Г. ЛИНГ

ФИЗИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

НЕЗАМЕЧЕННАЯ РЕВОЛЮЦИЯ

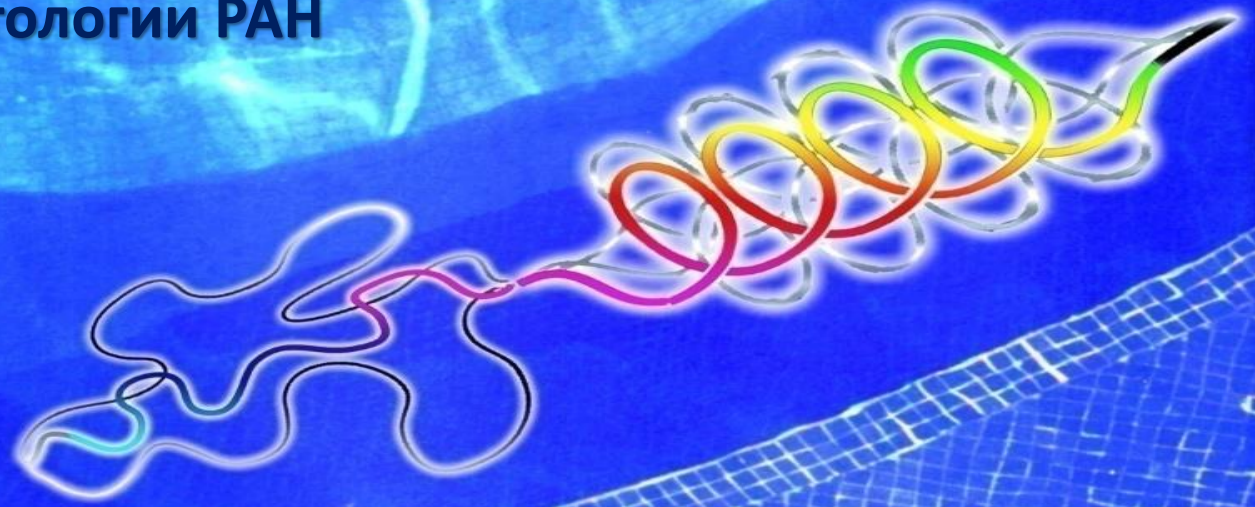
Четыре фундаментальных физических свойства клетки и проблема происхождения жизни

В.В. Матвеев

Институт цитологии РАН

E-mail: vladimir.MATVEEV@gmail.com

Сайт: http://vladimirMATVEEV.ru



Фундаментальные свойства живой клетки

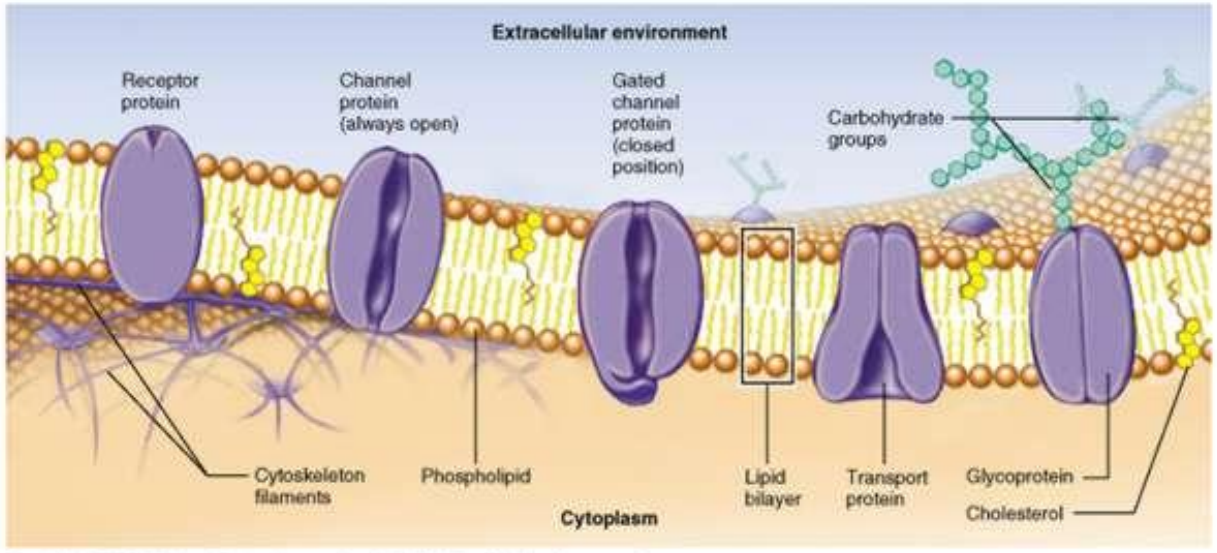
с точки зрения физики

Селективная проницаемость (полупроницаемость)
Избирательное накопление веществ
Осмотическая устойчивость
Электропотенциалы

Наши представления о том, как реализуются эти свойства кардинальным образом влияют на наше понимание клеточных функций и, соответственно, - на наши представления о происхождении жизни

Мембранная теория проницаемости

Фундаментальные свойства клетки объясняются
свойствами плазматической мембраны.
Следовательно, ключевым событием в происхождении жизни является возникновения функционирующей мембраны.



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Сорбционная теория проницаемости

Фундаментальные свойства клетки объясняются
сорбционными свойствами белков.
Следовательно, появления одних только полипептидов уже достаточно для обеспечения всех четырех фундаментальных свойств протоклетки, а компартментализация оказывается результатом хорошо известного физического явления – адсорбции веществ на молекулярной поверхности полипептидов.

Адсорбированная вода

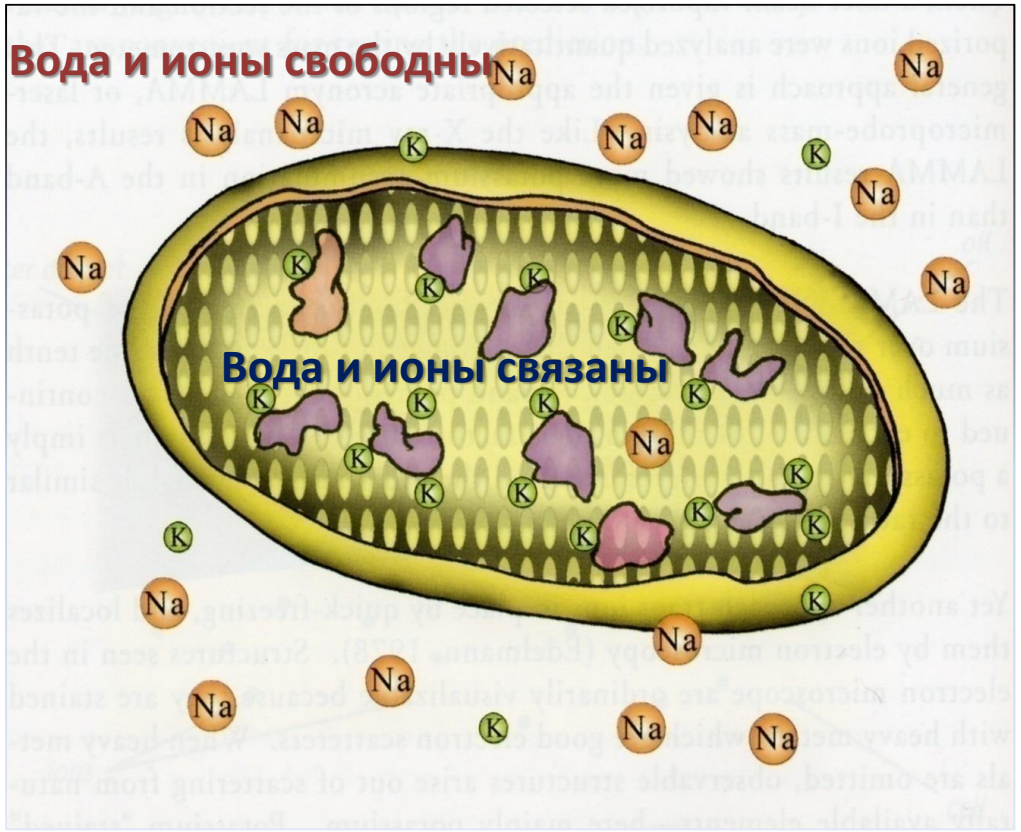
Селективная проницаемость. Осмотическая устойчивость.

Селективная адсорбция

Избирательное накопление веществ. Электропотенциалы.

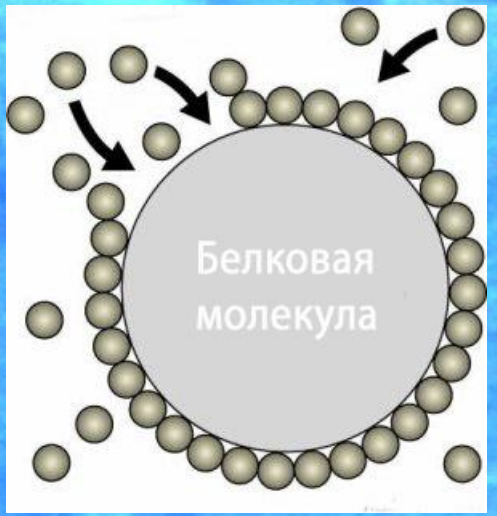
Физическая модель клетки по Лингу

Состояние воды и ионов в клетке и в среде принципиально отличаются



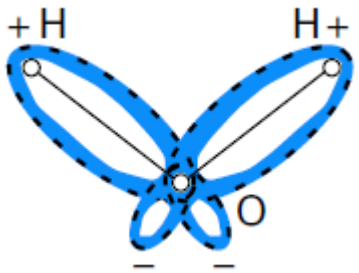
Адсорбированная вода – плохой растворитель

Многослойная адсорбция воды
на молекулярной поверхности белка

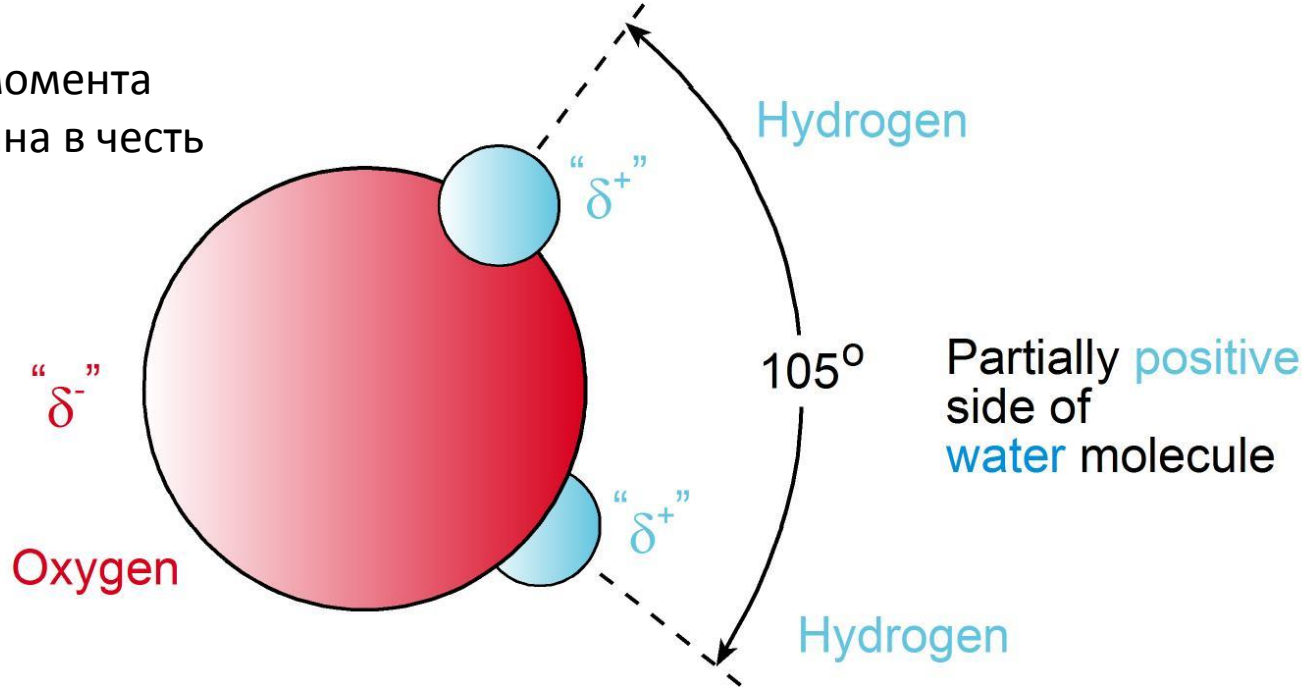


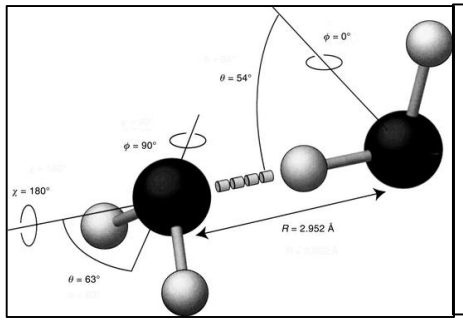
Молекула воды

Дебай, единица электрического дипольного момента молекул. 1 Д. равен 3,33564•10^{-30} Кл•м. Названа в честь физика П. Дебая. Обозначается Д (D).



Неподеленная пара электронов

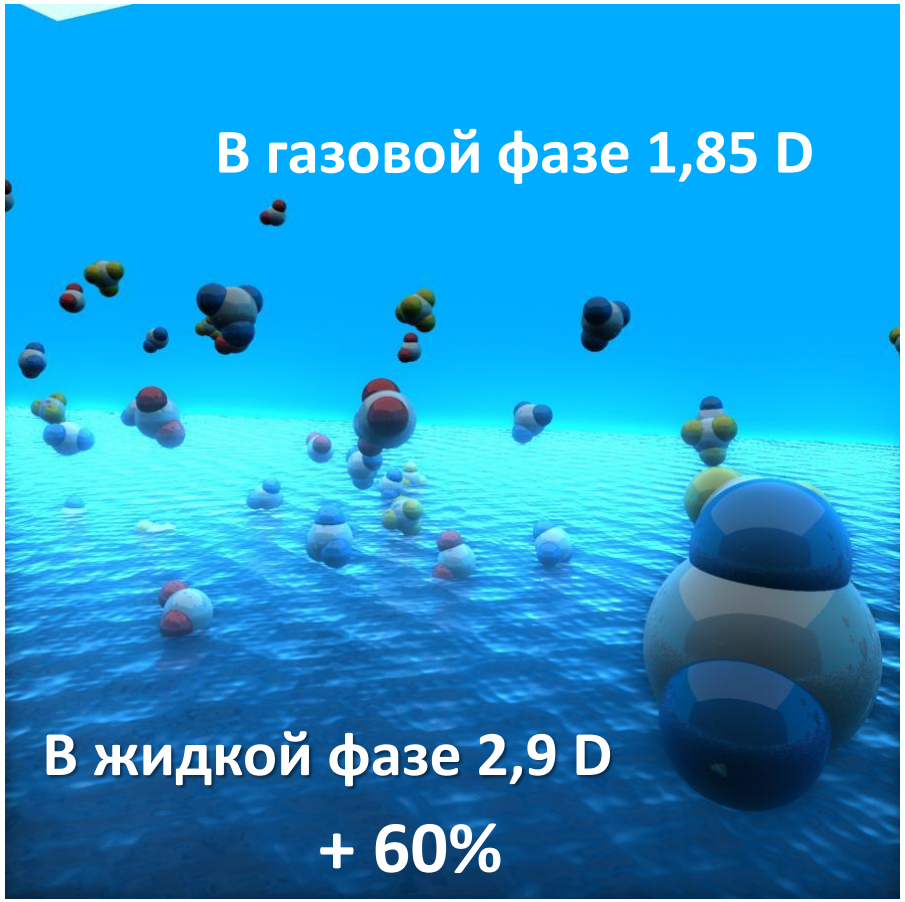


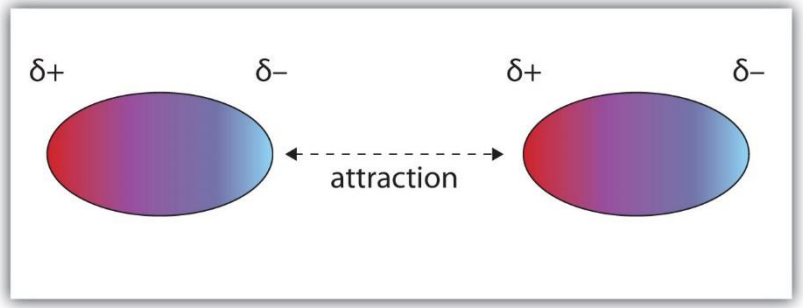


Асимметричное расположение зарядов делает молекулу воды диполем. Водородная связь складывается из электростатического взаимодействия и переноса заряда

Следует различать

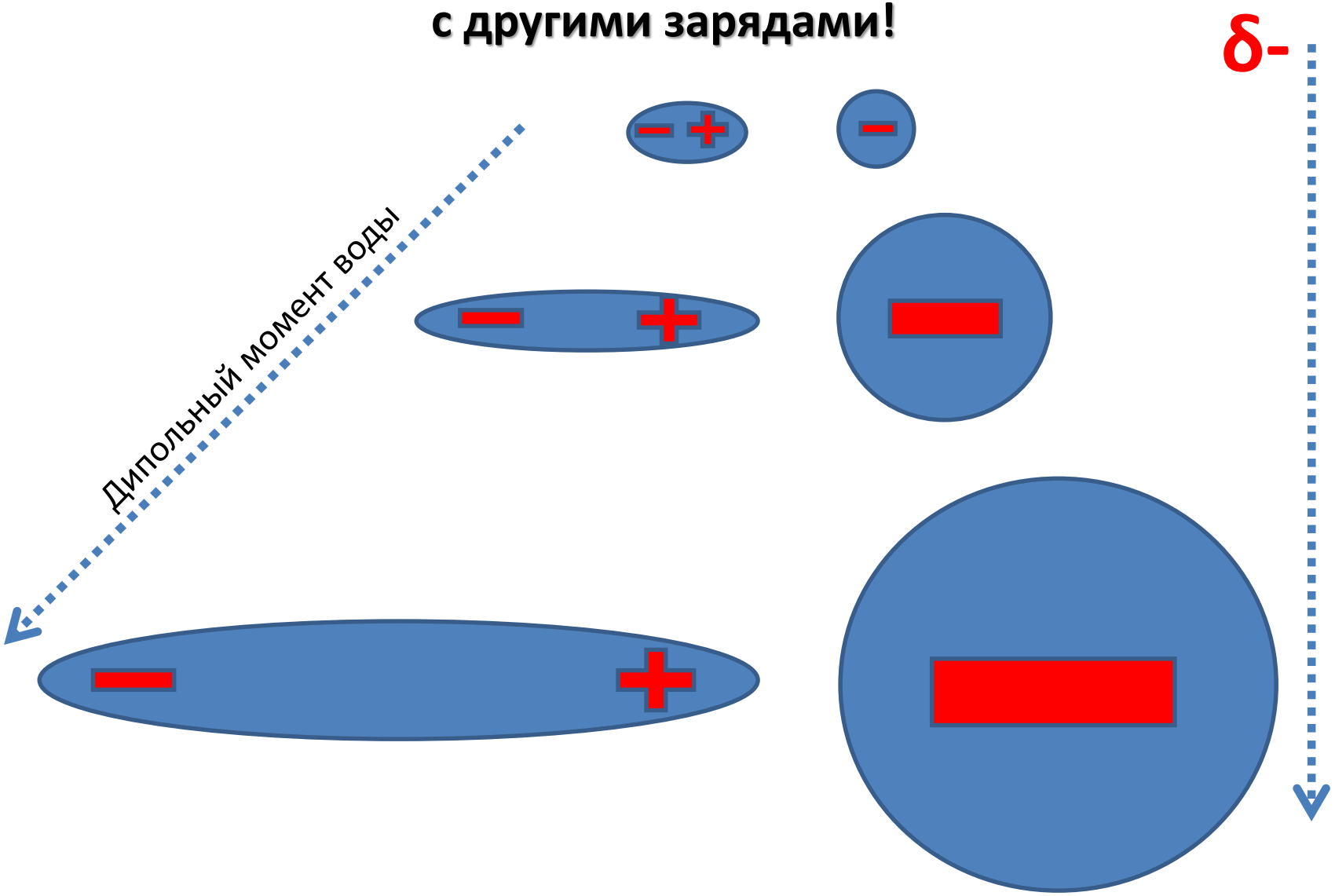
(1) собственный дипольный момент воды и
(2) наведенный



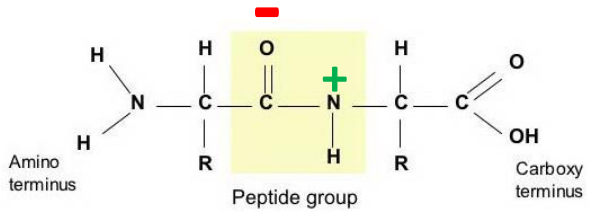


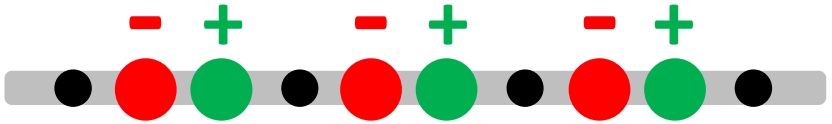
Kemp D.D. and Gordon M.S. 2008. An Interpretation of the Enhancement of the Water Dipole Moment Due to the Presence of Other Water Molecules. J. Phys. Chem. A, 112, 4885–4894.

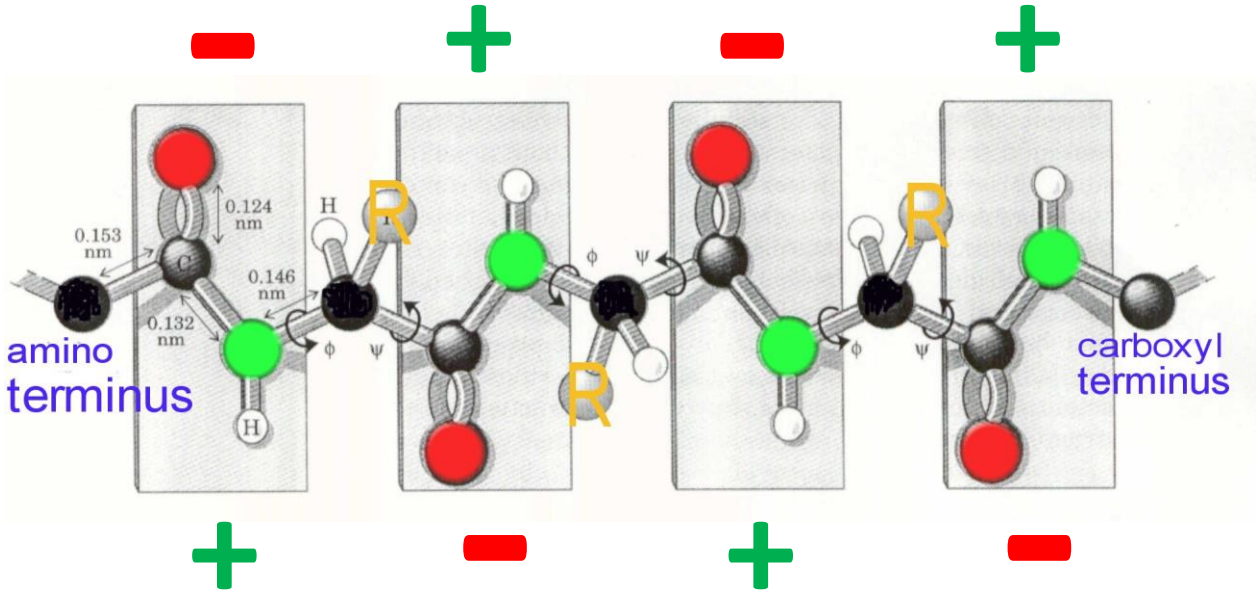
Дипольный момент воды зависит от силы электростатического взаимодействия с другими зарядами!



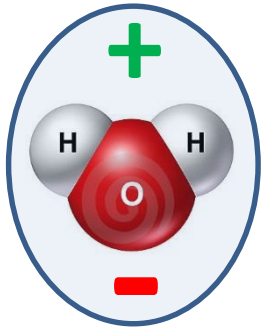
Полипептидный остов белка – система зарядов одинаковая для <u>всех</u> белков





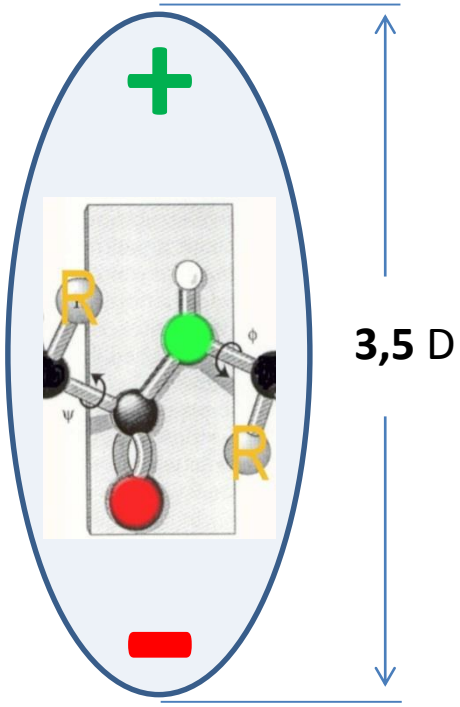


Дипольный момент функциональных групп пептидной связи больше, чем у воды



1,85 D → 2,9 D (+60%)

(газ → жидкость)



3,5 D

Дипольные моменты:

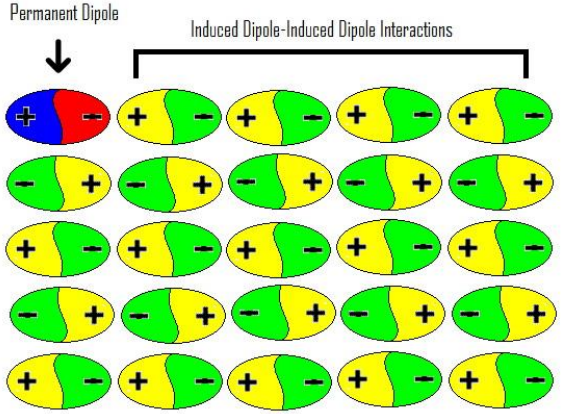
карбонильной группы: **2,7** D (1,85 + 46%);

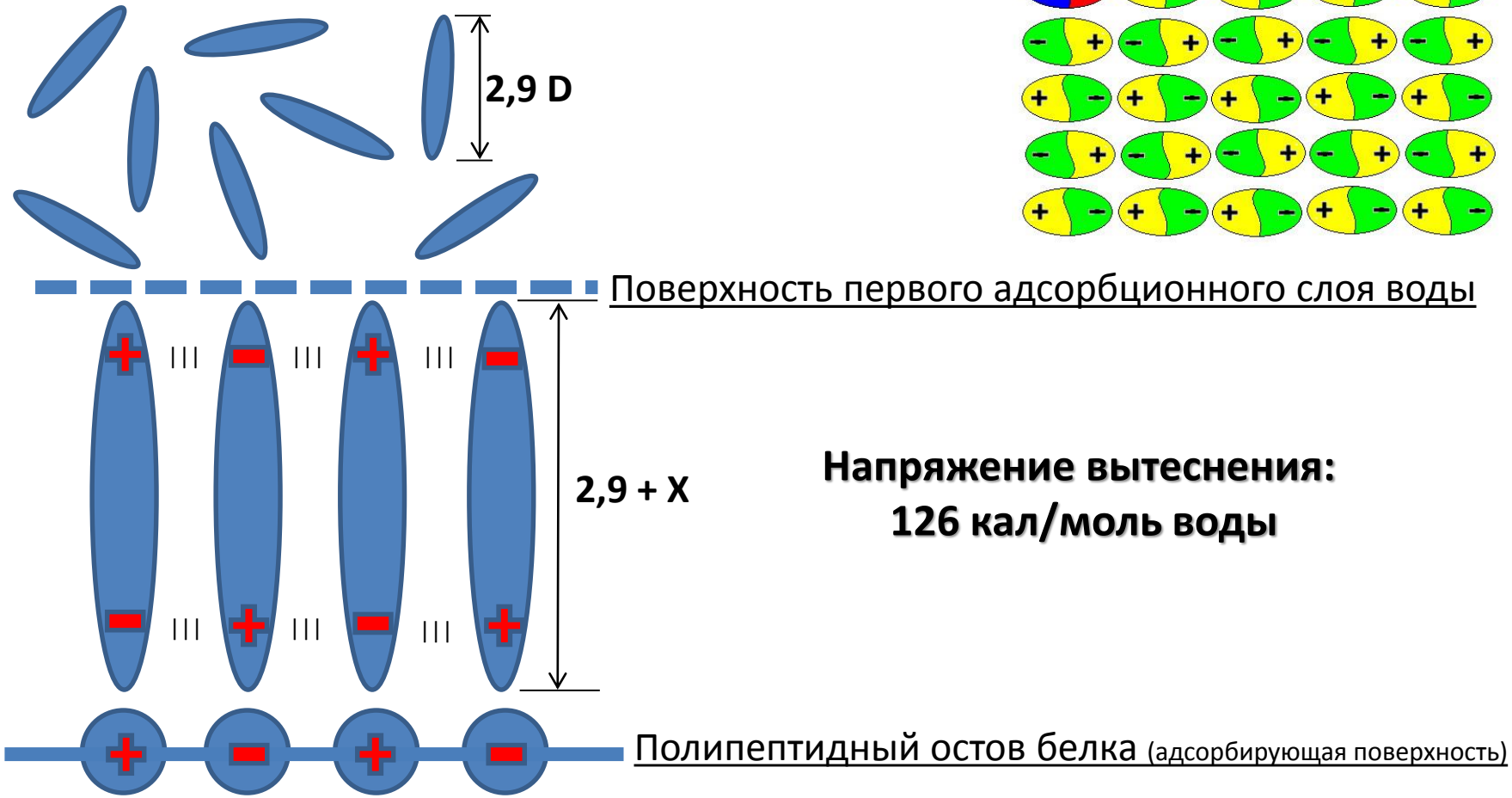
пептидной группы: **3,5** D (1,85 + 89%).

Collins J.M. and Leadbeater N.E. Microwave energy: a versatile tool for the biosciences. Org. Biomol. Chem., 2007, 5: 1141-1150.

Дипольный момент воды, взаимодействующей с белком, больше, чем дипольный момент воды в жидкой фазе

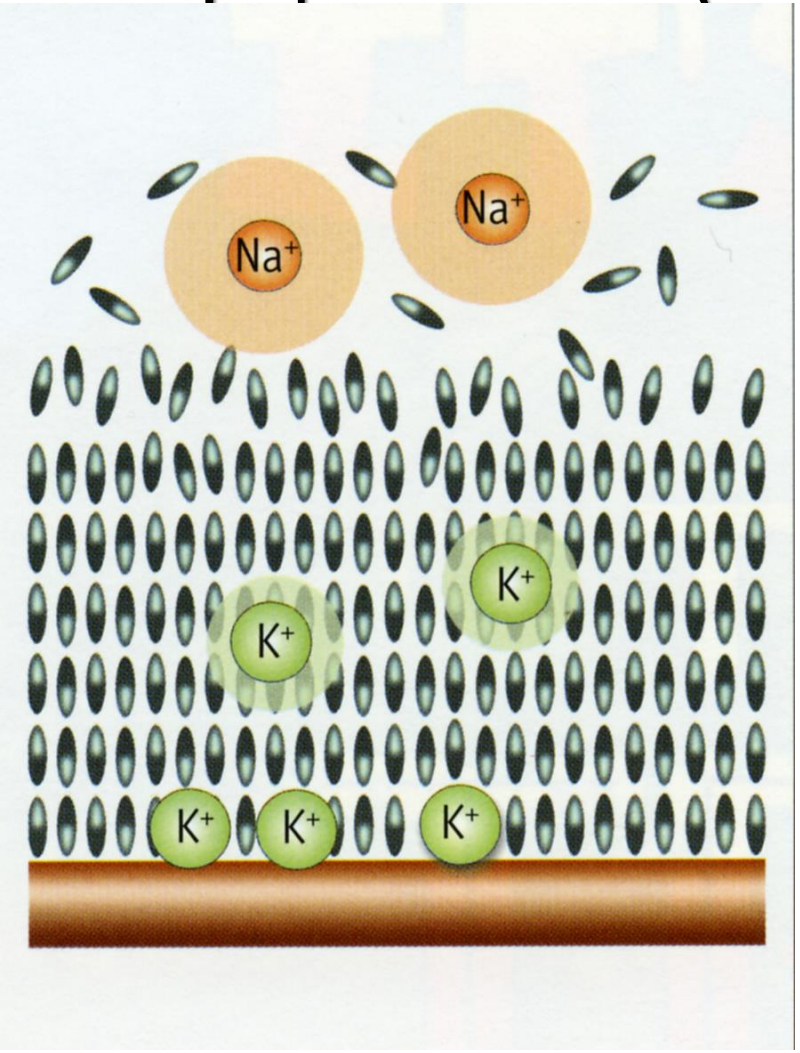
Водородные связи в адсорбционном слое прочнее!
Это и создает условия для многослойной адсорбции





Напряжение вытеснения:
126 кал/моль воды

Свойство адсорбционного слоя воды: чем больше размер частицы, тем эффективнее она вытесняется из сорбционного слоя (полупроницаемость)



Область свободной воды

Область связанной воды
(напряжение вытеснения)

Полипептидная цепь

Зона вытеснения макроскопических размеров, обнаруженная Поллаком

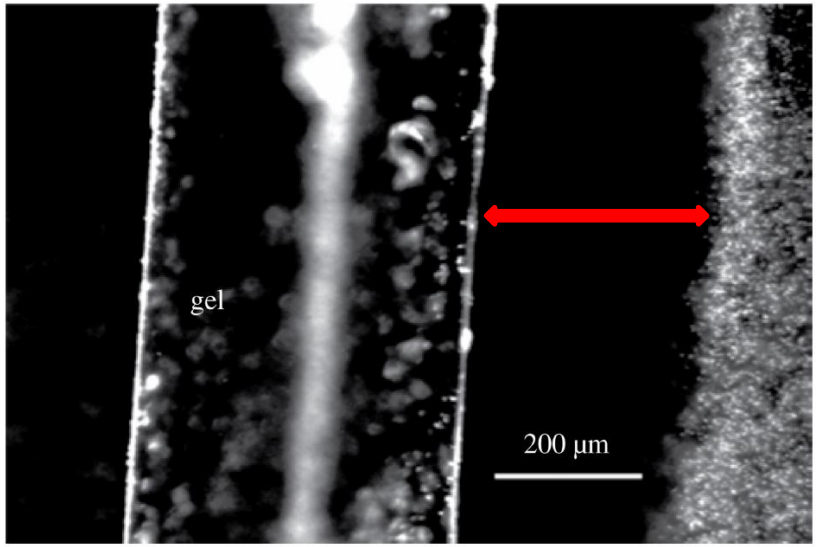


Figure 1.
Solute exclusion in the vicinity of polyacrylic-acid gel. The gel was placed on a coverslip, superfused with a suspension of 1-µm carboxylate-coated microspheres and observed in an inverted microscope. Image was obtained 20 min after superfusion. (Fuzzy vertical line within gel is optical artifact.) Microspheres move away from gel, leaving regions (black) on either side of gel that are devoid of them. Microspheres seen on right edge of figure.

Pollack G.H. Water, energy and life: fresh views from the water's edge
Int J Des Nat Ecodyn. 2010, 5(1): 27–29.

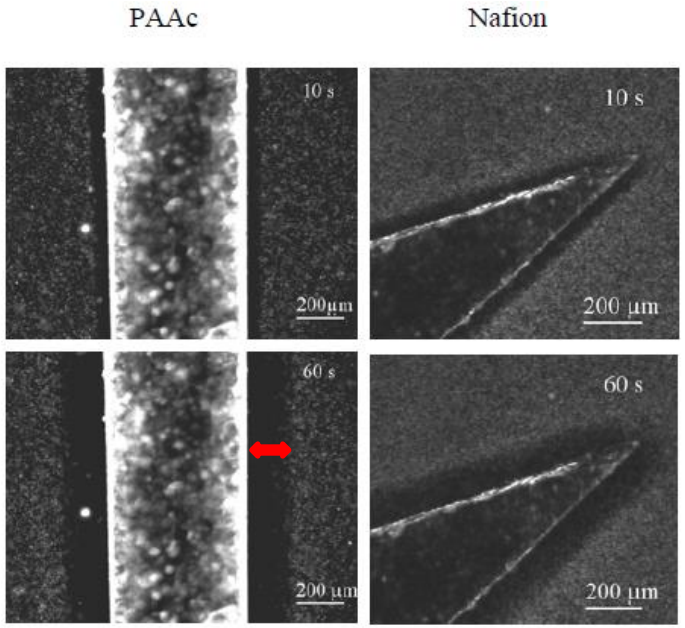


Figure 1. Colloidal particle exclusion formed near by the charged surfaces of polyacrylic acid gel (left) and Nafion sheet (right). Negatively charged sulfated microspheres with diameter of 1 µm were used. Darker regions adjacent to samples are microsphere free.

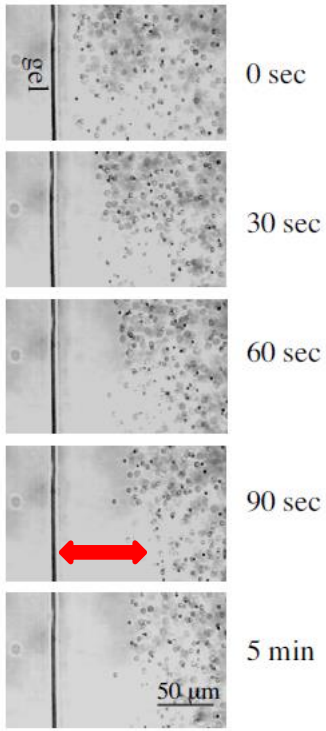


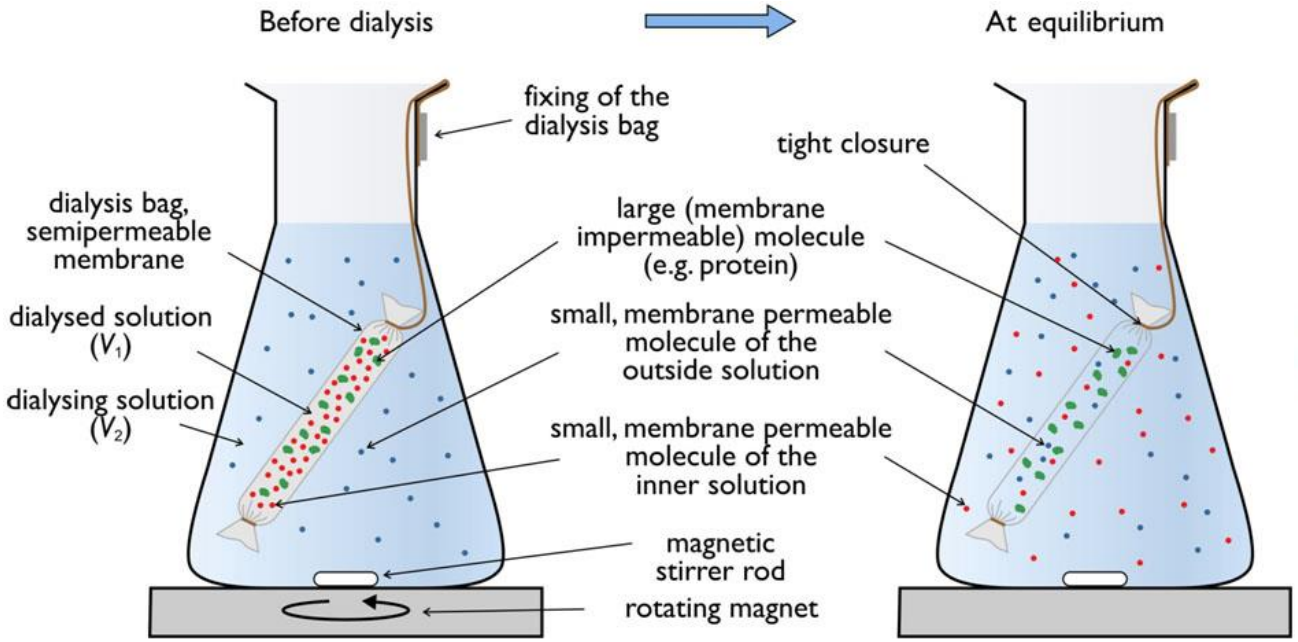
Fig. 3. Development of exclusion zone as function of time in cylindrical channel of PVA gel. Carboxylate-coated microspheres, 2 µm in diameter, were used.

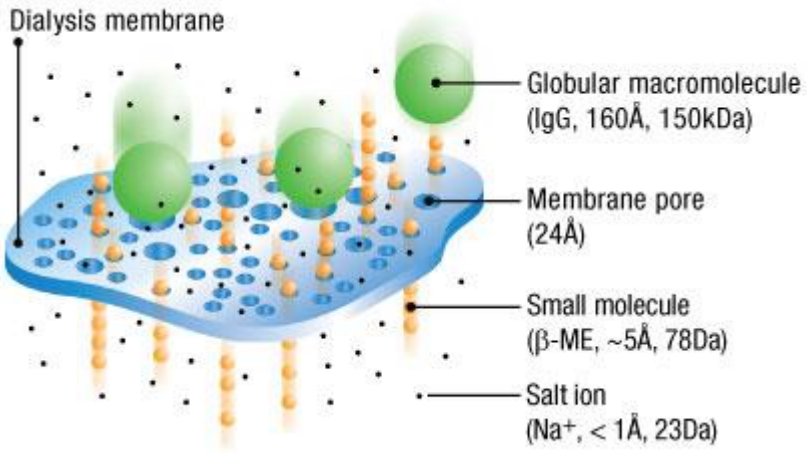
Красные стрелки – зона вытеснения из-за сниженной растворяющей способности адсорбированной воды

Диализ

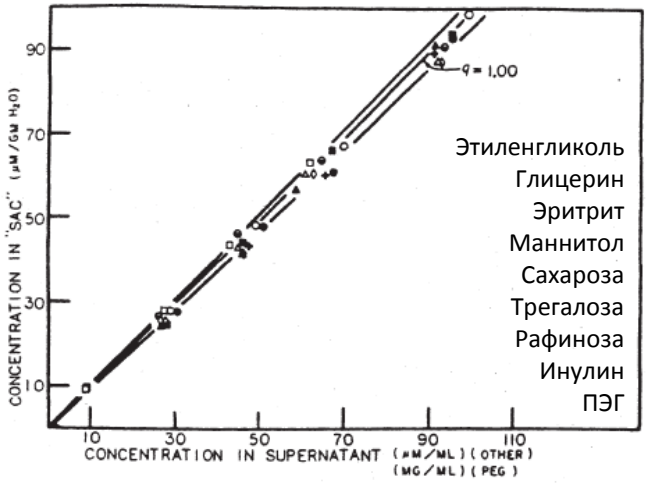
Начало диализа

Диффузионное равновесие





Равновесное распределение веществ между модельными системами
(раствор бычьего гемоглобина в диализных мешках) и средой

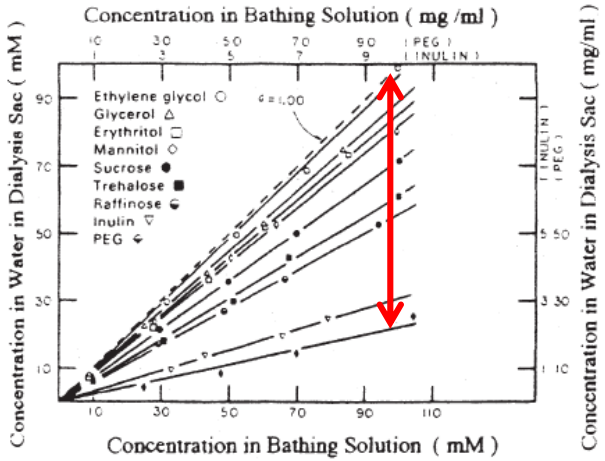


A

Нативный

гемоглобин (глобулярный), 39%

Вода свободная



B

Денатурированный

гемоглобин (развернутый), 20%

Вода связанная

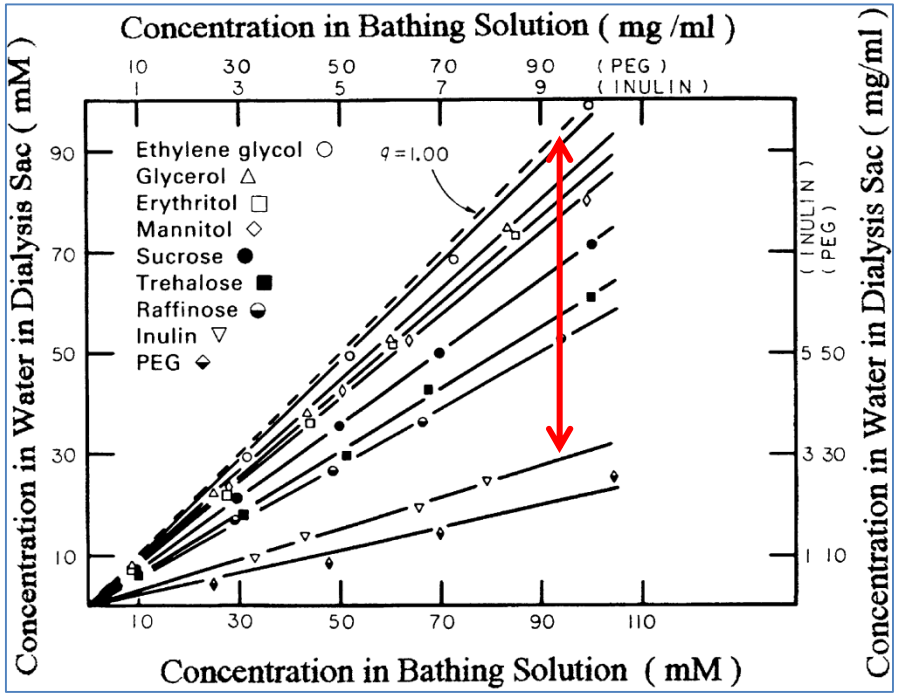
FIGURE 22. **A.** Equilibrium distribution of various solutes in a neutral solution of bovine hemoglobin (39%) after a 5-day incubation at 25°C. Solution contained 0.4 M. NaCl. Ethylene glycol •, glycerol △, erythritol □, D-xylose +, sorbitol ▲, mannitol ◇, trehalose ■, raffinose ○. **B.** The equilibrium distribution of various solutes in an alkaline solution containing 20% bovine hemoglobin and 0.4 M. NaOH. Incubation time and temperature same as in A. (from Ling and Hu 1988)

Ling GN, Hu W. Studies on the physical state of water in living cells and model systems. X. The dependence of the equilibrium distribution coefficient of a solute in polarized water on the molecular weights of the solute: experimental confirmation of the "size rule" in model studies. Physiol Chem Phys Med NMR. 1988; 20(4): 293-307.

Сравнение равновесного распределения незаряженных веществ в системах:

1. Модель (гемоглобин)

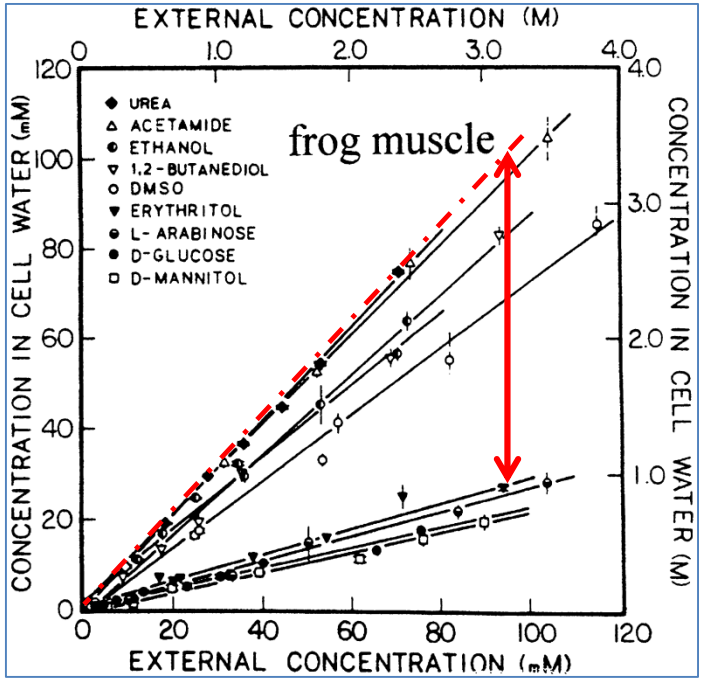
Структурированная вода



Равновесное распределение незаряженных веществ между диализным мешком с 18% раствором развернутого гемоглобина и средой.

2. Живая клетка

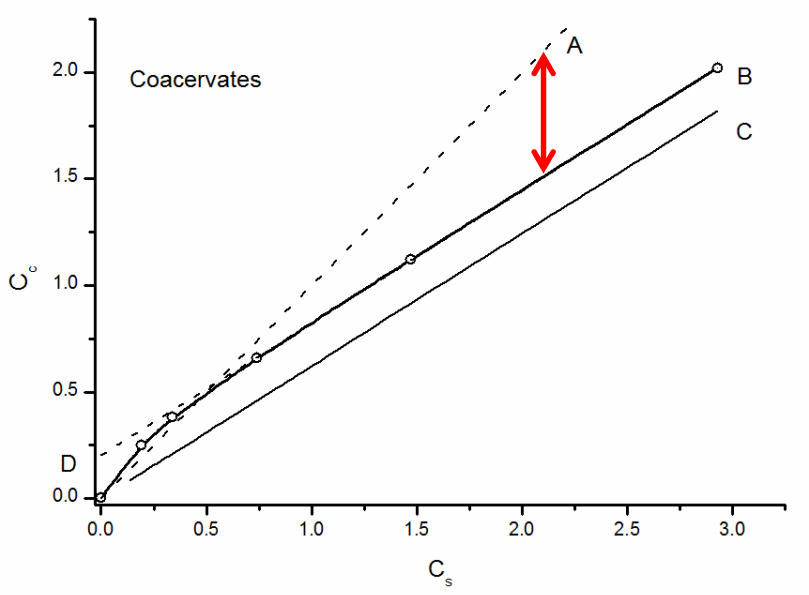
Мембранные насосы?



Равновесное распределение незаряженных веществ между скелетной мышцей лягушки и средой.

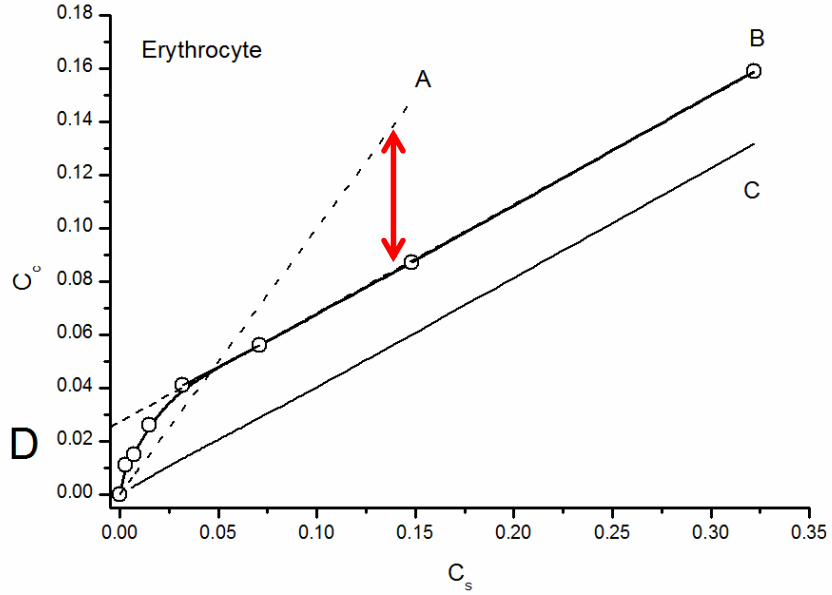
Еще одно сравнение живой клетки с модельной системой

Коацерват



The dependence of the galactose concentration in the coacervate (C_c, in g per 100 ml of coacervate water) on its concentration in the medium (Cs, in per cent). Complex coacervate: gelatin and gum arabic. (Troshin, 1966; Table 14, Fig.31).

Эритроцит



The dependence of the galactose concentration in rabbit erythrocytes (C_c, in g/100 ml of intracellular water) on the concentration of this sugar in the medium (C_s, in per cent), **B**. **A**, bisector; adsorption limit, **D**. **C**, the dependence of the galactose concentration in intracellular water on its concentration in the medium. (Troshin, 1966; Table 20, Fig. 40).

Ионы также адсорбируются белками.

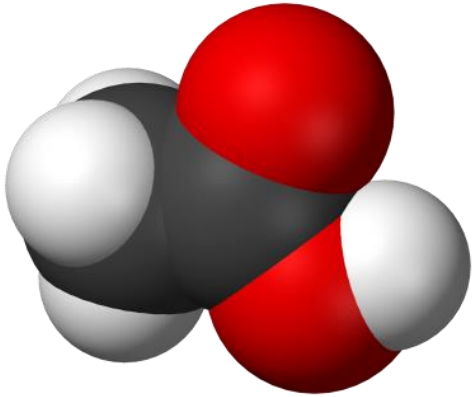
Почему K^+ избирательно связывается с карбоксильными группами белка в присутствии Na^+?

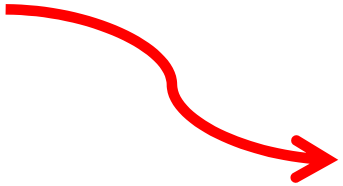
Индуктивный эффект

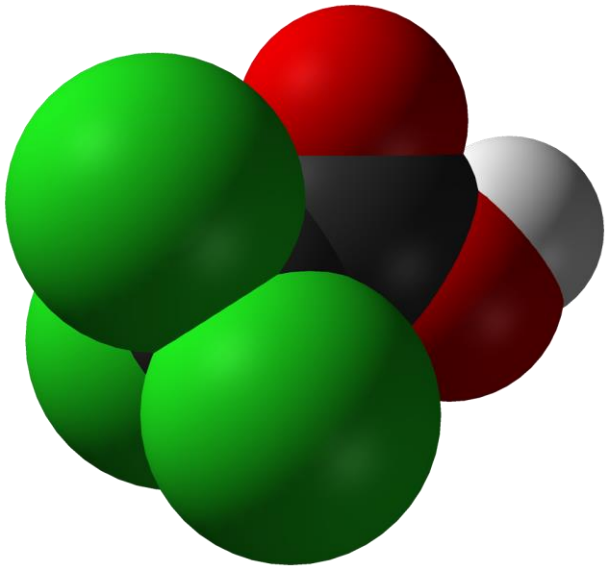
Уксусная кислота

$AH = A^- + H^+$

$K_a = [A^-][H^+]/[AH]$







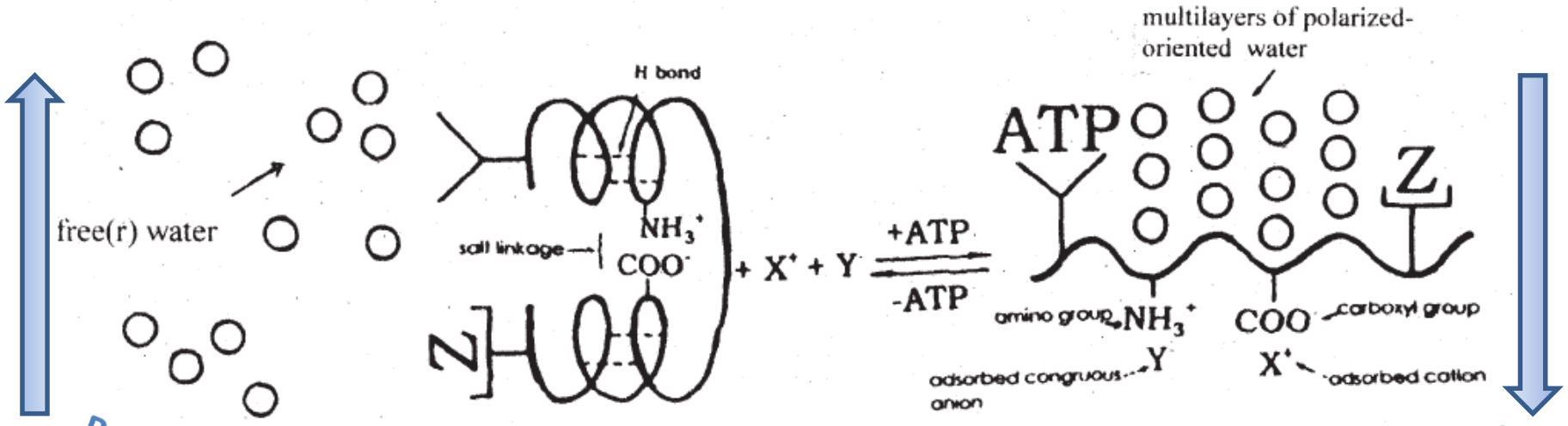
Константы диссоциации

Уксусная кислота	$1{,}82\times10^{-5}$
Монохлоруксусная кислота	155×10^{-5}
Дихлоруксусная кислота	5000×10^{-5}
Трихлоруксусная кислота	30000×10^{-5}

Трихлоруксусная кислота

Сродство к протону снижается в 16000 раз

Индуктивный эффект в белках вызывают АТФ, ионы, гормоны, лекарства, другие белки посредством вторичных (нековалентных) связей



Возрастает

АТФ – акцептор электронов

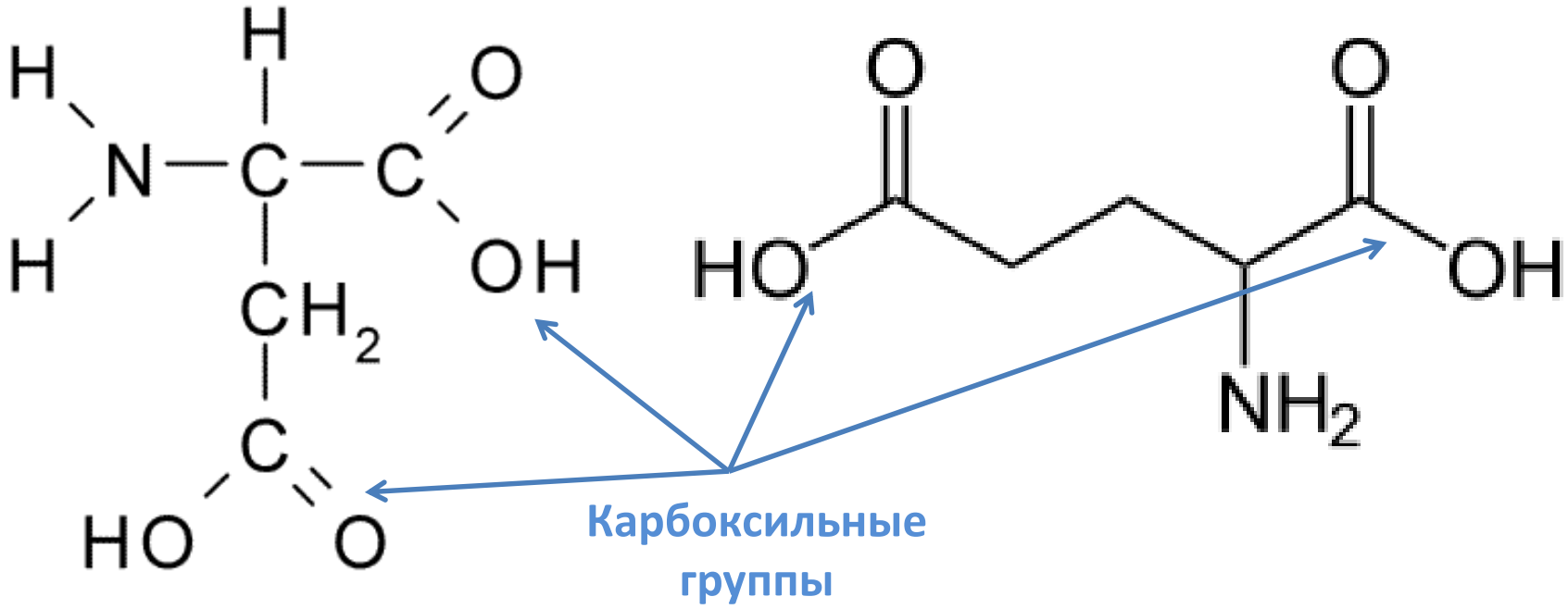
Снижается

Электронная плотность на функциональных группах

Изменение дипольного момента (изменение электронной плотности) на
(1) функциональных группах пептидной связи определяет их сродство к воде и таким же группам других пептидных связей;
(2) карбоксильных группах определяет их сродство к K^+ или Na^+.

Данные о связанном состоянии основного катиона клетки – K^+

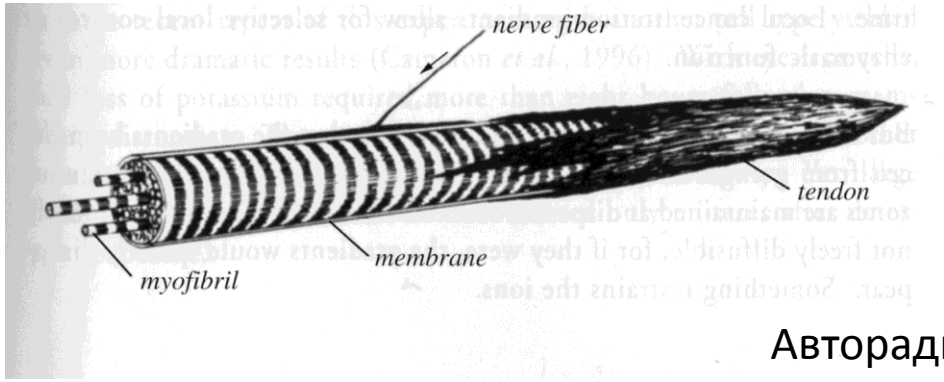
Катионы связывают карбоксильные группы остатков дикарбоновых аминокислот



Аспарагиновая кислота

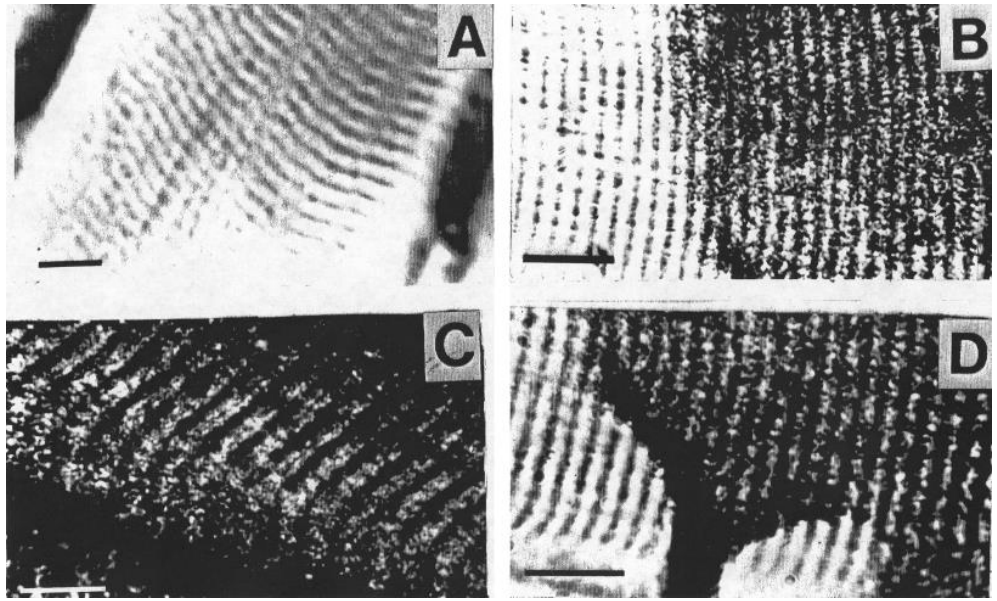
Глутаминовая кислота

Распределение ионов калия в мышечном волокне лягушки



- Большая часть свободных карбоксильных групп белка находится в А-дисках миофибрилл (темные полосы).
- Содержание воды выше в I-дисках (светлые полосы).

Авторадиография мышечного волокна лягушки



A – микрофотография волокна, ненагруженного радиоактивной меткой.
B , **C** и **D** – авторадиограммы волокон, нагруженных ^{134}Cs прижизненно.
B и **D** – волокна, частично покрытые фотоэмульсией.
C – волокно растянутое перед высушиванием.
Масштабная метка соответствует 10 мкм.

Белок *in vitro* селективно связывает K^+ в присутствии Na^+

Edelmann, L. (1981). Selective accumulation of Li^+, Na^+, K^+, Rb^+, and Cs^+ at protein sites of freeze-dried embedded muscle detected by LAMMA. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 308(3): 218-220.

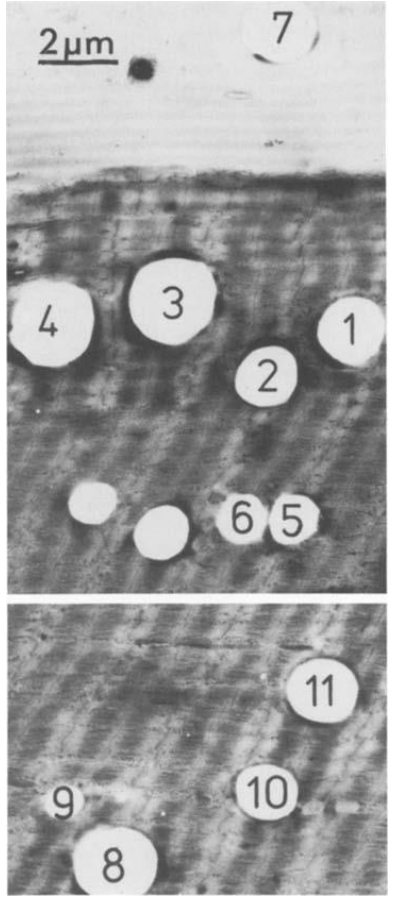


Fig. 1. Perforated sections of frog sartorius muscle.

Sections of freeze-dried and plastic embedded frog muscle fibres were exposed to aqueous solutions of alkali-metal salts. Using energy dispersive X-ray microanalysis and LAMMA it was found that these sections showed preferential accumulation of K ч and Cs ч over Na + on specific protein sites in the A bands (Edelmann [5]).

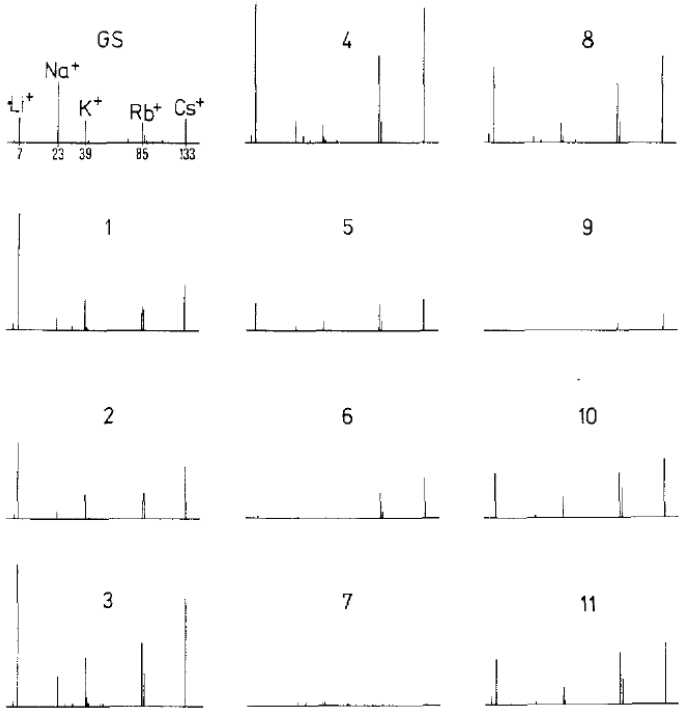
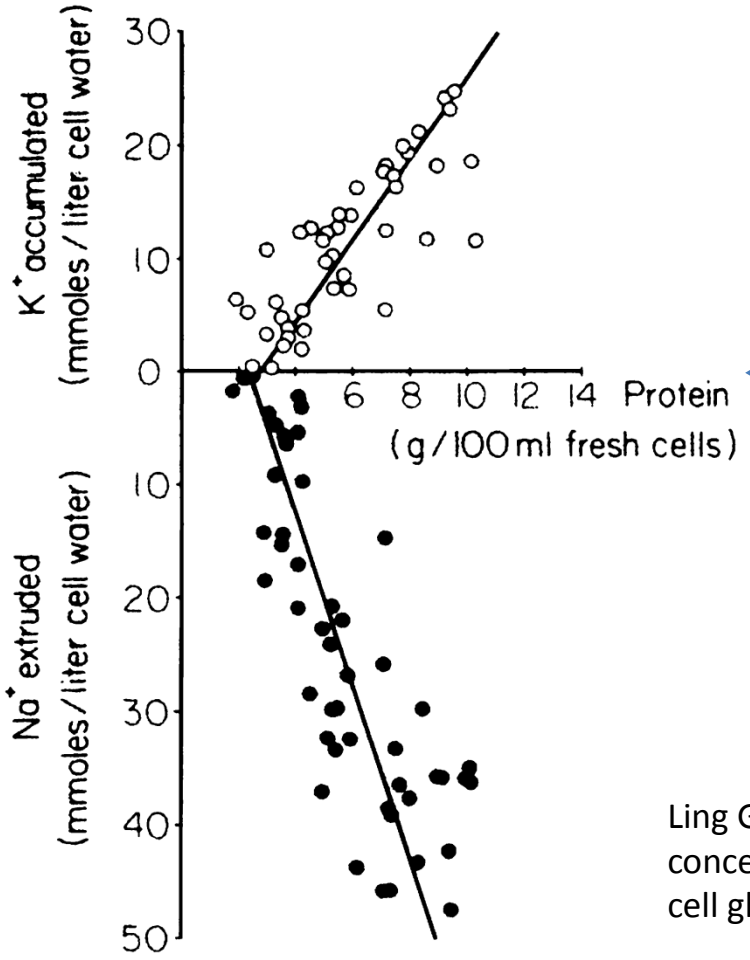


Fig.2. LAMMA-spectra recorded from a muscle specimen. The numbers correspond to the respective probing areas shown in Fig. 1. The spectrum labelled GS stems from a gelatin standard containing (mM) Li^+ 50, Na^+ 50, K^+ 10, Rb^+ 10 and Cs^+ 10

Зависимость содержания K^+ и Na^+ в тенях эритроцитов в зависимости от количества остаточного белка в них

"Тени" эритроцитов - это оболочки эритроцитов с элементами цитоскелета.



В зависимости от метода приготовления теней или тщательности его применения, содержание остаточного белка в них существенно колеблется.

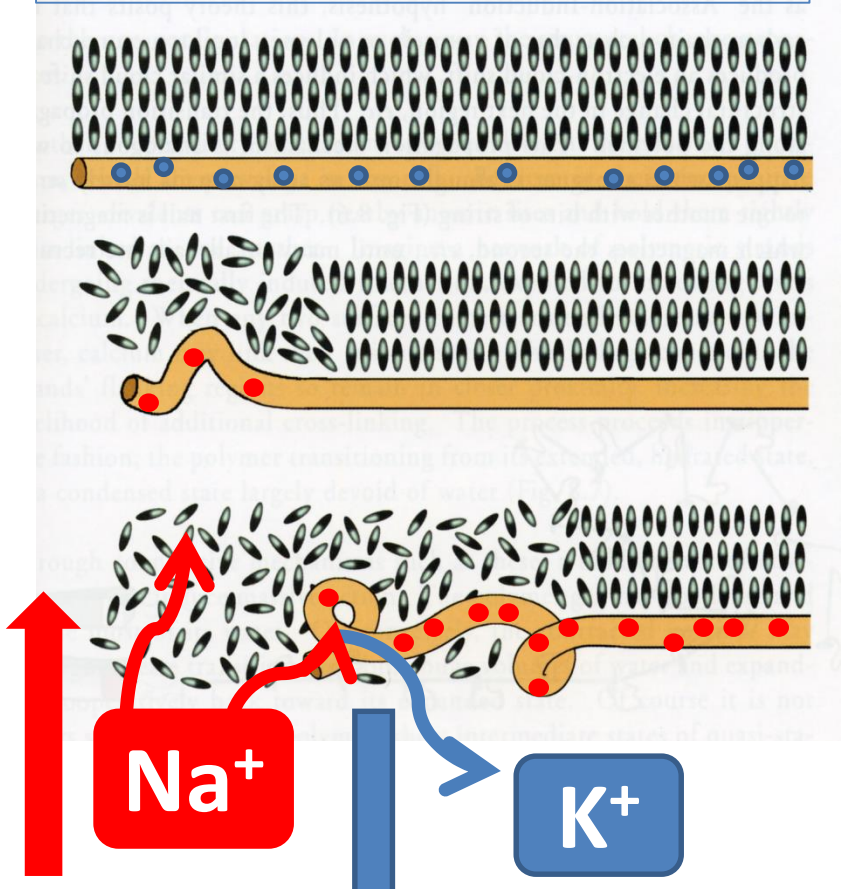
Ling GN, Zodda D, Sellers M. Quantitative relationships between the concentration of proteins and the concentration of K^+ and Na^+ in red cell ghosts. Physiol Chem Phys Med NMR. 1984;16(5):381-392.

Динамика клеточных структур

Потенциал действия

В микрообъеме диффузионное равновесие наступает быстро

Потенциал покоя и действия (поверхностный адсорбционный потенциал)



Диффузионные потенциалы

Обнуление потенциала покоя и овершут = диффуз. потенц. Na^+ + адсорбц. потенц. Na^+

«Na^+-K^+-помпа» и «ионные каналы» микросфер Фокса

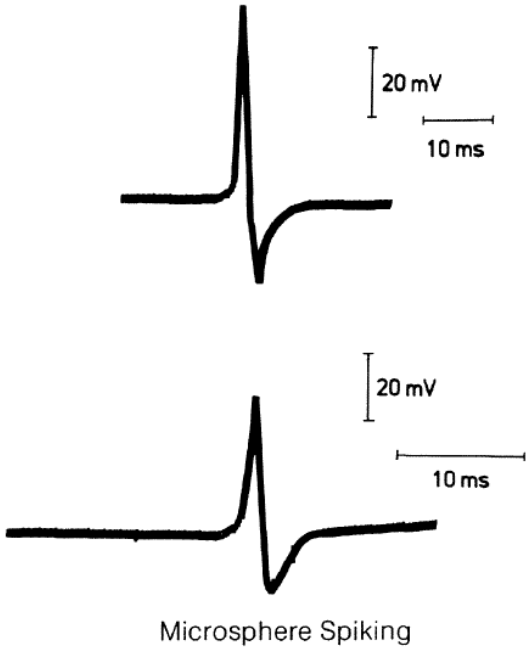


Fig. 6. Action potential resembling that of neuron. (Upper) Spiking in crayfish stretch receptor neuron. (Lower) Spiking in microsphere of 2:2:1-proteinoid. (By Dr. A. Przybylski.)

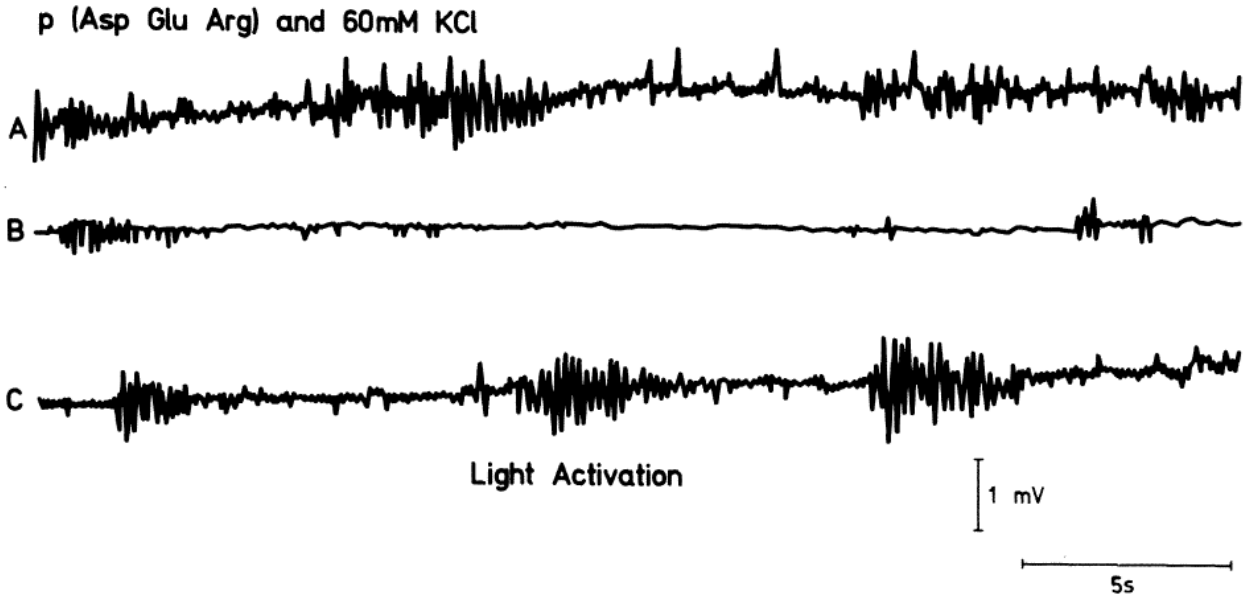
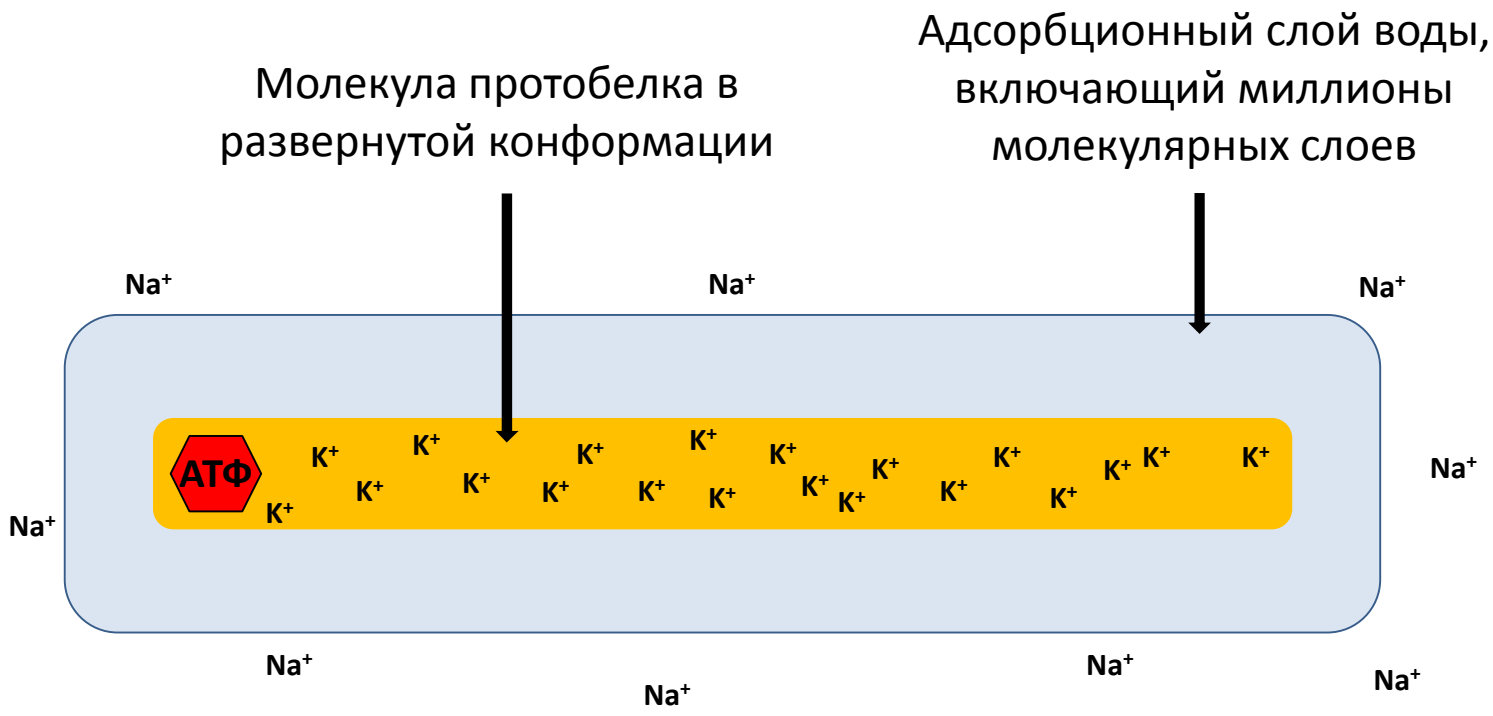


Fig. 7 A–C. Electrical activity begins with illumination (10 lux) at **A**. It dies off when light is extinguished (**B**), and it begins again with reillumination (100 lux) at **C**

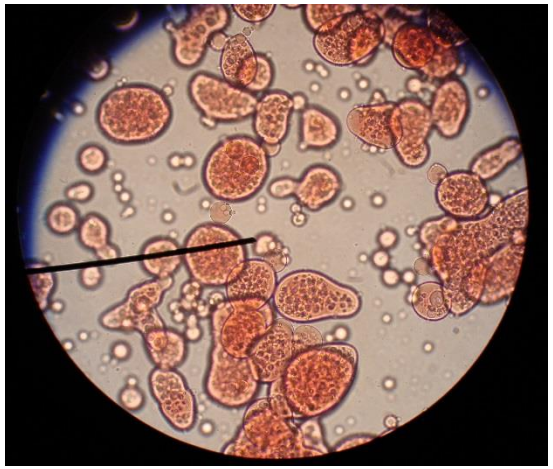
Fox, S. W. (1992). Thermal proteins in the first life and in the “mind-body” problem. In: Evolution of Information Processing Systems (pp. 203-228). Springer Berlin Heidelberg.

Физиологический атом

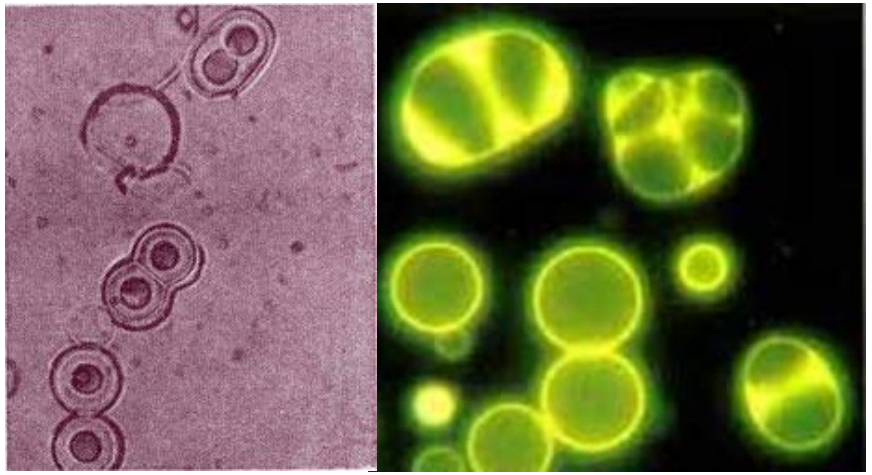
сорбционные свойства белков обеспечивают нанокомпартментализацию.
На стадии предбиологической эволюции роль АТФ могли играть другие соединения, например полифосфаты.



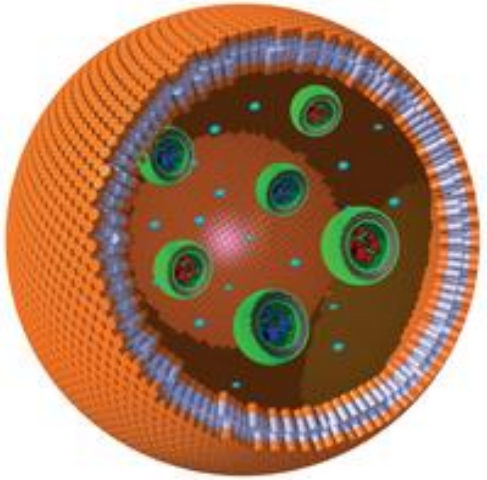
Клеточные модели на основе макромолекул (без липидов). Морфогенетический потенциал полипептидов



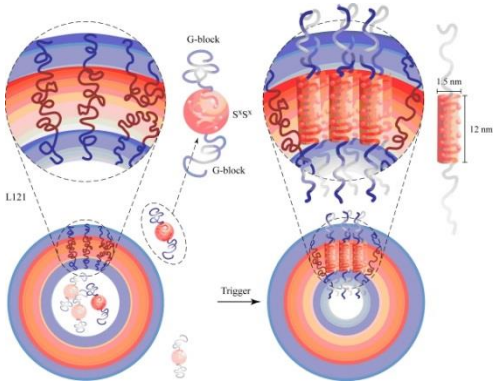
Коацерваты



Микросферы, делящиеся при увеличении pH



Двухслойное строение пептидных мембран, которое принимали за доказательство липидной основы биомембран



Полимеросомы

Основные выводы:

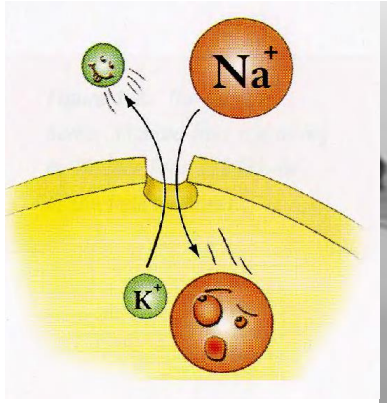
(1) **сорбционные свойства белков** способны объяснить самые ранние, самые элементарные этапы возникновения жизни, создавая необходимые условия для дальнейшей эволюции;

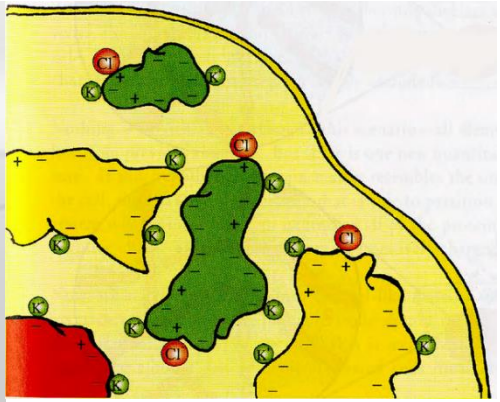
(2) фундаментальные физические свойства клетки остаются качественно неизменными на протяжении всех этапов эволюции – добиологической и биологической;

(3) минимальная клетка – это минимальная структура на основе белка, обладающая всеми четырьмя фундаментальными физическими свойствами, рассмотренными в этом сообщении.

Нет ничего практичнее хорошей теории

Густав Кирхгоф (1824-1887)





International Conference

THE PROBLEM OF THE ORIGIN OF LIFE

Youth Scientific School

MOLECULAR AND CELLULAR BASIS OF THE EARLY EVOLUTION OF LIFE

Moscow – September 22-26, 2014

Сайт конференции: http://oparin2014.inbi.ras.ru/

Доклад сделан 23 сентября 2014 года.

Видеозапись доклада (2014 г.): http://youtu.be/aPKf-wBUXmI

Продолжение темы:
Матвеев В.В. **Основной вопрос науки о происхождении жизни: мембрана или фаза?** (*Доклад на 2-ой Всероссийской конференции по астробиологии «Жизнь во Вселенной: физические, химические и биологические аспекты», Пущино 5-9 июня, 2016 г.*): https://youtu.be/n3I21xlIBvI

Скачать слайды: http://www.bioparadigma.spb.ru/conf/Matveev-2016-The.great.basic.question.of.science.on.origin.of.life_Slides.pdf

Сайт конференции: http://cryosol.ru/astrobiology-2016.html

Матвеев В.В. (2016) **Сравнение фундаментальных физических свойств клеточных моделей (протоклеток) и живых клеток свидетельствует о необходимости новой научной дисциплины – протофизиологии.**

Полный текст статьи: http://www.bioparadigma.spb.ru/files/Matveev-2016-Protophysiology.Rus.pdf

Matveev, V.V. (2017) Comparison of fundamental physical properties of the model cells (protocells) and the living cells reveals the need in protophysiology, International Journal of Astrobiology, 16(1), pp.97–104. doi: 10.1017/S1473550415000476
URL: http://journals.cambridge.org/abstract_S1473550415000476