

Игнатов Игнат,
Ignatov Ignat
директор Научно-исследовательского
центра медицинской биофизики,
София, Болгария.
Director of Scientific-Research Centre
of Medical Biophysics
Sofia, Bulgaria
E-Mail: mbioph@dir.bg

Мосин Олег Викторович,
Mosin Oleg Victorovich
Научный сотрудник
Московского государственного
университета
прикладной биотехнологии,
Scientist employee
Moscow State University
of Applied Biotechnology
E-Mail: mosin-oleg@yandex.ru

Изотопный состав воды и ее температура в процессе эволюционного происхождения жизни и живой материи

Isotopic composition of water and its temperature in the evolutionary origin of life and
living matter

Аннотация: В статье обсуждается значение воды и изотопный состав водной среды в процессе эволюционного происхождения жизни. Рассмотрен синтез наиболее важных органических молекул аминокислот, протеинов и нуклеиновых кислот из неорганических молекул, а также возможные реакции, протекающие в первичной водной гидросфере. Методом ИК-спектроскопии были исследованы образцы горячей минеральной, морской и горной воды из различных источников Болгарии. Высказано предположение, что в условиях первичной бескислородной атмосферы, лишенной озонового слоя, под воздействием геотермальной энергии, коротковолнового излучения Солнца и мощных искровых разрядов, в гидросфере древней Земли могла образовываться и накапливаться тяжелая вода (D₂O), физико-химические свойства которой значительно отличаются от свойств обычной воды. Этот факт может наложить существенный отпечаток на представления о ранних этапах эволюции жизни и ее возникновения в условиях повышенных температур и повышенного содержания дейтерия. В ходе работы были получены различные адаптированные к максимальным концентрациям D₂O клетки микроорганизмов, реализующие метилотрофный, хемогетеротрофный, фотоорганогетеротрофный и фотосинтетический способы ассимиляции углеродных субстратов, весь биологический материал которых вместо водорода содержит дейтерий. Их дальнейшее изучение позволит дать ответ на вопрос как функционируют дейтерированные молекулы жизненно-важных соединений в условиях первичной гидросферы и горячих водных сред, в которых все атомы водорода замещены на дейтерий.

The Abstract: In the present paper the essence of water and isotopic structure of water during a process of origin of life is investigated. Synthesis of the most important organic molecules such as amino acids, proteins and nucleic acids from inorganic molecules in conditions of an

oxygen-free atmosphere of ancient earth together with possible reactions accompanying their synthesis is considered. It was performed experiments for the research of hot mineral, sea and mountain water from Bulgaria with IR spectroscopy. It was proposed an assumption, that in conditions of the primary oxygen-free atmosphere, deprived an oxygene-ozone layer, under influence of geothermal energy, short-wave radiation of the Sun and powerful spark discharges, in hydrosphere of the ancient Earth heavy water (D₂O) could be formed and collected, which physical and chemical properties considerably differ from properties of usual water. This fact can imprint an essential impact on representations about early stages of evolution of life and its occurrence in conditions of the increased temperatures and the increased contents of deuterium. During the work there are received at growth on heavy water media the various cells of the microorganisms realizing methylotrophic, chemoheterotrophic, photoorganotrophic, and photosynthetic ways of assimilation of carbon substrates, adapted to the maximal concentration D₂O, all which biological material instead of hydrogen contains deuterium. Their further studying will allow us to give the answer to a question as function the life important deuterated molecules in conditions of primary hydrosphere and hot water solutions in which all atoms of hydrogen are replaced on deuterium.

Ключевые слова: дейтерий, тяжелая вода, гидросфера, эволюция

Keywords: deuterium, heavy water, hydrosphere, evolution

1. Введение

Природная распространённость изотопа водорода дейтерия (D) составляет 0,015 ат.% D (от общего числа всех атомов водорода) [1]. Источником дейтерия во Вселенной являются вспышки сверхновых звёзд и термоядерные процессы, идущие внутри звёзд. Возможно, этим объясняется тот факт, что мировое количество дейтерия повышается в период глобальных потеплений и изменений климата. Гравитационное поле Земли недостаточно сильное для удержания лёгкого водорода, и наша планета постепенно теряет водород в результате его диссоциации в межпланетное пространство. Водород улетучивается быстрее тяжелого дейтерия, способного накапливаться в гидросфере Земли. Поэтому в результате этого природного процесса фракционирования изотопов H/D в процессе эволюции Земли должно происходить накопление дейтерия в поверхностных водах, в то время как в атмосфере и в водяном паре содержание дейтерия низкое. Таким образом, на планете происходит масштабный природный процесс разделения изотопов H и D, играющий существенный роль в поддержании жизни.

Соотношение D/H (изотопные сдвиги, δ , ppm) по международному стандарту SMOW, соответствующему стабильной по изотопному составу воде Мирового океана, составляет: $D/H = (155,76 \pm 0,05) \cdot 10^{-6}$ (155,76 ppm) [2]. По международному стандарту природной воды из Антарктики SLAP соотношение D/H в воде составляет $D/H = 89 \cdot 10^{-6}$ (89 ppm). Для природных вод чаще всего характерны отрицательные отклонения от SMOW на $(1,0-1,5) \cdot 10^{-5}$, в отдельных случаях до $(6,0-6,7) \cdot 10^{-5}$, но встречаются и положительные отклонения до $2,0 \cdot 10^{-5}$. В среднем в природных водах соотношение D/H составляет 1 : 5700. Дейтерий в природных водах распределен неравномерно: варьируя от 0,015 ат.% D для воды из Антарктического льда, до 0,02–0,03 ат.% D для речной и морской воды. Талая вода и горная вода, полученная за счет таяния ледников содержит на 3–5% меньше дейтерия, чем речная вода. В среднем, в 1 тонне речной воды содержится 150–300 г. дейтерия. Воды других подземных и поверхностных источников содержат разное количество дейтерия от $\delta = +5,0$ D,%, SMOW (Средиземное море) до $\delta = -105$ D,%, SMOW (река Волга).

Раннее авторами было высказано предположение, что первичная вода на ранних стадиях эволюции содержала больше дейтерия и он был распространен неравномерно в атмосфере и гидросфере [3]. Как известно, первичная атмосфера Земли обладала восстановительными свойствами и состояла, в основном, из смеси газов – CO, H₂, N₂, NH₃ и CH₄. В условиях восстановительной атмосферы отсутствовал защитный кислородно-озоновый слой, экранирующий поверхность Земли от жесткого коротковолнового солнечного излучения, несущего большую энергию, способного вызвать фотолиз и радиолиз воды. Процессами, сопровождающими накопление дейтерия в гидросфере признаны радиационное излучение, вулканические геотермальные процессы и электрические разряды в атмосфере. Эти природные процессы могли явиться результатом обогащения гидросферы дейтерием в форме HDO, которая испаряется медленнее обычной воды, а конденсируется быстрее. Формирование HDO происходит в смесях D₂O–H₂O за счет реакций диссоциации и изотопного (H–D) обмена: H₂O + D₂O = 2HDO. Поэтому при низких концентрациях дейтерий присутствует в воде в форме HDO, а при высоких – в форме D₂O. Строение молекул D₂O такое же, как молекул H₂O, с очень малым различием в значениях длин ковалентных связей и углов между ними. D₂O кипит при 101,44⁰C, замерзает при 3,82⁰C, имеет плотность при 20⁰C 1,1053 г/см³, причём максимум плотности приходится не на 4⁰C, как у H₂O, а на 11,2⁰C (1,1060 г/см³) (Таблица 1). Эти эффекты отражаются на энергии химической связи, кинетике и скорости химических реакций в D₂O. Протолитические реакции и биохимические процессы в D₂O значительно замедлены. Однако, существуют и такие реакции, скорость которых в D₂O выше, чем в H₂O. В основном это реакции, катализируемые ионами D₃O⁺ или H₃O⁺ или OD⁻ и OH⁻. Согласно теории абсолютных скоростей разрыв C–H-связей может происходить быстрее, чем C–D-связей, подвижность иона D₃O⁺ меньше, чем подвижность H₃O⁺, константа ионизации D₂O меньше константы ионизации H₂O. Это означает, что в первичной воде самоорганизующиеся дейтерированные структуры могли существовать дольше во времени, чем протонированные формы. Существуют достаточные основания предполагать, что в ту эпоху существовал процесс структурирования в водной среде органических молекул, поскольку структурирующее свойства и стабилизирующее воздействие D₂O на химические связи из-за изотопных эффектов D несколько более выражены, чем у H₂O [4]. Самые большие изотопные эффекты в разнице констант скоростей химических реакций с соотношением $k_H/k_D = 6-8$ наблюдаются в D₂O для C–H/C–D, N–H/N–D и O–H/O–D связей [5].

Дейтерированные клетки различных микроорганизмов, адаптированные к максимальным концентрациям D₂O в ростовых средах (95–98 об.% D) являются удобными объектами для прогнозирования условий эволюции и адаптации, а также изучения структуры и конформации клеточных природных соединений и молекулярной организации клетки методом ЯМР-спектроскопии. В процессе роста в D₂O в клетках синтезируются молекулы протеинов и ДНК, атомы водорода в углеродных скелетах которых почти полностью замещены на дейтерий. Такие дейтерированные макромолекулы претерпевают структурно-конформационные изменения, необходимые для их функционирования в D₂O.

Интерес к дальнейшему использованию дейтерированных клеток микроорганизмов в исследованиях на их основе механизмов клеточной адаптации к D₂O и молекулярной эволюции, предопределил направление наших исследований. Целью настоящей работы являлось изучение изотопных эффектов дейтерия в биологических системах с D₂O и прогнозированию условий первичной гидросферы (температура, значение pH, изотопный состав), в которых зародились первые формы жизни.

2. Экспериментальная часть

Материалы и методы

Объекты исследования и методы

Исследования проводились с клетками прокариот и эукариот, реализующими метилотрофный (облигатные и факультативные метилотрофные бактерии – *Brevibacterium methylicum*, *Methylobacillus flagellatum*), хемогетеротрофный (*Bacillus subtilis*), фотоорганогетеротрофный (галобактерия *Halobacterium halobium*) и фотосинтетический (сине-зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*) пути ассимиляции субстратов, и с образцами воды различного происхождения (Болгария).

Образцы воды для их исследования методом ИК-спектроскопии были взяты из различных источников Болгарии:

- 1 – минеральная вода местечка Рупайт (Болгария);
- 3 – морская вода (курорт Варна, Болгария);
- 4 – горная вода (Тетевен, Болгария);

Также был исследован сок кактуса *Echinopsis pachanoi* методом ИК-спектроскопии.

Для приготовления ростовых сред использовали D₂O (99,8 ат.% D), DCI (95,5 ат.% D) и [D]метанол (97,5 ат.% D), полученные из Российского научно-исследовательского центра “Изотоп” (Санкт-Петербург, РФ). Неорганические соли предварительно перекристаллизовывали в D₂O, D₂O дистиллировали над KMnO₄ с последующим контролем изотопной чистоты ¹НЯМР-спектроскопией на приборе Bruker WM-250 (“Bruker”, ФРГ) (рабочая частота 70 МГц, внутренний стандарт Me₄Si).

Для выращивания клеток и изучения адаптации использовали жидкие и агаризованные (2%-ный агар) ростовые среды со ступенчато увеличивающейся концентрацией D₂O (от 0; 24,5; 49,0; 73,5 до 98% D₂O). Выращивание метилотрофов и хемогетеротрофов проводили при 34–35 °С в колбах Эрленмейера вместимостью 250 мл с наполнением средой до 50 мл в условиях интенсивной аэрации, используя в качестве источников дейтерия D₂O и [D]метанол. Фотоорганогетеротрофы и сине-зеленые микроводоросли выращивали при 38 °С при освещении лампами дневного света ЛБ-40. Бактериальный рост определяли по способности к образованию отдельных колоний на поверхности твердых агаризованных (2%-ный агар) сред, а также по величине ОП суспензии клеток, измеренной на спектрофотометре Beckman DU-6 (“Beckman”, США) при λ 620 нм.

Уровни включения дейтерия определяли на импульсном масс-спектрометре VG-70 SEQ (“Fisons VG Analytical”, США), снабженным цезиевым источником Cs⁺ на глицериновой матрице с ускоряющим напряжением 5 кВ и ионным током 0,6–0,8 мА и ¹НЯМР-спектроскопией на приборе Bruker WM-250 (“Bruker”, ФРГ) (рабочая частота 70 МГц, внутренний стандарт Me₄Si).

ИК-спектры образцов воды регистрировали на Фурье-ИК спектрометре Bruker Vertex (“Bruker”, ФРГ) (спектральный диапазон: средний ИК – 370–7800 см⁻¹; видимый – 2500–8000 см⁻¹; разрешение – 0,5 см⁻¹; точность волнового числа – 0,1 см⁻¹ на 2000 см⁻¹).

3. Результаты и их обсуждение

Мы исследовали изотопные эффекты дейтерия в прокариотических и эукариотических клетках различных таксономических групп микроорганизмов, реализующих метилотрофный, хемогетеротрофный, фотоорганотрофный и биосинтетический пути ассимиляции субстратов

(облигантные и факультативные метилотрофные бактерии, хемогетеротрофные бактерии, галобактерии, синезеленые водоросли) методами ¹H-ЯМР-, ИК- и масс спектрометрии. Для адаптации клеток к D₂O разработан метод ступенчатой адаптации за счет рассева исходных клеток на твердые (2%-ный агар) питательные среды при ступенчатом увеличении градиента концентрации D₂O (от 0; 24,5; 49,0; 73,5 до 98% D₂O) и последующей селекции устойчивых к D₂O клеток. Выросшие на средах с низким градиентом концентрации D₂O клетки переносили на среды с большим градиентом концентрации, вплоть до 98% D₂O. В результате на максимально дейтерированных средах с 98% D₂O получены адаптированные к D₂O клетки, весь биологический материал которых вместо водорода содержит дейтерий. Уровень выживаемости клеток на 98% D₂O составил не более 40%.

Показано, что эффекты, наблюдаемые при адаптации клетки к D₂O носят комплексный многофакторный характер и связаны с изменениями морфологических, цитологических и физиологических параметров – величины лаг-периода, времени клеточной генерации, выходов биомассы, соотношения синтезируемых аминокислот, белков, нуклеозидов, сахаров и липидов при росте в D₂O, а также с уровнем эволюционной организации исследуемого объекта. Общей особенностью изученных микроорганизмов при росте в D₂O является пропорциональное увеличение продолжительности лаг-периода и времени клеточной генерации при уменьшении выходов микробной биомассы. Полученные свидетельства о том, что клетка реализует особые адаптивные механизмы, способствующие функциональной реорганизации работы жизненно-важных систем в D₂O. Наиболее чувствительными к замене H⁺ на D⁺ признаны аппарат биосинтеза макромолекул и дыхательная цепь, т. е. те клеточные системы, использующие высокие скорости образования и разрыва водородных связей. Данный факт позволяет рассматривать биологическое воздействие D₂O как комплексное воздействие, действующему одновременно на функциональное состояние большого числа систем: метаболизм, биосинтетические процессы, транспорт веществ, структуру и функции макромолекул. Также возможно, что в процессе адаптации к D₂O изменяется соотношения основных клеточных метаболитов. Кроме того, присутствие дейтерия вызывает физиологические, морфологические и цитологические изменения в клетках изученных микроорганизмов, что в конечном итоге приводит к формированию в D₂O крупных атипичных клеток, состоящих из плотно упакованных мембран, напоподобие мезосом, имеющих в 2–3 раза более толстую клеточную стенку; чем протонированные клетки с неравномерным распределением ДНК [6, 7]. Полученные данные, в целом, подтверждают устойчивое представление о том, что адаптация к D₂O является фенотипическим явлением, поскольку адаптированные к D₂O клетки возвращаются после их переноса на обычную водную среду к нормальному росту после некоторого лаг-периода. В то же время эффект обратимости роста на H₂O/D₂O-средах не исключает возможности того, что определенный генотип детерминирует проявление одного и того же фенотипического признака в средах различного изотопного состава.

Как показали наши исследования, чувствительность различных биологических объектов к D₂O различная. Клетки животных способны выдерживать до 25–30% D₂O, растений – 60% D₂O, а клетки простейших микроорганизмов – 90% D₂O (рис. 1).

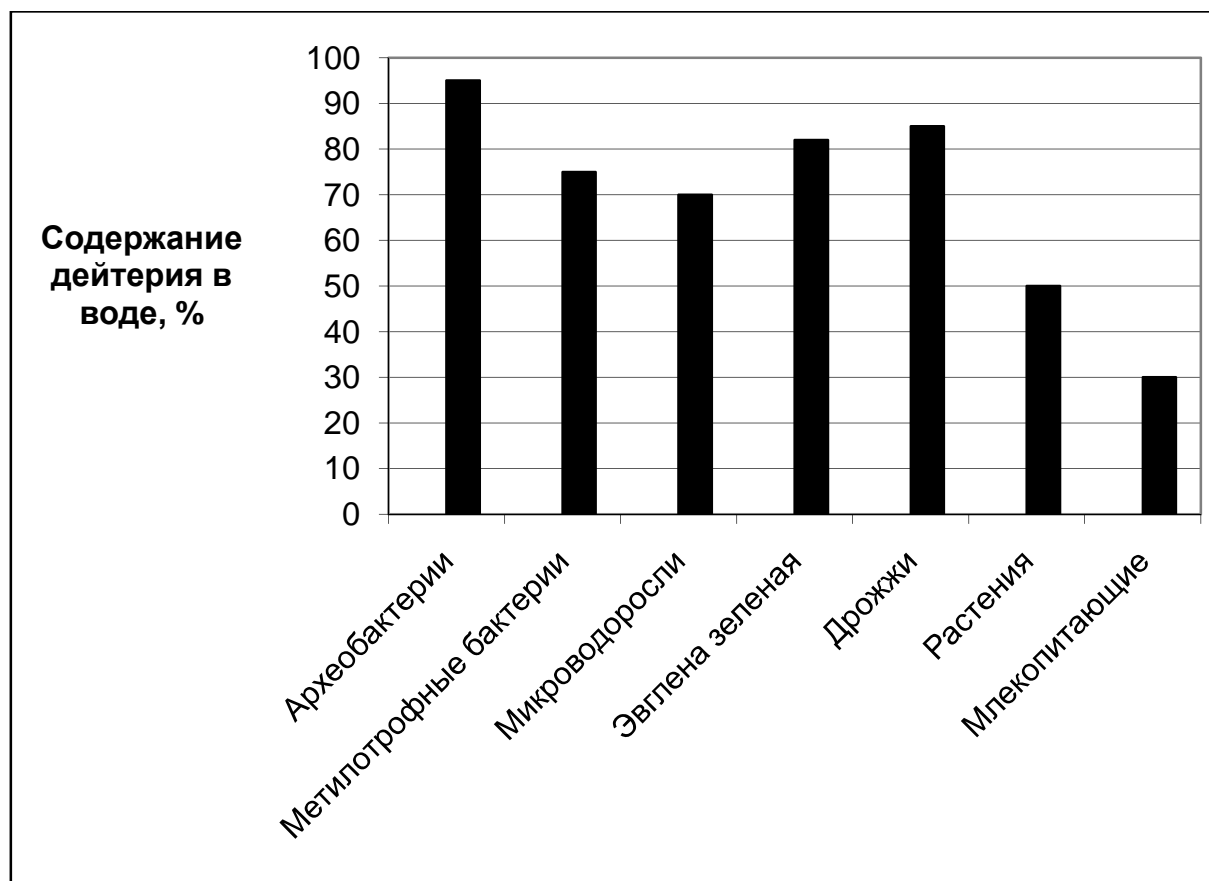


Рис. 1. Выживаемость различных организмов в воде с различными содержаниями дейтерия (по данным экспериментальных исследований авторов)

В процессе клеточной адаптации к D_2O наиболее важными для структуры макромолекулы являются динамические короткоживущие водородные (дейтериевые) связи. Они формируются между соседними атомами дейтерия (водорода) и гетероатомами O, C, N, S и D_2O из окружающей среды и играют существенную роль в поддержании пространственной структуры макромолекул и в межмолекулярных взаимодействиях. Замещение атомов водорода дейтерием изменяет конформацию и стабильность водородных (дейтериевых) связей в макромолекулах протеинов и ДНК, способствующих поддержанию их структуры и стабильности. Связи, сформированные атомами дейтерия различаются по прочности и энергии от аналогичных водородных связей. Различия в нуклеарной массе атома H и D могут служить причиной различий в синтезах нуклеиновых кислот, которые могут приводить к структурным различиям и к функциональным изменениям в клетке. Ферментативные функции и структура синтезируемых белков также изменяются при росте клеток в D_2O , что может отразиться на процессах метаболизма и деления клетки. Другое важное свойство определяется пространственной структурой D_2O , имеющей тенденцию сближать гидрофобные группы макромолекул, чтобы минимизировать их эффект на водородную (дейтериевую) связь в присутствии молекул D_2O . Поэтому структура макромолекул белков и нуклеиновых кислот в D_2O несколько стабилизируется [8]. При помещении клеток биологических объектов в D_2O , из них не только удаляется протонированная вода за счет реакции обмена H_2O-D_2O , но и происходит быстрый изотопный (H-D) обмен в гидроксидных (-OH), сульфгидрильных (-SH) и аминогруппах (-NH₂) всех органических соединений, включая белки, нуклеиновые кислоты, углеводы и липиды. Известно, что в этих условиях только ковалентная C-H связь не подвергается изотопному обмену и вследствие этого только соединения со связями типа C-D могут синтезироваться de novo [9].

Биологические эксперименты с D₂O дают возможность лучше прогнозировать условия, при которых зародилась жизнь. Маловероятно, что жизнь могла возникнуть в хаотической неинформационной воде. Живые организмы и вода являются сложными, самоорганизующимися системами с характерной структурой. Самыми благоприятными для зарождения жизни признаны минеральные воды, взаимодействующие с CaCO₃, а затем морские воды [10, 11]. Циркулируя в полостях, микротрещинах и каналах, воды карстовых источников обогащаются Ca(HCO₃)₂, активно взаимодействующим с органическим веществом и могут содержать информацию о жизни в более поздние геологические периоды. При этом самоорганизация первичных органических соединений в водной среде поддерживалась термальной энергией магмы, вулканической деятельностью и солнечной активностью.

Нами были проведены эксперименты по исследованию минеральной, морской и горной воды из Болгарии ИК-спектроскопией методом дифференциально неравновесного энергетического спектрального анализа (ДНЭС) относительно контроля – «деионизированной» воды (рис. 2, кривые 1–5, таблица). В ходе эксперименты были исследованы образцы воды из карстовых источников. Также методом ДНЭС были исследованы ИК-спектры сока кактуса (рис. 2, кривая 1). Кактус был выбран в качестве модельной системы, потому что растение содержит около 90 масс.% воды. Полученные данные продемонстрировали, что наиболее близким к ИК-спектру сока кактуса являлся ИК-спектр минеральной воды, контактирующей с CaCO₃ (рис. 2, кривая 2). Аналогичный ИК-спектр имеют карстовые воды (рис. 2, кривая 4). При этом наиболее близкий к ИК-спектру сока кактуса (рис. 2, кривая 1) имел ИК-спектр карстовых вод, взаимодействующих с минеральной водой. Так, ИК-спектры сока растений, минеральная вода и вода карстовых источников, взаимодействующих с CaCO₃, имели значения пиков ИК-спектров при -0,1112; -0,1187; -0,1262; -0,1287 и -0,1387 эВ, соответственно. Подобные пики в ИК-спектре между соком растений, горной и морской водой детектировались при -0,1362 эВ. ИК-спектр контрольного образца деионизированной воды (рис. 2, кривая 5) существенно отличался от ИК-спектра морской минеральной и горной воды. Методом ДНЭС были измерены величины средней энергии ($\Delta E_{H...O}$) водородных H...O-связей между молекулами H₂O в процессе формирования кластерных ассоциатов формулы (H₂O)_n, составляющие $-0,1067 \pm 0,0011$ эВ.

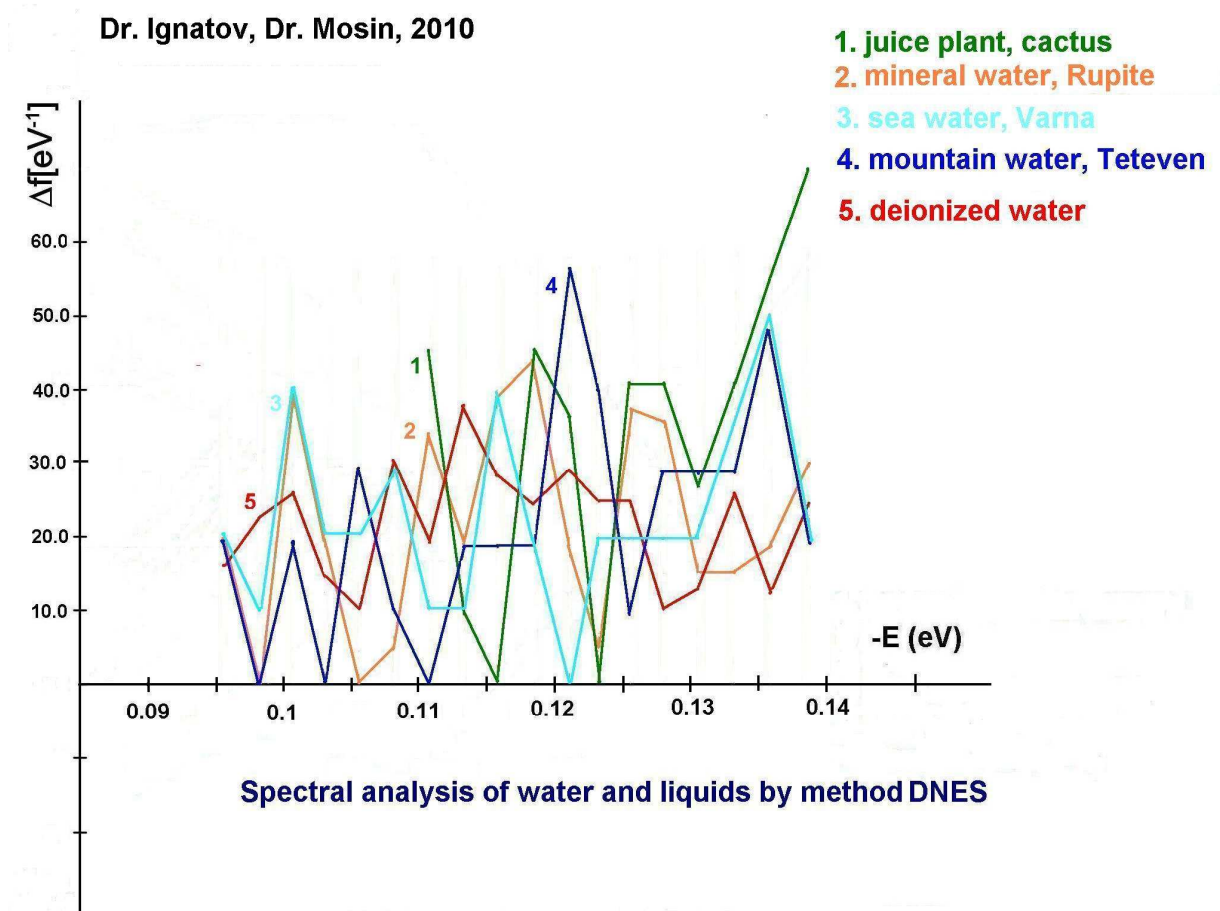


Рис. 2. Дифференциальные неравновесные энергетические спектры (ДНЭС) образцов воды различного происхождения: 1 – сок кактуса; 2 – минеральная вода местечка Рупайт (Болгария); 3 – морская вода (курорт Варна, Болгария); 4 – горная вода (Тетевен, Болгария); 5 – деионизированная вода (контроль)

Таблица

Характеристики ИК-спектров (ДНЭС-метод) воды различного происхождения

-E (eV) Сок кактуса	-E (eV) Минеральная вода Рупайт	-E (eV) Морская вода	μm	cm^{-1}
0,1112	0,1112	–	11,15	897
0,1187	0,1187	–	10,45	957
0,1262	0,1262	–	9,83	1017
0,1287	0,1287	–	9,64	1037
0,1362	–	0,1362	9,10	1099
0,1387	0,1387	–	8,95	1117

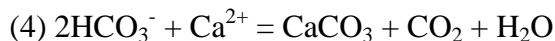
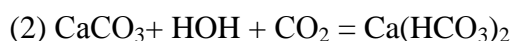
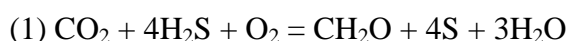
*Примечание: Функция распределения по энергиям Δf измеряется в электронвольтах (eV^{-1}). Показано при каких значениях спектра $-E$ в eV наблюдаются самые большие локальные максимумы этой функции

Согласно полученным данным, при изменении температуры воды средняя энергия водородных Н...О связей в ассоциатах молекул H_2O изменяется. Эти данные свидетельствуют о том, что возникновение жизни зависит как от структуры и свойств воды, так и от внешних

факторов – температуры и значения pH. Данным условиям наиболее лучше удовлетворяет взаимодействующая с CaCO₃ минеральная вода. Затем по качеству следует горная вода. В теплых и горячих минеральных водах ИК-пики в неравновесном энергетическом ИК-спектре более выражены по сравнению с ИК-пиками, полученными в той же воде с более низкой температурой. Это показывает на большую энергию для сохранения самоорганизованных структур во времени. Спектральный диапазон находился в среднем ИК-диапазоне от 8 до 14 мкм. Предполагается, что существует окно прозрачности земной атмосферы для электромагнитной радиации в среднем ИК-диапазоне. В этом интервале энергия излучается от Солнца к Земле, и от Земли в окружающее пространство.

Вероятность происхождения жизни является наиболее большой в теплой и горячей воде с определенной структурой. При рассмотрении природных процессов самоорганизации существует интересный феномен, найденный в карстовых источниках местечка Златна Панега, Тетевен (Болгария). Обитающие там сине-зеленые водоросли окружены пузырьками диаметром 3–5 мм, время существования которых составляет от нескольких часов до дней. Вода, ИК-спектр которой аналогичен ИК-спектру сока растений, имеет тенденцию сохранять самоорганизующие структуры. При добавлении к раствору пектинов катионов Ca²⁺, раствор принимает желатинизованную структуру, поскольку катионы Ca²⁺ обладают способностью связывания с молекулами пектина с формированием комплексов. Очевидно, эти комплексы играют существенную роль в объединении различных компонентов клеточной мембраны и влияют на ее компактность и прочность.

В этой связи важны следующие реакции:



Уравнение (1) показывает, что некоторые хемосинтетические бактерии используют энергию, полученную в результате окисления H₂S до S. Уравнение (2) связано с одним из самых распространенных процессов в природе – формированием Ca(HCO₃)₂ из CaCO₃ в присутствии H₂O и CO₂. При наличии гидроксил OH⁻ ионов CO₂ превращается в HCO₃⁻ (3 уравнение). Уравнение (4) показывает процессы, сопровождающие формирование строматолитов - древнейших известковых (доломитовых) ископаемых докембрийского периода.

Экспериментальные данные подтверждают, что жизнь возникла в горячей минеральной воде с повышенным содержанием дейтерия. Это также может служить подтверждением возможного пути перехода от синтеза малых органических молекул за счет энергии УФ-излучения Солнца к более сложным органическим молекулам протеинов и нуклеиновых кислот. Молекулы протеинов построены из одной или нескольких полипептидных цепей, состоящие из большого числа различных α-аминокислот, связанных друг с другом посредством пептидной (–CO–NH–) связи. Их последующая конденсация в полипептидные цепи может произойти в определенных условиях, после их образования. Важным фактором в реакции конденсации двух молекул аминокислот является выделение молекулы H₂O. Поскольку реакция поликонденсации аминокислот сопровождается дегидратацией, при удалении H₂O из системы скорость химической реакции увеличивается. Этот факт свидетельствует о том, что раннее развитие жизни происходило вблизи действующих вулканов, поскольку в ранние периоды геологической истории вулканическая деятельность происходила более активно, чем в последующие геологические времена. Дегидратация сопровождается не только полимеризацию аминокислот, но и объединение других блоков в

более крупные органические молекулы, а также полимеризацию нуклеотидов в нуклеиновой кислоты. Такое объединение всегда связано с реакцией конденсации, при которой от одного блока "отщепляется" протон H^+ , а от другого – гидроксильная группа OH^- с образованием молекулы H_2O .

Впервые возможность существования реакций конденсации-дегидратации в условиях первичной гидросферы под воздействием синильной кислоты (HCN) и ее производных - цианамида ($HNCN_2$) и дицианамида $HN(CN)_2$, доказал Кальвин в 1965 году [12]. HCN , $HNCN_2$ и $HN(CN)_2$ обладают дегидратирующей способностью и способностью катализировать процесс связывания молекулы H_2O первичной гидросферы [13]. На присутствие HCN в первичной гидросфере указывают и ранние эксперименты С. Миллера. В присутствии HCN и цианамидов конденсация отдельных блоков, сопровождаемая дегидратацией, происходит при нормальных температурах в сильно разбавленных водных растворах (рис. 3). Реакции поликонденсации аминокислот в присутствии HCN и ее производных зависят от кислотности водных растворов, в которых они протекают [14]. В кислых водных средах (рН 4–6) эти реакции не идут, тогда как щелочные условия (рН 8–9) способствуют их протеканию. В настоящее время не существует однозначного мнения, имел ли первичный океан щелочной состав, но вероятно, что именно таким значением рН обладала озерная и минеральная вода, соприкасавшаяся с базальтом, и эти реакции могли происходить при контакте воды с базальтовыми породами.

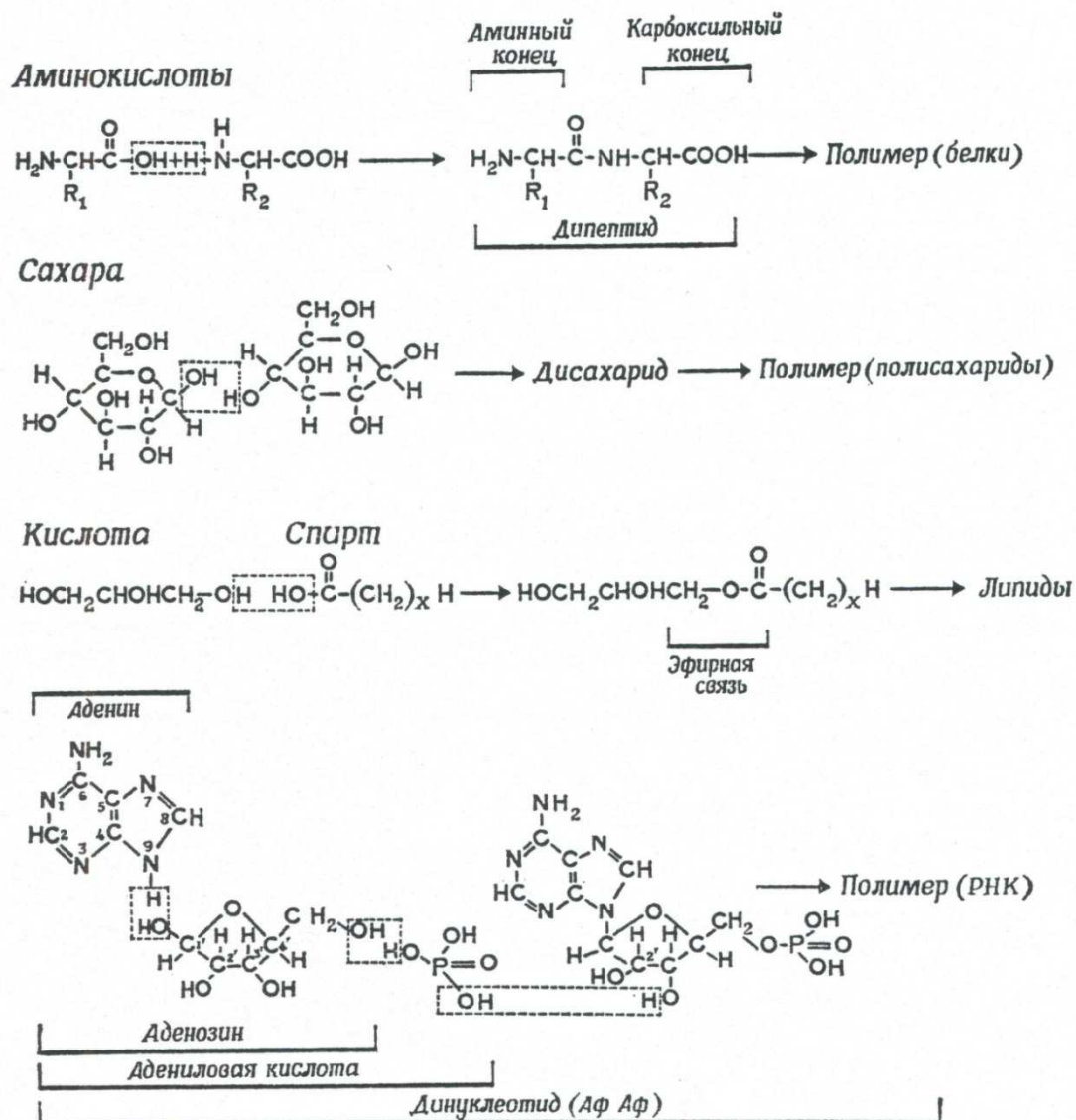
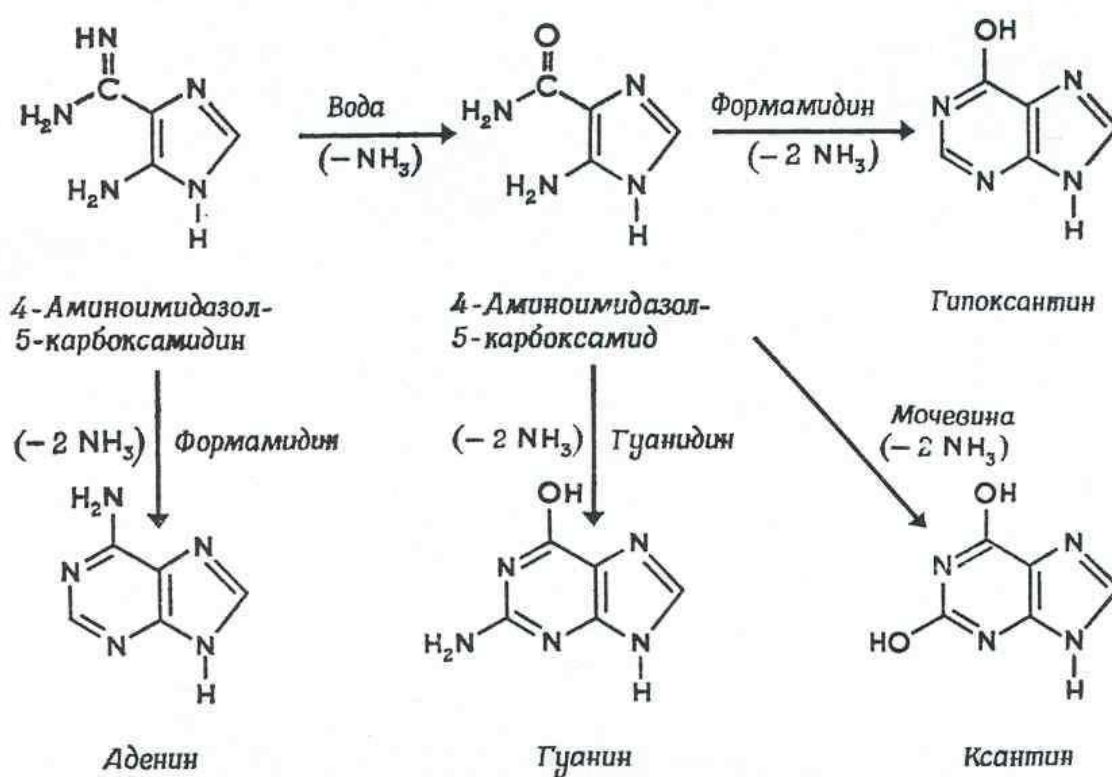


Рис. 3. Реакции конденсации и дегидратации, катализируемые HCN и ее производными, приводящие к образованию из отдельных молекул более крупных органических молекул. Верхние три уравнения: конденсация и последующая полимеризация аминокислот в протеины, углеводов в полисахариды и кислот и спиртов в липиды. Нижнее уравнение – конденсация аденина с рибозой и H₃PO₃, приводящая к образованию нуклеотида [14]

В синтезе органических молекул могли использоваться другие источники энергии, в т.ч. геотермальные. Так, в растворах формальдегида с гидросиламином, формальдегида с гидразином и в водных растворах, содержащих HCN, после нагрева реакционной смеси до 95 °С в конце опыта обнаруживались аминокислоты [15]. В других экспериментах продукты реакции полимеризовались в пептидные цепи, что является важным этапом на пути к неорганическому синтезу белка. В реакционной смеси с раствором HCN в водном NH₃ также образовывались более сложные соединения, входящие в состав нуклеиновых кислот – азотистые основания пурины и пиримидины (рис. 4) [16].



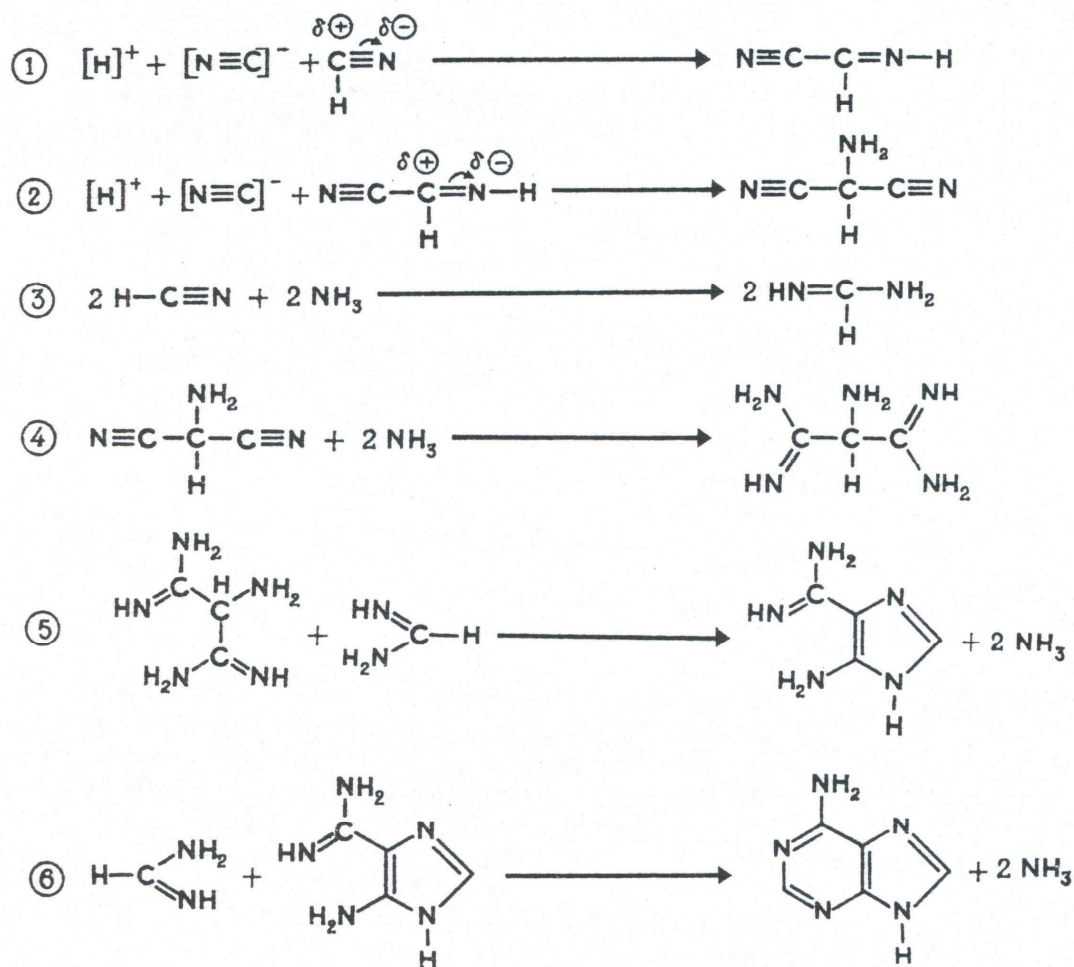


Рис. 4. Предполагаемые механизмы образования пуринов – аденина, гуанина и ксантина из водной смеси NH_3 и HCN (вверху) и аденина из водной смеси NH_3 – HCN (внизу) при $+95^\circ\text{C}$. (суммарная реакция: $5\text{HCN} = \text{аденин}$). Промежуточные продукты синтеза – 4-аминоимидазол-5-карбоксамидин и 4-аминоимидазол-5-карбоксамин детектировались в растворе

В модельных условиях первичной гидросферы безводную смесь аминокислот подвергали воздействию температур от 60°C до 170°C с образованием коротких белковоподобных соединений, обозначаемых термическими протеиноидами. Наилучшие результаты по поликонденсации получались со смесями аминокислот, содержащими аспарагиновую и глутаминовую кислоты, относящиеся к числу незаменимых аминокислот, встречающихся во всех современных организмах. Термические протеиноиды состоят из крупных молекул с молекулярной массой до 300000, состоящих из тех же аминокислот, что и природные белки. По количественному составу они содержат 18 из 22 аминокислот, обычно встречающихся у современных организмов, что соответствует общему определению белка [17]. С природным белком протеиноиды сходны и по ряду других важных свойств: по связыванию полинуклеотидов, по пригодности в пищу бактериям и крысам, по способности вызывать реакции, сходные с теми, которые катализируются ферментами в живых организмах. Синтетические протеиноиды способны каталитически разщеплять глюкозу [18] и оказывать действие аналогичное действию меланоцитстимулирующего гормона [19]. Другим важным свойством протеиноидов является их гетерогенность: т. е. последовательность

аминокислот в их пептидных цепях не случайна, а, напротив, закономерна. При промывке горячей смеси протеиноидов водой или водными растворами солей, в водной среде образуются элементарные мембраноподобные микросферы с диаметром 5–10 мкм. [20]. По морфологическим особенностям микросферы напоминают мембрану клетки, которая может быть двойной.

Образование протеноидных микросфер из смеси искусственных протеинов важно поскольку дает материал о следующем этапе эволюции жизни. Это этап от разрозненных органических молекул к группам организованных молекул – коорцерватам, собранным в отдельные структуры и отделенными от окружающего мира примитивной мембраной – аналогом мембраны клетки, что было впервые продемонстрировано выдающимся Российским ученым академиком А. И. Опариным [21].

С учетом вышеназванных факторов происхождение жизни выглядит следующим образом. Начальным этапом эволюции, по-видимому, было образование в первичной гидросфере и насыщенной водяными парами атмосфере при высоких температурах аминокислот и азотистых соединений – аналогов нуклеиновых кислот. Такой синтез возможен в условиях восстановительной атмосферы при наличии в водной среде H_3PO_3 и воздействии электрических разрядов, ультрафиолетового излучения и высоких температур. Следующим этапом является поликонденсация аминокислот в термические протеиноиды при температурах 65–170⁰C в присутствии H_3PO_3 и фосфатов при наличии в водной смеси достаточных количеств аспарагиновой и глутаминовой кислот. Затем в смеси термических протеиноидов при воздействии на них водой или кислыми водными растворами (дождем) образуются протеиноидные микросферы – предшественники первых клеток, обладающие каталитической активностью. Способность термических протеиноидов к выполнению некоторых функций, сходных с функциями ферментов живых организмов, выражается в том, что они способны в присутствии катионов Zn^{2+} расщеплять АТФ, т. е. обладают слабой ферментативной активностью [22] Впоследствии у микросфер могла появиться способность к синтезу РНК, которые могли случайным образом кодировать короткие белки. Подтверждением того, что жизнь образовалась в горячей воде служат недавние исследования Т. Сугавары, который воздействуя на водную смесь органических молекул, ДНК и протеинов при +95⁰C получил т.н. протоклетки, обладающие элементарной мембраной [23].

В 2010 г. Д. Вардо описал ископаемые строматолиты Йеллоустонского национального парка США [24]. Были изучены микроорганизмы, формирующие строматолиты в горячей воде аналогично древним организмам в зонах вулканической активности, нагреваемых магмой. Этот факт является подтверждением нашей гипотезы, основанной на биофизических исследованиях происхождения жизни в теплых и горячих минеральных водах и гейзерах с повышенным содержанием дейтерия. В июне 2010 г. сообщение на данную тему было опубликовано авторами на конгрессе Euromedica в Ганновере (Германии). В сентябре 2010 г, американские ученые Стокбридж, Льюис, Yung Юань и Wolfenden опубликовали статью “Воникла ли жизнь в горячей воде?”, в которой была продемонстрирована вероятность протекания более быстрых биохимических реакций в горячей воде.

В 2011 г. группа ученых из Лаборатории геологии в Лионе (Франция), под руководством Мари- Лор Понс, исследовали некоторые из самых старых скал планеты и обнаружили минерал серпентин. Еще раньше считалось, что первые органические формы появились вблизи гейзеров. Французские ученые показали, что вода в Гренландии была богата карбонатами, имела щелочной показатель рН, а температура находилась в пределах 100–170 °C. [25]. Геотермические и вулканические процессы в гейзерах могли происходить и в море. Эти новые результаты являются подтверждением возможного зарождения жизни в горячей

минеральной воде. Существенным фактом является и то, что процесс возникновения первых форм жизни был связан с карбонатами.

4. Выводы

Полученные данные свидетельствуют о том, что первичная вода на начальных этапах эволюции имела повышенную температуру и содержала больше дейтерия, и это является существенным фактом относительно термоустойчивости и стабильности дейтерированных макромолекул в поддержании жизни в условиях повышенных температур. Поскольку характер земной атмосферы впоследствии изменился с восстановительного на окислительный, условия на Земле изменились, что способствовало очистке гидросферы от дейтерия. Определенную роль в этом процессе могли играть карстовые породы. Очевидно, если вода содержит меньшее количество дейтерия, развитие жизни может происходить быстрее, чем в присутствии D₂O. Если бы на Земле не начался естественный процесс очистки гидросферы от дейтерия, процесс эволюции замедлился. Нам представляется выбор бактерий в качестве объектов исследования наиболее целесообразным, поскольку прокариоты как стоящие на низком уровне эволюции организмы, наиболее примитивны и более приспособлены к изменчивым условиям окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fox S.W., Krampitz G. (1964) Catalytic decomposition of glucose in aqueous solution by thermal proteinoids, *Nature*, Vol. 203, pp. 1362–1364.
2. Fox C.W., Wang C.T. (1968) Melanocytostimulating hormone: Activity in thermal polymers of alpha-amino acids, *Science*, Vol. 160, pp. 547–548.
3. Sugawara T. et al. (2011) Self-reproduction of supramolecular giant vesicles combined with the amplification of encapsulated DNA, *Nature Chemistry*, Vol. 1127, pp. P. 775–780.
4. Ward D. (2010) First Fossil-Makers in Hot Water, *Astrobiology magazine*, №1.
5. Pons M.L. (2011) Early Archean serpentine mud volcanoes at Isua, Greenland, as a niche for early life, *Proc. US National Acad. Sciences*, Vol. 108, pp. 17639–17643.
6. Mulkidjanian, A. Y.; Galperin, M. Y. (2009) 1. On the origin of life in the Zinc world. 2. Validation of the hypothesis on the photosynthesizing zinc sulfide edifices as cradles of life on Earth, *Biology Direct*.
7. Ignatov, I. (2010) Which Water is Optimal for the Origin (Generation) of Life? *Euromedica*, Hanover, pp 34-37.
8. Ignatov, I. (2011) Entropy and Time in Living Organisms, *ArchivEuromedica*, Hanover, 1st&2nd Edition, pp. 74-75.
9. “Informationability” of Water, Kirlian (Electric Images) of Different Types of Water, *Euromedica*, Hanover, pp. 62-65.
10. Ignatov, I. (2012) Origin of Life and Living Matter in Hot Mineral Water, Conference on the Physics, Chemistry and Biology of Water, Vermont Photonics, USA.
11. Ignatov, I., Mosin, O. V (2012) Isotopic Composition of Water and its Temperature in Modeling of Primordial Hydrosphere Experiments, *Euro-Eco*, Hanover, p. 62.

12. Ignatov, I., Mosin, O. V (2012) Isotopic Composition of Water and its Temperature in Modeling of Primordial Hydrosphere Experiments, VIII Int. Conference Perspectives of the Development of Science and Technique, Biochemistry and Biophysics, Vol. 15, pp. 41-49.
13. Ignatov, I., Mosin, O. V (2013) Isotopic Composition of Water and its Temperature in Modeling of Primordial Hydrosphere Experiments, Science Review, №1, pp. 17-27.
14. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2011) Современные технологии опреснения морской воды, Энергосбережение, No. 4, С. 14-19.
15. Мосин, О. В., Игнатов, И. Изотопные эффекты дейтерия в клетках бактерий и микроводорослей при росте на тяжелой воде (D₂O) //Вода: химия и экология. 2012 № 3. С. 83-94.
16. Мосин, О. В., Игнатов, И. Изучение изотопных эффектов тяжелой воды (D₂O) в биологических системах на примере клеток прокариот и эукариот//Биомедицина. 2012. Т.1. №1-3. С. 31-50.
17. Мосин, О. В., В.И. Швец, Складнев Д.А., И. Игнатов. Микробный синтез дейтерий-меченного L-фенилаланина факультативной метилотрофной бактерией *Brevibacterium Methylicum* на средах с различными концентрациями тяжелой воде// Биофармацевтический журнал. 2012. Т.4. №1. С. 11-22.
18. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2012), Загадки ледяных кристаллов, Сознание и физическая реальность, Т. 17, No. 5, С. 21-31.
19. Mosin, O. V, Ignatov, I. (2012) Kirlian Effect in Biomedicine Diagnostics and Research of Properties of Biological Objects and Water, Biomedical Radio electronics, Biomedical Technologies and Radio electronics, pp. 13-21.
20. Mosin, O. V, Ignatov, I. (2012) Structure of Water, Chemistry, Moscow, No. 11, pp. 24-27.
21. Gulyaev, Yu. V., Godik, E. E (1990) Physical Field of Biological Objects, Scientific American, №5, p. 75.
22. Gulyaev, Yu. V., Godik, E. E. (1983) Physical Field of Biological Objects, Newspaper of USSR Academy of Science. SU, №8, p. 118.
23. Ignatov, I. (2005) Energy Biomedicine, Gea-Libris, Sofia.
24. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2011) Осознание воды как субстанции жизни, Сознание и физическая реальность, Т. 16, No. 12, С. 9-21.
25. Игнатов, И., Мосин, О. В. , Изотопный состав воды и долголетие, Науковедение, Т. 14, №1, С. 2-10.
26. Игнатов, И., Мосин, О. В., Нанева, К. (2012) Вода в человеческом теле несет информацию о долголетию, Naturopathie, С. 39-41.
27. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2011) Структура воды и физическая реальность, Сознание и физическая реальность, Т. 16, No. 9, С. 16-31.
28. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2012) Адаптация к тяжелой воде. Фенотипическое или генетическое явление? Сознание и физическая реальность, Т. 17, No. 4, С. 25-36.
29. Мосин, О. В., Игнатов, И. (2011) Разделение тяжелых изотопов дейтерия (D), трития (T) и кислорода (¹⁸O) в водоочистке, Чистая вода – проблемы и решения, No. 3-4, С. 69-78.

Рецензент: Д-р к.м.н. Георгий Тыминский, председатель ЕНО.