. Roberts, J. W. Szostak, *Science* **2004**, *305*, 1474–1476.
- [62] D. K. Kondepudi, I. Prigogine, *Modern Thermodynamics*, Wiley, New York, **1998**.
- [63] S. S. Mansy, J. W. Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 13351–13355.
- [64] S. F. Mansy, J. P. Schrum, M. Krishnamurthy, S. Tobé, D. A. Treco, J. W. Szostak, *Nature* **2008**, *454*, 122–125.
- [65] S. G. Martin, M. Berthelot-Grosjean, *Nature* **2009**, *459*, 852–856.
- [66] J. B. Moseley, A. Mayeux, A. Paoletti, P. Nurse, *Nature* **2009**, *459*, 857–860.
- [67] D. V. Volodkin, A. G. Skirtach, H. Möhwald, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1839–1841; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1807–1809.
- [68] E. Blöchliger, M. Blocher, P. Walde, P. L. Luisi, *J. Phys. Chem. B* **1998**, *102*, 10383–10390.
- [69] S. Lonchin, P. L. Luisi, P. Walde, B. H. Robinson, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 10910–10916.
- [70] S. Chungcharoenwattana, H. Kashiwagi, M. Ueno, *Colloid Polym. Sci.* **2005**, *283*, 1180–1189.
- [71] D. P. Summers, J. Noveron, R. C. B. Basa, *Origins Life Evol. Biosphere* **2009**, *39*, 127–140.
- [72] A. C. Chakrabarti, D. W. Deamer, *J. Mol. Evol.* **1994**, *39*, 1–5.
- [73] P.-A. Monnard, D. W. Deamer, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, *31*, 147–155.
- [74] S. Paula, A. G. Volkov, A. N. van Hoek, T. H. Haines, D. W. Deamer, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 339–348.
- [75] J. F. Nagle, H. L. Scott, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1978**, *513*, 236–243.
- [76] J. A. Hamilton, *J. Lipid Res.* **1998**, *39*, 467–481.
- [77] I. Chen, J. W. Szostak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 7965–7970; S. S. Mansy, *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10*, 835–843.
- [78] D. W. Deamer, *Nature* **2008**, *454*, 37–38.
- [79] R. Furuuchi, E.-I. Imai, H. Honda, K. Hatori, K. Matsuno, *Origins Life Evol. Biosphere* **2005**, *35*, 333–343.
- [80] T. Oberholzer, R. Wick, P. L. Luisi, C. K. Biebricher, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *207*, 250–257.
- [81] Genauere Informationen über viele mögliche Ansätze zu Entwicklung und Design einer RNA-Replikase finden sich in Lit. [46].
- [82] H. H. Zepik, P. Walde, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2771–2772.
- [83] P.-A. Monnard, H.-J. Ziock, *Origins Life Evol. Biosphere* **2007**, *37*, 469–472.