

Echo's van leven

Oratie uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar
Moleculaire Paleontologie aan de faculteit Geowetenschappen van de
Universiteit Utrecht op vrijdag 15 April 2011
door Stefan Schouten



COLOFON

ISBN

978 90 6266 276 0

Uitgave

Universiteit Utrecht, 2011

Grafische verzorging

C&M - Faculteit Geowetenschappen - Universiteit Utrecht

Foto voorzijde

CARD-FISH microscopenfoto van zeewater uit de Waddenzee. De DNA probe bevat een fluorescerende kleurstof die Archaea groen doen oplichten. Te zien is dat Archaea een substantieel deel vormen van microbes kleiner dan 1 micrometer. Foto afkomstig van Cornelia Wuchter.

Druk

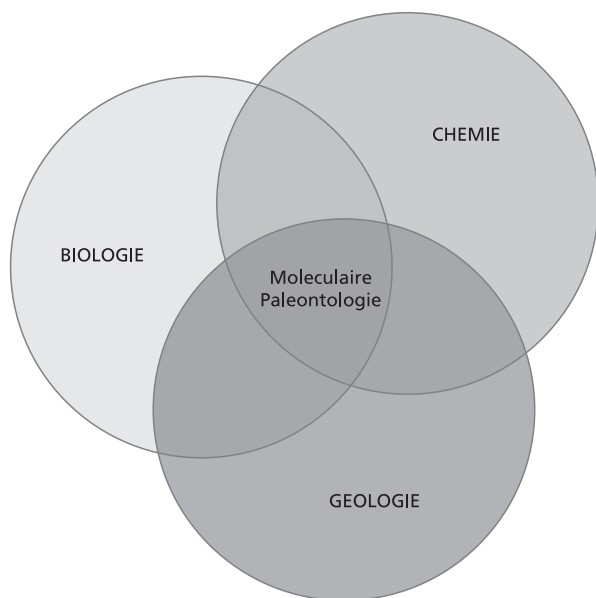
Bergdrukkerij, Amersfoort

Mijnheer de Rector Magnificus, vrienden en familie, collega's, dames en heren,

Echo's van leven

Echo's van leven: U zult denken, waar komt deze oratietitel vandaan? En, wat heeft het te maken met mijn leerstoel *moleculaire paleontologie*, waarop ik door de Universiteit van Utrecht, veel dank, ben benoemd? De titel heb ik ontleend aan het boek van Susan Gaines die vanuit het perspectief van de onderzoekers beschrijft hoe een aantal belangrijke ontdekkingen zijn gedaan in mijn vakgebied. Ik kan U het boek overigens van harte aanbevelen! Het boek heeft als ondertitel: wat fossiele moleculen vertellen over de geschiedenis van de aarde. Dit is nu exact wat mijn vakgebied inhoudt: hoe kunnen wij aan de hand van fossiele moleculen, die ooit in het verleden door verschillende levensvormen zijn gemaakt, iets vertellen over het vroegere leven en de klimaatomstandigheden die toen heersten? Deze fossiele moleculen zijn als het ware de 'echo's' van het leven, dat wil zeggen, het vroegere leven.

Fossiele moleculen: Dit klinkt eigenlijk relatief simpel maar als U er goed over nadenkt dan is het toch eigenlijk best ingewikkeld. Allereerste moleculen: als ik wil weten wat voor moleculen er zijn moet ik toch wel een goede chemische kennis hebben zodat ik weet hoe ik deze moleculen kan analyseren en identificeren. Zoals ik U net al vertelde, deze moleculen worden gemaakt door allerlei levende wezens en dus zal ik een goed begrip moeten hebben van de biologie en de biochemie: wie maakt die moleculen, waarom, en wat vertellen ze over het vroegere leven. Ten slotte wordt veel onderzoek verricht aan gesteentes variërend in ouderdom van tientallen tot miljoenen jaren oud en wil ik uitspraken doen over vroegere milieus en klimaat. Een goede kennis van geologie is dus ook onontbeerlijk. Een moleculaire paleontoloog, mocht er zo iemand bestaan, moet van vele markten thuis zijn en kennis halen uit veel vakgebieden (Figuur 1). Gezien de enorme snelle kennisontwikkeling binnen al deze gebieden is dit eigenlijk een onbegonnen taak: je ontkomt er niet aan dat je brede kennis hebt op één bepaalde gebied en beperktere kennis op andere gebieden. Dit dwingt je ook automatisch tot samenwerking met collega's op andere vakgebieden alsmede ook promovendi en postdocs met heel verschillende achtergronden. Dat is eigenlijk een van de mooiste aspecten van mijn vakgebied:



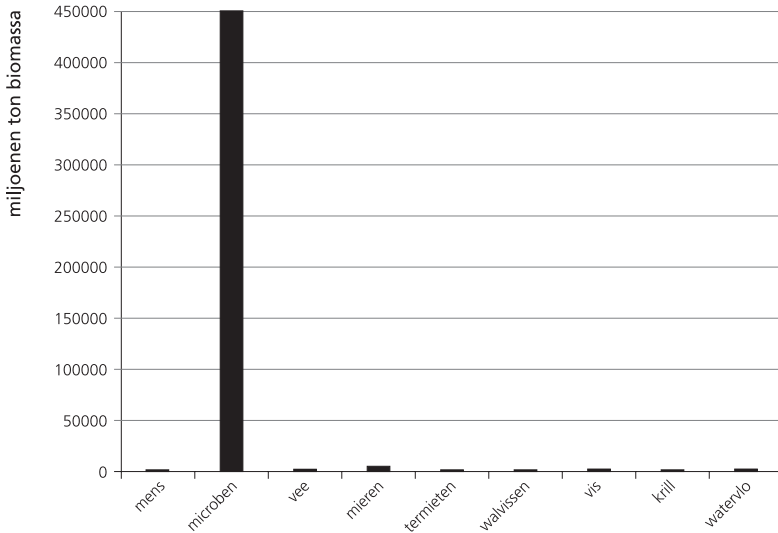
Figuur 1. *Moleculaire paleontologie als overlappend vakgebied tussen de biologie, chemie en geologie.*

op één moment heb je het over zuurstofloze oceanen in het Krijt, twee minuten later over de DNA sequenties van bacteriën. Fantastisch!

Goed, allemaal leuk en aardig, maar wat kunnen wij er nu mee en waar moet dat naar toe? Ik hoop U in het komende half uur daar iets meer duidelijkheid over te verschaffen, mede aan de hand van een aantal voorbeelden.

Oorsprong en analyse van fossiele moleculen

Een gemiddelde organisch-rijke steen bevat een enorme rijkdom aan verschillende moleculen. Ik geloof niet dat iemand dit ooit precies heeft gekwantificeerd, maar ongetwijfeld zal het in de vele tienduizenden lopen. Dat is natuurlijk niet zo vreemd want een gemiddeld sediment uit bijvoorbeeld een oceaan, zal restanten bevatten van 10-100 jaar aan marien leven. Velen van



Figuur 2. Hoeveelheid biomassa van verschillende levensvormen op Aarde.

U zullen bekend zijn met fossielen in de klassieke zin van de paleontologie: botten van uitgestorven wezens zoals dinosauriërs of mammoeten. In de zee denkt U al snel aan schelpdieren en walvissenbotten. Grote, aabare wezens waar wij ons wel iets bij kunnen voorstellen of mooie tekeningen van kunnen maken. Echter, ik kijk niet naar botten maar naar moleculen: dan wordt het van belang niet te kijken naar wat groot en zichtbaar is, maar wat in totaal de meeste moleculen, oftewel biomassa, bevat. Een snel rekensommetje leert dat de grootste hoeveelheid biomassa niet in de zichtbare, aabare wezens zit maar in de microscopische wezens (Figuur 2). Ze wegen niet veel, enkele microgrammen koolstof, maar er zijn er ontelbaar veel. In de oceaan zijn er circa 10^{29} , een 1 met 29 nullen dus, cellen. Dit wetende is het niet verrassend dat de meeste moleculen in sedimenten van de oceaan van deze micro-organismen afkomstig zijn. Niet dus van die grote aabare wezens, maar van eencelligen die variëren in grootte van 0.1 tot enkele micrometers, meestal niet zichtbaar met het blote oog.

Hiermee doemt meteen het eerste probleem op: hoe weet ik nu welke moleculen door welke microbes wordt gemaakt? Vrijwel al onze kennis op is gebaseerd op cultuurstudies waarbij micro-organismen geïsoleerd zijn en op hun lipidensamenstelling worden geanalyseerd. Onhandig hierbij is dat veel studies, vooral die van microbiologen (mijn excuses aan aanwezige microbiologen), niet verder komen dan het analyseren van de vetzuursamenstelling terwijl dit nu juist niet de meest interessante moleculen zijn. Een groter probleem is dat uit DNA onderzoek blijkt dat meer dan 90% van alle microben nog helemaal niet geïsoleerd zijn en in cultuur zijn gebracht. Dit betekent dat wij van vele moleculen eigenlijk nog niet de exacte herkomst weten.

Afijn, eerst maar eens die moleculen eens analyseren, oftewel het zichtbaar maken van die echo's van het leven zoals die opgeslagen zijn in oude gesteentes. Zoals ik al zei, de meeste sedimenten bevatten tienduizenden verschillende moleculen. Dat maakt het analyseren ervan technisch uitdagend: vergelijk het met het afuisteren van een antwoordapparaat waarop honderden boodschappen in verschillende talen over elkaar heen zijn opgenomen. Het is dan ook niet verwonderlijk dat mijn vakgebied vooral grote sprongen heeft gemaakt na technische innovaties in de analytische chemie. De ontwikkelingen op het gebied van capillaire gaschromatografie en de koppeling van gaschromatografie en vloeistofchromatografie met massaspectrometrie en isotopenmassaspectrometrie zijn wel de belangrijkste. Dit vind ik persoonlijk ook, als chemicus, een van de mooiste uitdagingen van mijn vakgebied: nieuwe methodes ontwikkelen om moleculen te kunnen zien en herkennen. *Cutting-edge* apparatuur is hiervoor nodig wat ons werk een 'dure hobby' maakt en maakt het noodzakelijk dat wij regelmatig bij NWO, een van onze grootste sponsors, apparatuursubsidies aanvragen.

Veel werk in mijn vakgebied heeft bestaan, en bestaat nog steeds, uit het uitputtend analyseren van fossiele moleculen in allerlei gesteentes. Dit heeft geleid tot de identificatie van veel moleculen en ook tot een beter begrip van de potentiële toepasbaarheid van fossiele moleculen voor onder andere klimaatreconstructies. Ik zal hiervan een mooi voorbeeld geven die in ons onderzoeksgroep is ontwikkeld, maar tegenwoordig werk ik liever andersom: eerst karakteristieke moleculen identificeren in micro-organismen die zeer informatief zijn over een bepaalde leefmilieu of biogeochemische cyclus en dan

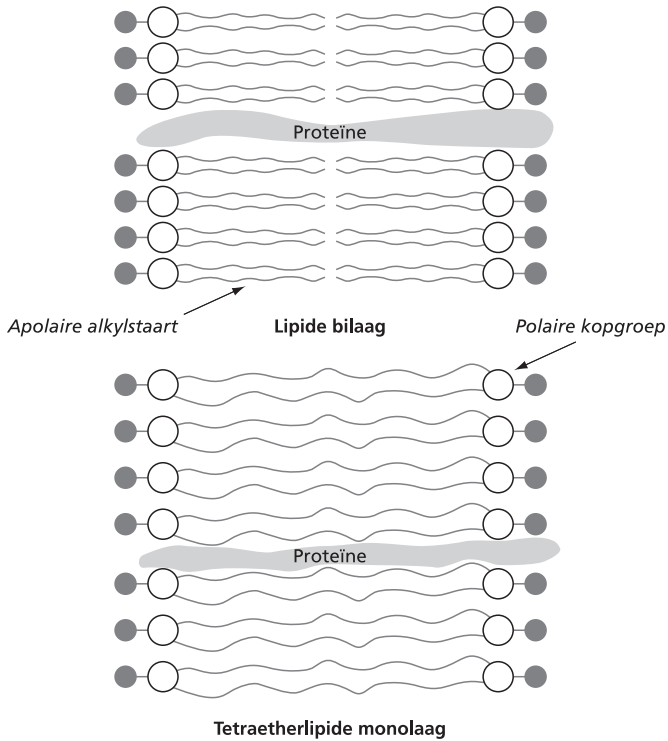
kijken of wij ze terug kunnen vinden in oude gesteentes. Ook hier heb ik een mooi voorbeeld van.

Proxies van tetraetherlipiden

Archaea vormen een van de drie domeinen van het leven, naast de bacteriën en de eukaryoten, waarvan de mens weer een onderdeel vormt. Archaea zijn opmerkelijke organismen omdat ze eerst werden ontdekt in ongebruikelijk milieus zoals heetwaterbronnen waarbij ze met gemak hoge temperaturen tot boven de 100 graden kunnen tolereren en/of extreem zure milieus tot beneden pH 1, zeg maar kokend zoutzuur. Vandaar de naam Archaea, oftewel 'oud', omdat ze mogelijk het eerste leven op aarde zou kunnen zijn geweest. Rond de jaren zeventig werd ontdekt dat een aantal van deze archaea hele specifieke membraanlipiden maakten. 'Normale' bacteriën hebben een bilaag van membraanlipiden met esterbindingen en twee alkylstaarten (Figuur 3). De tetraetherlipiden in tegenstelling vormen een stabiele monolaag die direct het celmembraan vormt en bevatten chemisch zeer stabiele etherbindingen (Figuur 3).

In het begin van de jaren tachtig was er een kortstondige belangstelling voor deze lipiden in de organische geochemie: middels chemische degradatietechnieken werden koolstofskeletten gevonden van tetraetherlipiden in oude gesteentes. Merkwaardig genoeg werden ze ook gevonden in normale mariene sedimenten. En dit terwijl microbiologen dachten dat deze verbindingen bij uitstek geschikt zouden zijn voor microbes die onder extreme condities leefden! De organisch geochemici wisten niet zo goed raad met deze moleculen. OK, ze zijn afkomstig van Archaea, misschien wel van methanogene Archaea die in mariene sedimenten kunnen voorkomen. Niettemin bleef het een merkwaardige vinding.

Het verhaal begon duidelijker te worden in begin jaren negentig toen Ed DeLong en Jed Furhman onafhankelijk van elkaar DNA afkomstig van Archaea vonden in zeewater. Zeewater! Het was het tijdperk waarin het amplificeren van specifiek DNA technisch routine werd, technische ontwikkelingen dreven ook hier weer de wetenschap, en de enorme diversiteit binnen de micro-organismen duidelijk werd. Voor de duidelijkheid: als wij het over biodiversiteit hebben bevindt genetisch gezien de grote meerderheid van de diversiteit op Aarde zich



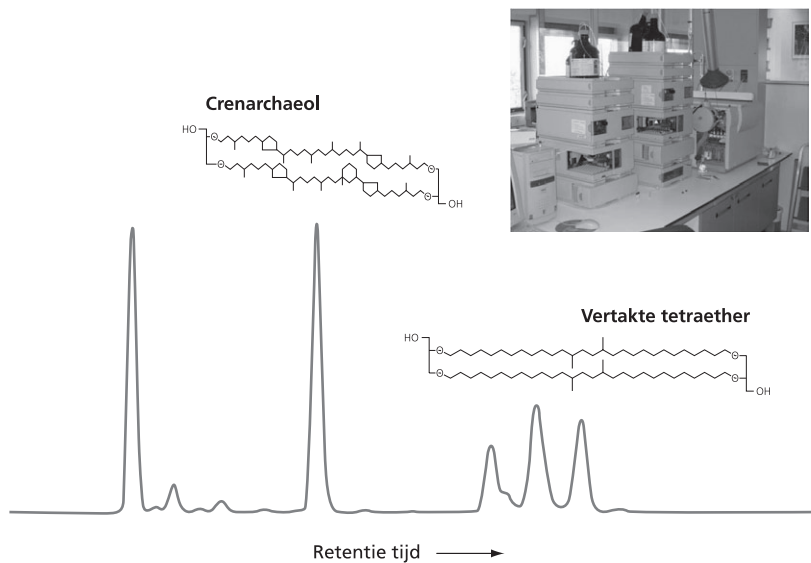
Figuur 3. Schematische tekening van een lipide bilaag voorkomend in de membranen van bacteriën en eukaryoten en een monolaag van tetraetherlipiden voorkomend in de membranen van bepaalde Archaea.

binnen de microben, niet binnen de aabare zoogdieren, insecten, etc. Het DNA van de Archaea in zeewater was slechts marginaal verwant met dat van hun extreme broeders en zusters. Een zeer opmerkelijke vinding, die weer allerlei vragen opriep: wat deden die zogenaamd ‘extreme’ microben in zeewater? Niet veel later werden ook ze in allerlei andere omgevingen aangetroffen: bodems, veen, meertjes, etc. De Archaea waren werkelijk overal, niet alleen maar in geïsoleerde heetwaterbronnen, zoutmeren of zuurstofloze sedimenten.

Het is ook begin jaren negentig dat ik zelf te maken kreeg met Archaea. Ik was zojuist bij de TU Delft, vakgroep Organische Geochemie, mijn promotieonderzoek begonnen en in het kader daarvan begeleidde ik een groep studenten voor project van zes weken. Het idee was om naar pyrolyseproducten te kijken van extracten van een Italiaanse sedimentsectie van een oud moerasgebied, de Vena del Gesso. Tot onze verrassing vonden wij allerlei afbraakproducten van archaeale tetraetherlipiden. Wat verder onderzoek middels chemische degradatietechnieken bevestigde dit: er waren grote hoeveelheden tetraetherlipiden aanwezig in deze sedimenten. De reden dat wij ze tot nu toe altijd over het hoofd hebben gezien is een simpele: fossiele moleculen werden standaard geanalyseerd met gaschromatografie en die techniek kan geen moleculen analyseren die meer dan circa 45 koolstofatomen bevatten. Deze tetraetherlipiden zijn een stukje groter, namelijk 86 koolstofatomen, wat chemische degradatietechnieken nodig maakt. Terug naar die tetraetherlipiden in de Vena del Gesso: dit keer hadden wij de stabiele koolstofisotopensamenstelling gemeten: deze gaf waardes van ca. -21 promille. Niet echt schokkende waardes en ook toen gooiden wij het erop dat ze afkomstig waren van methanogene Archaea.

Eenmaal op het NIOZ begonnen de archaeale tetraetherlipiden weer op te spelen toen wij naar Arabische Zee sedimenten keken. Daar vonden wij bifytaandiolen, componenten die qua structuur veel leken op tetraetherlipiden. Ook daar zaten ze dus! Onze interesse was gewekt en we begonnen min of meer random allerlei sedimenten te analyseren op tetraetherlipiden. Vrijwel overal kwamen wij ze wel tegen, inclusief in gesuspendeerd materiaal aanwezig in zeewater van de Arabische zee. Via connecties met microbiologen begonnen wij onze bevindingen te linken aan hun resultaten, namelijk het archaeale DNA dat ook in allerlei oceanen was gevonden. Dit hebben wij dan ook gerapporteerd in een microbiologisch blad, een novum voor mij. Opmerkelijk was dat één bepaalde bifytaan qua structuur afweek van die gevonden in extreme Archaea. Blijkbaar waren de tetraetherlipiden niet helemaal identiek, mogelijk om te kunnen adapteren naar 'niet-extreme' omstandigheden.

Een volgende grote impuls in ons onderzoek werd geleverd, ik zou bijna zeggen uiteraard, door een technische ontwikkeling in onze afdeling. De analyse van tetraetherlipiden verliepen tot dan toe vrij moeizaam: er moesten



Figuur 4. LC-MS chromatogram van een extract van een Noordzeesediment. Pieken corresponderen met tetraetherlipiden waaronder crenarchaeol en vertakte tetraetherlipiden. Inzet foto is van LC-MS apparatuur op het NIOZ waarmee tetraetherlipiden worden geanalyseerd.

chemische degradatietechnieken aan te pas komen en het duurde wel 2-3 dagen voordat je de uiteindelijke resultaten had. Niet echt geschikt dus om veel monsters te meten, de methode had ook een lage gevoeligheid terwijl je niet eens de tetraetherlipide *als zodanig* analyseerde. Echter, er was recentelijk een vloeistofchromatograaf gekoppeld aan een massaspectrometer geïnstalleerd op onze afdeling en deze LC-MS werd gebruikt om afbraakproducten van carotenoïden te bestuderen. Met LC-MS kan je veel grotere moleculen analyseren dan met GC-MS, waarbij wel het probleem was dat tetraetherlipiden zeer apolair zijn voor LC-begrippen, hoewel ze in de organische geochemie eigenlijk als polaire componenten te boek staan. Niettemin slaagden wij erin om een LC-MS methode te ontwikkelen om tetraetherlipiden direct te kunnen

analyseren in een enkel uurtje. De resultaten waren fantastisch! Voor het eerst kregen wij een goed beeld van tetraetherlipiden in recente en oude sedimenten en bodems. In het begin leverde elk monster spectaculaire nieuwe informatie op en was het niet ongewoon dat vele mensen samendromden om achter de LC-MS computer te kijken wat er allemaal uitkwam. De meest spectaculaire bevindingen waren wel de ontdekking van een unieke tetraetherlipide, die crenarchaeol werd genoemd, en tetraetherlipiden die een gehele nieuwe koolstofstructuur hadden, de zogenaamde vertakte tetraethers (Figuur 4).

Allereerst die vertakte tetraetherlipiden. Hun koolstofskeletten waren in de jaren tachtig al ontdekt door organische geochemici in bepaalde sedimenten maar nooit echt gekoppeld aan tetraetherlipiden. Via NMR technieken konden wij hun structuur identificeren en vonden wij ook dat de stereochemie van de glycerolgroep precies omgekeerd was aan die van Archaeale lipiden. Gezamenlijk toonde dit aan dat deze vertakte tetraetherlipiden niet door Archaea maar door bacteriën worden gemaakt. Dit is nog steeds een uniek gegeven omdat tot dan werd gedacht dat alleen Archaea dit type verbindingen maakten. De vertakte tetraetherlipiden komen voornamelijk voor in bodems en venen, vooral in het zuurstofloze gedeelte. Ondanks vele pogingen weten wij helaas nog steeds niet welke micro-organismen deze verbindingen maken: ze zijn, zoals wij dat in de organische geochemie noemen, ‘weesmoleculen’. Deze verbindingen gebruiken wij nu om een idee te krijgen over de bijdrage van landmateriaal in kustzeën, wat indirect weer gerelateerd is aan vroegere zeespiegelstijgingen en –dalingen. Ook blijkt de verdeling van deze vertakte tetraethers te correleren met landtemperatuur. Hiermee zijn wij er al in geslaagd om landtemperaturen van miljoen jaren geleden te reconstrueren.

Terug weer naar de archaeale lipiden. De ontdekking van crenarchaeol was fascinerend omdat het molecuul heel veel lijkt op die van tetraetherlipiden van extreme Archaea, echter het heeft een karakteristieke cyclohexaanring in plaats van een cyclopentaaanring. Deze subtiele wijziging in de structuur heeft waarschijnlijk grote biofysische gevolgen: moleculaire modellering laat zien dat met crenarchaeol er zich een soort bult vormt binnen het celmembran. De exacte reden voor deze constructie is nog niet geheel duidelijk. De eerste gedachte was dat dit een adaptatie was aan ‘niet-extreme’ omstandigheden

maar verder onderzoek heeft laten zien dat crenarchaeol ook door bepaalde extreme Archaea wordt gemaakt. Intussen is duidelijk geworden dat dit lipide karakteristiek is voor Archaea die CO₂ opnemen en hun energie halen uit de oxidatie van ammonia, de zogenaamde Group I Crenarchaeota die recentelijk hernoemd zijn tot Thaumarchaeota. Daarmee vormt deze molecuul een mooie tracer voor deze Thaumarchaeota. Niet geheel onbelangrijk omdat onderzoek heeft uitgewezen dat een substantieel deel van de microben in de oceaan bestaan uit Thaumarchaeota, soms meer zelfs dan de totale hoeveelheid bacteriën. En dat terwijl wij 20 jaar geleden nog niet van hun bestaan afwisten.

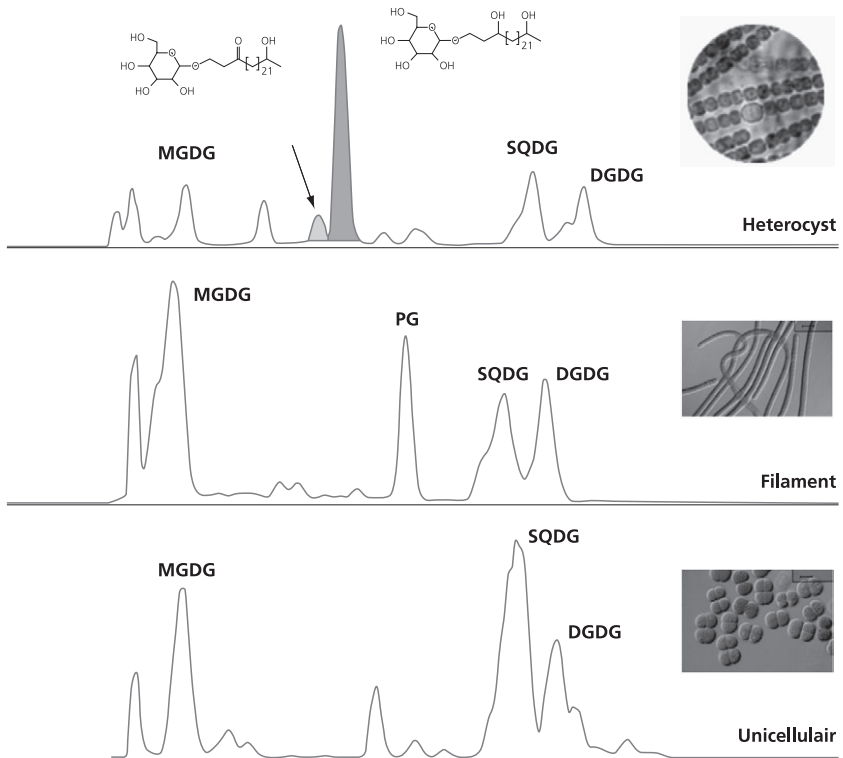
Na de ontwikkeling van de LC-MS techniek en het analyseren en identificeren van tetraetherlipiden in vele monsters leek de nieuwigheid er wel een beetje af. De archaeale tetraetherlipiden kwamen bijna overal wel voor, elke mariene sediment bevat ze, en we konden ze terugvinden tot 140 miljoen jaar terug. Echter, het begon ons op te vallen dat er subtiele verschillen waren in de verdelingen van tetraetherlipiden. Sommige monsters hadden voornamelijk verbindingen met geen of 1 cyclopentaanring terwijl andere monsters veel meer tetraetherlipiden hadden met 2 of 3 cyclopentaanringen. Toen, om kwart voor vijf, net voordat de boot Texel verlaat, kregen wij het 'eureka-moment': deze verschillen hebben te maken met temperatuur. Onderzoek begin jaren tachtig had al uitgewezen dat Archaea gekweekt bij hogere temperaturen relatief meer cyclopentaanringen hadden in hun membraanlipiden. Koortsachtig gingen wij aan de slag met de tot dan toe gemeten data en inderdaad: als wij een ratio maakte van bepaalde tetraether lipiden, dan vonden wij een hogere ratio bij hogere temperaturen. Deze ratio noemden wij de TEX₈₆, uiteraard verwijzend naar het eiland Texel. De correlatie was zodanig sterk dat het mogelijk was om aan de hand van TEX₈₆ analyse de zeevatertemperatuur te kunnen aflezen.

Het werd al vrij snel duidelijk dat de TEX₈₆ een mooie manier is om zeevatertemperaturen uit het verre verleden te kunnen reconstrueren, een echte paleothermometer. Dit is niet alleen een vrijblijvende wetenschappelijk exercitie maar heeft ook groot belang voor een goed begrip van klimaatveranderingen uit het verleden en daarmee ook hopelijk voor een beter begrip van de klimaatveranderingen die ons mogelijk nog te wachten staan. Het kunnen reconstrueren van temperaturen, zowel als land als op zee, geeft ons de

gelegenheid om de gevoeligheid van de Aarde te testen op veranderingen in de hoeveelheid broeikasgassen zoals CO₂ en ook om klimaatmodellen te testen. De eerste resultaten laten wat dat betreft geen vrolijk plaatje zien: in tijden dat CO₂ heel hoog is geven onze paleothermometers onveranderlijk aan dat temperaturen ook een stuk hoger zijn. Er is echter nog veel werk te verrichten om tot goede temperatuurreconstructies te komen. Zoals met elke ontdekking is de werkelijkheid niet zo simpel als het lijkt en blijken de paleothermometers niet altijd de goede temperatuur aan te geven. Veel onderzoek zal er nog verricht moeten worden naar de omstandigheden waarin deze paleothermometers goed werken en vooral wanneer dit niet zo is.

Een nieuwe tracer voor cyanobacteriële stikstoffixatie

Het onderzoek zoals ik hier schetste is redelijk klassiek verlopen: door een aantal toevalligheden, analytische ontwikkelingen en het goed screenen van monsters en rigoureuus identificeren van verbindingen in sedimenten werden ontdekkingen gedaan die hebben geleid tot de herkenning van een reeks van fossiele moleculen die bij uitstek bruikbaar zijn voor klimaatreconstructies. Recentelijk hebben wij echter ook vaak de omgekeerde weg bewandeld: we bepalen karakteristieke moleculen van belangrijke microbes die een specifieke niche innemen of een belangrijk onderdeel vormen van biogeochemische cycli, en kijken of deze aanwezig zijn in oude sedimenten. Voorbeelden van deze aanpak zijn het screenen en identificeren van biomarkerlipiden van kiezelalgen of van bacteriën die ammoniak onder zuurstofloze omstandigheden kunnen oxideren met nitriet. Het voorbeeld wat ik hier wil laten zien is die van biomarkerlipiden van stikstoffixerende cyanobacteriën ook wel (foutief) ‘blauwalgen’ genoemd. De meesten van U kennen ze als de groene-blauwe drab die vaak in de zomer rondrijft in meertjes. Sommige soorten zijn giftig waardoor er bij grote bloei van deze bacteriën niet kan worden gezwommen in deze wateren. Blauwalgen of cyanobacteriën zijn dus niet echt gewenst door de meeste mensen. Echter ze spelen een essentiële rol in de oceaan: zij zijn als een van de weinige microben in staat om het inerte stikstofgas in de atmosfeer, of opgelost in de oceaan, om te zetten in het zeer bruikbare ammoniak, wat door vele organismen een essentiële voedingsstof is. Op deze manier bemesten cyanobacteriën grote delen van de oceaan. Echter, hun rol in het geologische verleden is minder duidelijk omdat goede eenduidige tracers voor deze bacteriën ontbreken.



Figuur 5. LC-MS chromatogrammen van celextracten van verschillende typen cyanobacteriën. Alleen de heterocyste cyanobacteriën bevatten de karakteristieke glycolipiden. Foto's van cyanobacteriën afkomstig van Uta Wollenzien (NIOO). MGDG = monoglycoside diacylglycerols, DGDG = diglycoside diacylglycerols, PG = phosphoglycerol diacylglycerols, SQDG = sulfoquinosovyl diacylglycerides.

Om deze lacune te dichten begonnen wij in samenwerking met microbiologen een groot aantal culturen van cyanobacteriën te screenen voor specifieke lipiden. Daarbij begaven wij ons ook op het nieuwe terrein van intacte polaire lipiden, wederom mogelijk gemaakt door een aantal nieuwe analytische ontwikkelingen in ons lab. Dit zijn lipiden die een zeer polaire en soms zelfs geladen kopgroep hebben wat weer bepaalde analytische problemen geeft. Bij het screenen van deze lipiden viel ons op dat er een bepaalde set van componenten alleen voorkwamen in zogenaamde heterocyste cyanobacteriën (Figuur 5). Deze bacteriën hebben een specifieke celdeel, de heterocyst, waarin zich het enzym bevindt dat stikstofgas kan omzetten in ammonia. Omdat dit enzym niet bij hoge zuurstofconcentraties kan werken, is deze speciale cel omgeven door een dikke laag met suikers. Onderzoek uit de jaren zeventig en tachtig had laten zien dat deze celwand ook specifieke glycolipiden bevatten. Dat zijn verbindingen met een suiker als kopgroep en een lange apolaire staart met verschillende alcoholgroepen. Na wat gepuzzel bleken dit precies de componenten te zijn die wij hadden gevonden in de culturen: heterocyste glycolipiden. Deze glycolipiden bleken ook alleen voor te komen in heterocyste cyanobacteriën. Sterker nog, als ze gekweekt worden met ammonia en dus geen stikstofgas hoefde te fixeren, maken ze ook geen glycolipiden. Dat maakt deze componenten tot ijzersterke biomarkerlipiden: ze zijn niet alleen karakteristiek voor deze groep van bacteriën maar zelfs voor een biologisch proces: stikstoffixatie.

De grote vraag was echter of deze verbindingen ook aanwezig zouden zijn in oude sedimenten. De randvoorwaarden waren eigenlijk niet goed: over het algemeen werd gedacht dat glycolipiden niet stabiel zijn en met tijd en haar zouden worden opgegeten in zeewater en sedimenten als ze eenmaal vrijgekomen waren uit de dode cel. De glycolipiden bevatten nu eenmaal die suikergroep, wat een prachtige voeding vormt voor vele microben. Om ze te kunnen traceren werd er een nieuwe LC-MS methode ontworpen die in staat was om zeer gevoelig deze verbindingen te kunnen analyseren. Tot onze grote blijdschap bleek dat deze glycolipiden wel degelijk aanwezig waren in oude, diep begraven sedimenten. Het meest kwamen de componenten voor in meersedimenten, wat niet echt verrassend is omdat heterocyste cyanobacteriën daar ook voornamelijk voorkomen. Echter, wij vonden ook glycolipiden terug in sommige oude zeebodems waaronder de vroegere Noordelijke IJszee, op

de Noordpool. In die periode was de zee daar bedekt met eendenkroos, een van de snelst groeiende planten op deze planeet. Deze snelle groei dankt het onder andere aan de samenwerking met heterocyste cyanobacteriën, die de plant van stikstof voorzien. Uit onze analyses bleek dat deze samenwerking al meer dan 40 miljoen jaar bestaat en dat de plant ook toen al met dezelfde soort cyanobacteriën samenwerkte. Het is duidelijk dat deze biomarkers in de toekomst nog een belangrijke rol gaan spelen in het traceren van cyanobacteriële stikstoffixatie en de bemesting van vroegere oceanen.

Toekomst: het ontginnen van de goudmijn aan fossiele moleculen

Deze en andere voorbeelden geven aan dat mijn vakgebied enorme sprongen heeft gemaakt in de afgelopen jaren. Zoals eerder gememoreerd is dat mede te danken aan de technische innovaties binnen de analytische chemie maar dat is zeker niet het enige. De originele organisch geochemicus was een chemicus met geologische interesse of een geoloog met chemische kennis, voornamelijk denkend vanuit een van deze twee gebieden. De moderne moleculaire paleontoloog komt uit de geologie, geochemie, paleoclimatologie, microbiologie of biochemie en gebruikt analytische chemie als gereedschap. De geochemie en paleoclimatologie maken ook grote stappen voorwaarts door betere analysetechnieken, meer proxies, toegang tot boorkernen uit allerlei gebieden waaronder de Noord- en Zuidpool, enzovoorts. Binnen de microbiologie is ook een revolutie gaande met een gigantische toename in bio-informatie over de diversiteit en functionaliteit van micro-organismen. Licht verontrustend is alleen dat het vak van cultiveren hierbij ondergeschoven dreigt te raken. Het isoleren en karakteriseren van microben is essentieel om diversiteit te verbinden met functionaliteit en, wat mij betreft, de synthese van specifieke lipiden. Deze vertaalslag is nodig om biomarkerlipiden te kunnen verbinden met specifieke microben en daarmee ook hopelijk specifieke biologische processen of milieus. Nog te vaak zijn de bronnen van bepaalde belangrijke biomarkers niet bekend of onvoldoende bekend wat kan leiden tot foute interpretaties.

Langzamerhand beginnen de (analytisch) chemici in mijn vakgebied in de minderheid te raken. Aan de ene kant laat dit zien hoe breed mijn vakgebied is geworden, aan de andere kant als Delfts chemisch ingenieur vindt ik dit niet altijd positief. Goede, gedegen chemische kennis blijft onontbeerlijk om tot

voortgang te komen in de moleculaire paleontologie. Er is nog een enorme diversiteit aan biomarkerlipiden die wacht om ontdekt te worden. De meest veelvoorkomende sedimentaire verbindingen zijn de afgelopen decennia wel geïdentificeerd. Het gaat er nu erom de verbindingen te karakteriseren die in lage hoeveelheden aanwezig zijn of buiten ons normale analytische blikveld ligt. Ook moeten wij ons richten op het detecteren van karakteristieke verbindingen in culturen of verrijkingen van ecologisch interessante microben en methodes ontwikkelen om deze heel gevoelig te kunnen meten in oude sedimenten. Er is nog veel te doen en nog veel te ontdekken. Ik ben er van overtuigd dat mijn vakgebied nog vele grote sprongen voorwaarts gaat maken en zijn impact zal maken op andere vakgebieden.

Dankwoord

Zo, het zit erop. Nu kan ik toekomen aan het gedeelte waar ik het meest naar vooruit heb gekeken maar de minste tijd voor mag gebruiken. Terugkijkend is het verwonderlijk hoe mijn carrière is verlopen van een jongetje uit het Haagsche Laakkwartier, bekend van de voetbalsupporters, koffiehuisen en de enkele bom die richting ME'ers wordt gegooid, tot iemand die staat te orenen in een statig gebouw van een eeuwenoude universiteit. Mijn carrière is door vele mensen gestimuleerd en gestuurd en het is onmogelijk ze allemaal te noemen hier...maar ik noem er toch een paar. Allereerst de studenten, OIO's, postdocs, wetenschappelijke staf en vooral de analisten met wie ik heb samengewerkt. Ik kan alleen zo omhoog vallen omdat ik op de schouders sta van deze mensen. Door het multidisciplinaire karakter van mijn vakgebied heb ik het geluk gehad met vele mensen uit sterk verschillende vakgebieden te kunnen samenwerken, teveel om op te noemen. Omdat het proces dat leidde tot mijn benoeming tot hoogleraar zich buiten mijn gezichtsveld afspeelde weet ik niet wie de hoofdrolspelers zijn, maar de Utrechtse geochemiegroep rond Gert-Jan Reichart en Jack Middelburg, waarin ik nu een plekje heb, zal ongetwijfeld een positieve rol hebben gespeeld. Ik zie uit naar verdere samenwerking met jullie en andere geowetenschappers binnen de faculteit Geowetenschappen, evenals met andere collega's van de Universiteit Utrecht zoals de Brinkhuis/Sluijs/Sangiorgi 'mafia'. Ik ben ook veel dank verschuldigd aan mijn mentoren in dit fascinerende vakgebied. Allereerst Jan de Leeuw, die mij, via de onschuldige vraag "Weet je al wat je gaat doen voor afstuderen?" tijdens het tentamen Organische Geochemie,

de kans gaf om dit vakgebied, middels afstudeerproject en opvolgende OIO positie, te leren kennen. Tijdens je tijd als directeur van het NIOZ hadden wij minder contact, maar ook toen was je cruciaal door je terloopse voorstel om een sabbaticaljaartje in de Verenigde Staten te doen. Dank voor alle kansen die je mij hebt gegeven en onze immer prettige samenwerking. Al vanaf het beginstadium loopt Jaap Sinninghe Damsté, mijn voorganger op deze leerstoel, als een rode draad door mijn carrière. Niet alleen was hij medebegeleider tijdens het afstuderen en copromotor bij mijn promotieonderzoek, ook gaf hij mij de kans om, als postdoc op zijn Pionier project, mij te verdiepen in componentspecifieke isotopen en was hij essentieel in het faciliteren van mijn terugkomst naar het NIOZ. Jouw passie en gedrevenheid voor ons vakgebied en de wetenschap in het algemeen, je rigourosheid in het becommentariëren van artikelen ('ik heb toch nog wel wat op te merken'), en de snelheid waarmee je dit doet zijn een groot voorbeeld voor mij en ik hoop dat wij onze samenwerking tot in lengte der jaren kunnen voortzetten. Niet in de laatste plaats wil ik mijn ouders bedanken voor hun jarenlange steun. Al vrij snel hadden jullie door dat het toch niet te begrijpen was wat ik deed, maar vonden jullie het wel goed, zolang ik er maar plezier in had en er brood op de plank kwam. Ik hoop dat het jullie na vandaag iets duidelijker is geworden wat ik allemaal doe! Tenslotte nog de twee grote sterren in mijn leven: Ellen, het is al bijzonder om je als levenspartner te hebben maar ook nog eens als collega. Op die manier ben jij mijn grote steun niet alleen buiten het werk maar ook nog eens essentieel binnen het werk, zeker als de LC-goeroe van de Organische Geochemie. Jouw moedige beslissing om een carrière in de Verenigde Staten op te geven, 'voor het team', zal ik nooit vergeten. We hebben al veel wetenschappelijk producties samen gedaan met als hoogtepunt ruim zeven jaar geleden, de geboorte van onze zoon Collin. Dankzij jullie heb ik nog een privéleven en samen met jullie hoop ik nog vele mooie, niet-wetenschappelijke, dingen te beleven.

Ik heb gezegd.

Literatuur

- Bauersachs T., Speelman E.N., Hopmans E.C., Reichart G.J., Schouten S. and Sinninghe Damsté J.S. (2010) Fossilized glycolipids reveal past oceanic N₂ fixation by heterocystous cyanobacteria. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 108, 19190–19194.
- Bauersachs T., Compaoré J., Hopmans E.C., Stal L.J., Schouten S. and Sinninghe Damsté J.S. (2009) Distribution of heterocyst glycolipids in cyanobacteria. *Phytochem.* 70, 2034–2039.
- Bauersachs T., Hopmans E.C., Compaoré J., Stal L.J., Schouten S. and Sinninghe Damsté J.S. (2009) Rapid analysis of long-chain glycolipids in cyanobacteria using high performance liquid chromatography coupled to electron spray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23, 1387 – 1394.
- Chappe, B., Albrecht, P., Michaelis, W., 1982. Polar lipids of archaeobacteria in sediments and petroleum. *Science* 217, 65 – 66.
- DeLong, E.F., 1992. Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 89, 5685 – 5689.
- Fuhrman, J.A., McCallum, K., and Davis A.A., 1992. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature* 356, 148 – 149.
- Gliozzi, A., Paoli, G., DeRosa, M., Gambacorta, A., 1983. Effect of isoprenoid cyclization on the transition temperature of lipids in thermophilic archaeobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta* 735, 234–242.
- Hoefs M.E.L., Schouten S., King L.L., Wakeham S.G., De Leeuw J.W. and Sinninghe Damsté J.S. (1997) Ether lipids of planktonic archaea in the marine water column. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3090–3095.
- Hopmans E.C., Schouten S., Pancost R.D., Van Der Meer M.J.T. and Sinninghe Damsté J.S. (2000) Analysis of intact tetraether lipids in archaeal cell material and sediments using high performance liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Rap. Comm. Mass. Spectrom* 14, 585–589. *Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1683–1684.
- Kohnen M.E.L., Schouten S., Sinninghe Damsté J.S., De Leeuw J.W., Merritt D. and Hayes J.M. (1992) Recognition of paleobiochemicals by a combined molecular sulphur and isotope geochemical approach. *Science* 256, 358–362.
- Schouten S., Hopmans E.C., Kuypers M.M.M., Van Breugel Y., Forster A. and Sinninghe Damsté J.S (2003) Extremely high sea water temperatures at low

- latitudes during the middle Cretaceous as revealed by archaeal membrane lipids. *Geology* 31, 1069-1072
- Schouten S., Hopmans E.C., Schefuss E. and Sinninghe Damsté J.S. (2002) Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: A new organic proxy for reconstructing ancient sea water temperatures? *Earth Planet. Sci. Lett.* 204, 265-274.
- Sinninghe Damsté J.S., Hopmans E.C., Schouten S., Van Duin A.C.T. and Geenevasen J.A.J. (2002) Crenarchaeol: The characteristic core glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether membrane lipid of cosmopolitan pelagic crenarchaeota. *J. Lip. Res* 43, 1641-1651.
- Sinninghe Damsté J.S., Hopmans, E.C., Pancost, R.D., Schouten S., and Geenevasen J.A.J. (2000) Newly discovered non-isoprenoid dialkyl diglycerol tetraether lipids in sediments. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1683-1684.
- Sluijs A., Schouten S., Pagani M., Woltering M., Brinkhuis H., Sinninghe Damsté J.S., Dickens G.R., Huber M., Reichert G.-J., Stein R., Matthiessen J., Lourens L.J., Pedentchouk N., Backman J., Moran K. and The Expedition 302 Scientists (2006) Subtropical Arctic Ocean temperatures during the Palaeocene-Eocene thermal maximum. *Nature* 441, 610-613.
- Weijers J.W.H., Schefuss, E., Schouten S. and Sinninghe Damsté J.S. (2007) Coupled thermal and hydrological evolution of tropical Africa over the last deglaciation. *Science* 315, 1701-1704.
- Weijers J.W.H., Schouten S., Van Den Donker J.C., Hopmans E.C. and Sinninghe Damsté J.S. (2007) Environmental controls on bacterial tetraether membrane lipid distribution in soils. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 703-713.
- Wuchter C., Abbas B., Coolen M.J.L., Herfort L., Timmers P., Strous M., Van Bleijswijk J., Teira E., Herndl G.J., Middelburg J.J., Schouten S. and Sinninghe Damsté J.S. (2006) Archaeal nitrification in the ocean. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 103, 12317-12322.
- Wuchter C., Schouten S., Boschker H.T.S. and Sinninghe Damsté J.S. (2003) Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota. *FEMS Microbiol. Lett.* 219, 203-208.