

# Сравнение фундаментальных физических свойств клеточных моделей (протоклеток) и живых клеток свидетельствует о необходимости новой научной дисциплины – протофизиологии

В.В. Матвеев, Институт цитологии Российской академии наук,  
Лаборатория физиологии клетки. Санкт-Петербург.

E-mail: [vladimir.matveev@gmail.com](mailto:vladimir.matveev@gmail.com), персональный сайт: <http://vladimirmatveev.ru>

Статья опубликована: *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*

**Preview PDF with highlights:** <http://www.bioparadigma.spb.ru/files/Matveev-2016-Protophysiology.Preview.and.Highlights.pdf>

**Full text in Russian:** <http://www.bioparadigma.spb.ru/files/Matveev-2016-Protophysiology.Rus.pdf>

**В качестве пояснения к статье прослушайте доклад Матвеева В.В.:** <https://youtu.be/n3I21xIBvI>

## Основные положения статьи

- Основной вопрос науки о происхождении жизни: компартменты, ограниченные мембраной, или безмембранные фазовые компартменты (биофазы) явились физической основой для возникновения жизни?
- Из-за чрезмерного количества ионов натрия возникновение жизни в океане проблематично.
- Калиевые пруды, в которых  $K^+$  больше, чем  $Na^+$ , – идеальная среда для предбиологической эволюции.
- Какие причины могут привести к возникновению натриевой помпы в калиевом пруду, если в нем и так достаточно  $K^+$ ?
- За десятилетия исследований никому не удалось наблюдать в лаборатории самопроизвольного возникновения натриевого насоса.
- Биофаза – это система «белок + связанная с ним вода».
- Растворяющая способность связанной воды ниже, чем у объемной, поэтому концентрация ионов натрия в фазе связанной воды будет ниже, чем в среде. По этой причине биофазе не страшен соленый океан и ей не нужны ни калиевые пруды, ни натриевые насосы.
- В биофазе возникают особые физические условия, благоприятные для предбиологической эволюции, что делает ее колыбелью жизни. Физические и другие свойства биофазы являются предметом исследования новой научной дисциплины – протофизиологии.
- Большой калиевый взрыв на Земле – один из ключевых факторов возникновения жизни, который до сих пор ускользал от внимания исследователей.
- Биофаза способна объединить в себе концепции об «РНК-мире», «ДНК-мире» и «Мире белка» поскольку обладает необходимыми физическими свойствами для предбиологической эволюции биологических макромолекул.
- С точки зрения фазового подхода, попытки понять происхождение жизни на основе мембранных (нефазовых) моделей клетки обречены на провал.

*Аннотация.* Появившееся сравнительно недавно предположение о калиевых прудах, как о колыбелях жизни, обогащают палитру идей о возможных условиях предбиологической эволюции на первобытной

Земле, но не приближают нас к решению проблемы происхождения жизни в целом. Суть проблемы – в механизме разграничения двух сред, внутриклеточной среды и среды обитания протоклеток. Со времени открытия насосной функции Na,K-АТФазы так и не было найдено молекулярной модели, которая могла бы рассматриваться в качестве предка современной натриевой помпы. Это обстоятельство вызвало к жизни идею калиевого пруда, в котором у протоклеток не было бы необходимости в натриевой помпе. Однако текущие представления о функционировании живой клетки вступают в противоречие даже с физическими законами, если попытаться использовать их для объяснения происхождения и функционирования протоклетки. Так, привычные объяснения физических свойств живых клеток оказались неприменимыми для объяснения соответствующих свойств микросфер Сиднея Фокса. Имеющиеся подходы к решению проблемы происхождения жизни полностью игнорируют необходимость сравнительного изучения живых клеток и клеточных моделей — ансамблей естественных и искусственных низко- и высокомолекулярных соединений, которые при соответствующих условиях привели бы к возникновению жизни. Назрела необходимость в комплексном исследовании фундаментальных физических свойств протоклеток, в создании новой дисциплины — физиологии протоклеток — протофизиологии, которая существенно приблизит нас к решению проблемы происхождения жизни.

*Ключевые слова:* протоклетка; протеиноиды; микросферы; потенциал действия; модель Ходжкина-Хаксли; происхождение жизни

*"Ring the bells that still can ring. Forget your perfect offering. There is a crack, a crack in everything. That's how the light gets in." — Leonard Cohen*

### Калиевые пруды

Излюбленное и научной, и научно-популярной литературой утверждение: ионный состав внутренней среды организма человека и животных, в которую погружены все его клетки, близок к ионному составу морской воды. Это наблюдение попало в литературу уже больше 100 лет назад, когда стало возможным исследование ионного состава биологических жидкостей.

Сближение внутренней среды организма с морем напрашивается само собой: и в морской воде, и в плазме крови ионов  $\text{Na}^+$  на порядок-два больше, чем ионов  $\text{K}^+$ . Это очевидное сходство и подтолкнуло к мысли о том, что жизнь зародилась в первобытном океане (память о котором хранит с тех пор внутренняя среда организма), а первые клетки отгородились от морской воды плохо проницаемой мембраной для того, чтобы их внутренняя среда стала особой, пригодной для протекания химических и физических процессов, необходимых для жизнедеятельности. Действительно, соотношение рассматриваемых катионов в цитоплазме прямо противоположно их соотношению в морской воде: ионов  $\text{K}^+$  в ней намного больше ионов  $\text{Na}^+$ . *De facto* процессы жизнедеятельности возможны лишь в среде, в которой калий доминирует над натрием, поэтому любая теория происхождения жизни должна объяснить, как произошло столь глубокое разграничение между двумя средами: внутриклеточной средой, в которой протекают жизненно важные процессы, и внешней средой, обеспечивающей клетку необходимыми материалами и условиями.

Для отделения протоклетки от морской среды должен был возникнуть механизм, создающий и поддерживающий ионную асимметрию между первобытной клеткой и ее окружением. Таким механизмом является, как известно, изолирую-

щая липидная мембрана со встроенным в нее молекулярным ионным насосом – Na,K-АТФазой. Если жизнь возникла в морской воде, то происхождение первой клетки неизбежно сводится к происхождению натриевой помпы вместе с поддерживающей ее структурой – липидной мембраной, без которой работа любого насоса не имеет смысла. Получается, что жизнь рождается в условиях, глубоко ей враждебных и даже губительных для нее.

Трудности, с которыми сталкивается идея происхождения жизни в морской пучине побудили к поиску обходных путей в надежде, что натриевая протопомпа может потребоваться не сразу, а немного погодя, когда в протоклетке возникнет всё необходимое для создания помпы, включая систему ее энергообеспечения.

В 2007 году почти одновременно вышли две статьи (Mulkiđjanian and Galperin, 2007; Natochin, 2007), в которых высказано предположение, что жизнь возникла не в морской воде, как было принято думать до сих пор, а в небольших водоемах, с нужным для жизни соотношением ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ : то есть калия в них было больше натрия в той же пропорции, что и в цитоплазме современных клеток. Все этапы химической эволюции, предшествовавшие возникновению жизни, протекали, по мнению этих авторов, именно в таких, калиевых, прудах. Мулкиджанян и Гальперин (Mulkiđjanian and Galperin, 2007) предложили даже «принцип сохранения химического состава», согласно которому в цитоплазме современных клеток законсервирован ряд особенностей калиевых прудов, в число которых, кроме необходимого отношения калия к натрию, входят, по мнению авторов, и другие металлы, а также некоторые важные для жизни соединения. При таком подходе можно сказать, что калиевые

пруды представляли собой, по существу, мегаци-топлазму, по крайней мере в том, что касается рассматриваемых катионов. Если так, то образ первобытного океана, текущего по нашим жилам, теперь можно дополнить мириадами калиевых прудов, сохранившихся в составе клеток нашего организма с первобытных времен.

### Натриевый океан

Наточин (Natochin, 2007) тоже за сохранение химического состава первобытного калиевого пруда в современных клетках (не выделяя, однако, это положение в принцип сохранения), но в этом первобытном водоеме его интересуют прежде всего физиологически значимые катионы —  $K^+$  и  $Na^+$ . Поскольку калиевая мегаци-топлазма не контактирует до поры с натриевым океаном, она, по Наточину, не способна поддерживать важные жизненные процессы, основанные на физиологическом антагонизме этих катионов. Например, мегаклетка, в образе пруда, неспособна генерировать потенциалы покоя и действия. Отсюда идея Наточина о ключевой роли ионов натрия в происхождении жизни, которая может вспыхнуть только в столкновении калиевого и натриевого миров.

Некоторое преимущество калиевого пруда перед морской водой состоит, кроме прочего, и в том, что скорость синтеза пептидов в 3-10 раз выше в среде с ионами калия, чем в среде с той же концентрацией ионов натрия (Dubina et al., 2013), что можно объяснить разным характером взаимодействия  $K^+$  и  $Na^+$  с функциональными группами пептидной связи (Jockusch et al., 2001). Что касается происхождения таких прудов на первобытной Земле, то одни авторы (Mulkiđjanian and Galperin, 2007; Mulkiđjanian et al., 2012) связывают их появление с особыми условиями конденсации водяных паров в регионах с активной вулканической деятельностью, когда в конденсатах оказывалось почему-то больше калия, чем натрия. А Наточин считает, что такие пруды могли возникнуть и в более спокойной геологической обстановке — при контакте пресной воды с породами, богатыми соединениями калия (Natochin, 2007).

### Проблемы и суждения

Идея калиевого пруда сталкивается со следующими проблемами.

1. Конденсаты водяных паров должны были во многом напоминать дистиллированную воду. Если дистилляция была несовершенной и в конденсате калия оказалось больше, чем натрия, то одного только превышения  $K^+$  над  $Na^+$  еще явно недостаточно. Важно и количество солей.

2. Свитек (Switek, 2012), комментируя упомянутый «принцип сохранения химического состава», считает, что время существования калиевых прудов в беспокойных регионах с активной вулканической и тектонической активностью

явно недостаточно для завершения предбиологической эволюции.

3. Являлись ли калиевые пруды колыбелями жизни или они служили только химическими реакторами, в которых накапливались пептиды и другие соединения, необходимые для формирования протоклеток? Свитек убежден, что говорить о возникновении жизни в калиевых прудах нельзя, так как в таких водоемах сравнительно быстро устанавливается диффузионное равновесие всех растворенных веществ. Например, калий в одинаковом количестве присутствовал бы как внутри протоклетки (возникни она в таком месте), так и вне ее, а живая клетка обязана быть термодинамически неравновесной системой. Свитек, хотя и невнятно, по-своему, выражает простую мысль: физические законы запрещают возникновение в термодинамически равновесной (или квазиравновесной) системе (пруд) термодинамически неравновесной подсистемы (протоклетки).

4. По Наточину, насколько я могу судить, жизнь может возникнуть только в системе калиевая протоклетка/натриевая среда (т.е. как раз в неравновесной системе). Но в этом случае механизм поддержания неравновесия протоклетки со средой должен был возникнуть загодя, еще в калиевом пруду, в то самое время, когда в таком механизме еще не было практической необходимости! Получается, что в калиевом пруду должны заранее возникнуть липиды и сформировать липидную мембрану. Затем в том же пруду должны образоваться прозапас натриевые помпы и ионные каналы (одни для  $Na^+$  другие — для  $K^+$ ). Наконец, все эти элементы должны каким-то образом собраться вместе, образовав конструкцию, подобную биомембране, и оставаться в ожидании встречи с морской водой то ли день, то ли миллион лет. Без всех этих необходимых приговлений, морской  $Na^+$ , катион смерти, беспрепятственно проникнет в клетку и погасит в ней все тлеющие угольки жизни, как только морская вода захлестнет калиевый пруд.

Возникает неизбежный вопрос: почему натриевый насос должен был заранее сформироваться еще в калиевом пруду, если в протоклетке, «обитавшей» там, не было избытка  $Na^+$ ? Если Мулкиджанян и Гальперин, в нарушение термодинамического законодательства природы, высказываются за возникновение неравновесности (жизни) в равновесном пруду, то по Наточину, протоклетка в калиевом пруду почему-то уже загодя готовится к будущей жизни в океане. Ведь, по Наточину, искры жизни появляются только тогда, когда наполненная калием протоклетка оказывается в натриевом окружении. Именно тогда между средой и клеткой возникнет натрий/калиевый градиент, который, как стартер, запустит натриевый насос, заранее для этого приготовленный.

Таким образом, идея калиевого пруда приводит нас к двум неправдоподобным сценариям:

если против зарождения жизни непосредственно в калиевом пруду решительно выступает термодинамика, то для зарождения натриевого насоса в условиях, когда в нем нет нужды, необходимо уже вмешательство Провидения.

5. Свежая, казалось бы, идея калиевого пруда, не оправдав наших надежд, вновь возвращает наше внимание к фундаментальной проблеме: происхождение жизни сводится к происхождению полнофункциональной мембраны, — структуры, способной осуществлять неравновесный процесс по поддержанию особых условий внутриклеточной среды. Калиевый пруд не вносит в эту проблему ничего нового, если не считать новых проблем: что делать с нарушением фундаментальных законов физики, и как быть с телеологией, согласно которой, события настоящего каким-то образом определяют потребности будущего?

Тем временем, имеющиеся данные позволяют взглянуть на проблему калия, с другой стороны. Согласно имеющимся оценкам (Pinti, 2005), геохимическая эволюция океана началась за 700 млн лет до появления жизни. Температура остывающего океана достигла уровня, при котором могли возникнуть термофильные формы жизни (60-100 °C), за ~350 млн лет (Pinti, 2005, Fig. 3.1) до фактического возникновения жизни (Schidlowski, 2001). Возможным объяснением такой задержки может быть предположение, что первозданный океан был исключительно натриевым и почти не содержал калия, без которого жизнь невозможна. Важным свидетельством в пользу такого объяснения является удивительное совпадение времени возникновения жизни — 3,8 млрд лет назад (Schidlowski, 2001) со временем глобального формирования гранитов на первобытной Земле — те же 3,8 млрд лет назад (Zhang et al., 2006). Дело в том, что целый ряд распространенных типов гранитов богат соединениями калия. Отношение K/Na в обогащенных калием гранитах обычно достигает 1 и редко превышает этот уровень (Whitney, 1988). Однако в Индии недавно были обнаружены граниты с отношением  $K_2O/Na_2O$  от 1.1 до 69.8 (Rajaraman et al., 2013). В современном океане с эпохи архея отношение K/Na составляет 0,02 (Pinti, 2005). При таком понимании геохимических изменений на Земле, возникновение жизни на ней стало возможным только после Большого калиевого взрыва, вызванного всепланетной водной эрозией базальта, экстракцией из него калия, и последующего образования гранитов посредством неполного вторичного плавления осадочных пород. Если глобальное взаимодействие воды с континентальной корой, вызвавшее гигантский приток солей калия в океан, действительно имело место, то по сравнению с этим грандиозным явлением предположение о возможной роли калиевых прудов уже не выглядит как ключевое природное условие для возникновения жизни,

хотя такие пруды и могли сыграть определенную роль в период предбиологической эволюции.

### **Микросферам Фокса калиевые пруды не нужны**

Теперь давайте перейдем от рискованных предположений к установленным фактам. На протяжении последних 90 лет в нашем распоряжении имеются привлекательные клеточные модели, воспроизводящие немало интересных свойств живых клеток (вплоть до демонстрации «ионных каналов», «потенциалов покоя» и «действия»), но и столетия, считай, не хватило для того, чтобы обнаружить модель хотя бы какого-нибудь насоса, из которых нас сейчас интересуют натриевая помпа. Ни электрические разряды Миллера, ни аминокислотные сплавы Фокса, ни встраивание в коацерваты уже готовых биомолекул так и не привели к самозарождению прародителя ионного насоса даже в самых благоприятных лабораторных условиях. Мы стали свидетелями своего рода интриги: целые протоклетки, — гигантские белковые комплексы, — в лабораториях легко самозарождаются, а сравнительно небольшие белки-насосы — нет. Отсутствуют даже намеки, куда двигаться дальше в поисках этих ключевых моторов жизни. Не означает ли это, что непреодолимой преградой на этом пути опять встает термодинамика, строго запрещающая желанное чудо — возникновение неравновесности (читай: жизни) в равновесной системе, какой бы она ни была, — рафинированным раствором от «Сигмы», теплым прудом, тихой лагуной или океанической бездной! Ну, а пока науке ничего неизвестно о происхождении ионных насосов, рассмотрим известные свойства микросфер Фокса.

На рис. 1 представлены два потенциала действия. Один распространяется по нервному волокну рака, другой — по поверхности протеиноидной микросферы. Из сопоставления двух записей следует, что в обоих случаях изменения электрического потенциала качественно однотипны и количественно близки. Для ясности приведу пример. Силы гравитации на Земле и Луне имеют качественно одну физическую природу, различия носят лишь количественный характер. Наш случай такой же: физическая природа изменения потенциала в аксоне и в микросфере одна и та же (в обоих случаях переносчики заряда — ионы), а количественные характеристики различаются куда меньше, чем силы притяжения на Земле и Луне.

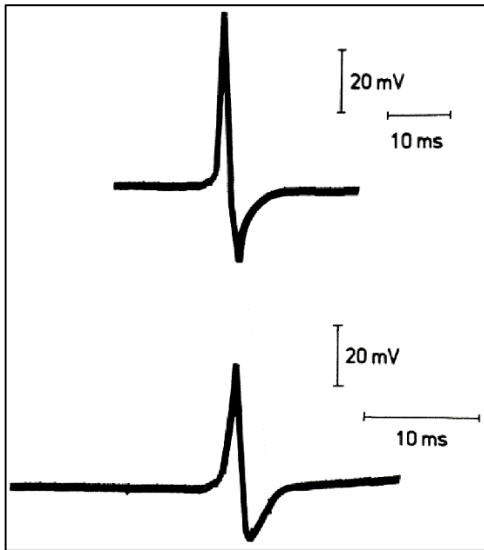


Рис. 1. Потенциал действия, возникающий при стимуляции рецептора растяжения рака (наверху). «Потенциал действия», зарегистрированный у микросферы (Fox, 1992). Рисунок воспроизводится с разрешения Springer-Verlag.

Теперь зададимся следующим вопросом: какими структурными элементами должна обладать мембрана аксона для того, чтобы она была в состоянии генерировать потенциал действия? Этих элементов в минимальной возбудимой мембране немного и они хорошо известны: 1) сплошной билипидный слой; 2) калиевые каналы; 3) натриевые каналы; 4) Na,K-насос. Функциональное назначение отдельных деталей этого механизма состоит в следующем: насос создает градиент концентраций  $K^+$  и  $Na^+$ , отчего на мембране возникает разность потенциалов (потенциал покоя); липидная фаза действует как изолятор, подавляющий паразитные токи; ионные каналы служат специфическими электрическими проводниками, необходимыми в данном случае для управления величиной мембранного потенциала. Для восстановления потенциала покоя, после возбуждения, требуется закрыть ионные каналы и включить насос для воссоздания исходных концентрационных градиентов  $K^+$  и  $Na^+$ .

Раскрыть механизм потенциала действия нейрона удалось Ходжкину и Хаксли (Hodgkin and Huxley, 1952), решивших эту проблему с помощью созданной ими математической модели. За эту работу авторы получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за 1963 год.

Из всего разнообразия математических приемов, авторы выбрали математический аппарат, удобный для описания потоков частиц (в данном случае ионов), причем эти потоки разделены в пространстве: одни ионы ( $Na^+$ ) двигаются в мембране по специальным натриевым каналам, а другие ( $K^+$ ) — по калиевым каналам. В целом, как следует из модели Ходжкина-Хаксли, для

того, чтобы возбудимость стала возможной, необходима мембрана, переменную и избирательную проницаемость которой описывает эквивалентная электрическая схема, в которой потенциал-зависимые резисторы соответствуют ионным каналам, а ёмкостное сопротивление обеспечивает диэлектрическая липидная мембрана.

Роль моделей, физических и математических, в науке трудно переоценить. Искусственные мембраны, например, сыграли решающую роль в развитии представлений о роли мембран в жизни клетки. Физические модели атомов и молекул, включая ДНК, математические модели в инженерном деле и астрофизике, все они доказывают, что только соответствующая модель служит если не доказательством, то ключевым свидетельством в пользу предполагаемого механизма явления или структуры объекта. Лучшим доказательством важного места, занимаемого в науке моделями, служит судьба самой модели Ходжкина-Хаксли, на десятилетия определившая не только наши представления о возбудимых мембранах, но и о функционировании мембран вообще. Однако справедливо и обратное: никакой механизм не может считаться доказанным, если не удастся найти модель, демонстрирующую, пусть в упрощенном виде, его работоспособность. В данном случае нас, в качестве моделей, интересуют искусственные клетки, представляющие собой камень преткновения для тех, кто считает, что искру жизни способна высечь только мембрано-насосно-канальная «зажигалка».

Пшибыльский и Страттен (Przybylski, 1984; Stratten, 1984) задались интересным вопросом: а можно ли модель Ходжкина-Хаксли применить к микросферам Фокса? Они показали, что, как ни странно, нет никаких ни логических, ни физических запретов на использование этого математического аппарата для описания потенциалов действия, генерируемых этими клеточными моделями, казалось бы, бесконечно далекими от нейронов. Иначе говоря, модель Ходжкина-Хаксли одинаково хорошо совместима и с нервной клеткой, и со сгустком протеиноподобных макромолекул. К сожалению, дальше этой интересной констатации Пшибыльский и Страттен не пошли.

Структура модели Ходжкина-Хаксли оказалась нечувствительной (инвариантной) к физическим, химическим и структурным различиям сравниваемых объектов, вероятно, потому, что их общей субстратной основой являются белки. На первый взгляд кажется, что здесь кроется какая-то досадная ошибка или недоразумение, но в следующую минуту вспоминаешь о важнейшем преимуществе математики, как инструменте научного познания, — о ее часто непостижимой абстрактной природе. Математические понятия, уравнения, величины не обременены конкретным вещественным содержанием. У математиче-

ских преобразований, на которых строятся разнообразные модели, теоремы и следствия из них, свои, особые, логические законы, а однажды полученный математический результат может иметь множество физических интерпретаций. Законы геометрии, например, не зависят от того, сделан треугольник из ржавой проволоки или образован лазерными лучами.

С моделью Ходжкина-Хаксли случилось так, что ее создавали не как отвлеченную математическую конструкцию, а как инструмент анализа свойств конкретного физического объекта — возбудимой мембраны нейрона, — и в конкретном историческом контексте! Математические параметры модели были истолкованы ее авторами, исходя из свойств аксона, но это вовсе не означает, что такая модель применима только к отростку нейрона и не допускает иных интерпретаций, когда применяется для изучения других структур. Иными словами, модель Ходжкина-Хаксли не может монополизировать живую возбудимую мембрану как единственный объект, к которому она может быть корректно применена, тем более она не может рассматриваться как математическое доказательство наличия в биомембране липидов, специфических ионных каналов и активного транспорта. Любая физическая модель — лишь одно из множества возможных воплощений духа математики и аксон здесь не исключение. Всем создателям математических моделей следует помнить, что созданная ими модель никогда не будет хранить верность тому физическому явлению, для анализа которого ее создавали.

Что же следует из того факта, что модели Ходжкина-Хаксли безразлично для чего ее используют, для изучения нейрона или микросферы Фокса? Мы имеем дело с двумя возможными следствиями.

1. Мембрана микросфер обладает теми же свойствами, что и мембрана нейрона: в ней тоже есть липидная мембрана, играющая роль электрического изолятора, и специализированные потенциал-зависимые ионные каналы для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . При достижении пороговой деполяризации, натриевые каналы микросферы открываются, ионы  $\text{Na}^+$  устремляются в микросферу, происходит резкая деполяризация мембраны, затем открываются калиевые каналы, ну, и так далее. А дальше, для восстановления потенциала покоя, необходим протеиноидный ионный насос, который откачивает из микросферы лишние ионы  $\text{Na}^+$  и закачивает в протоклетку утраченные ионы  $\text{K}^+$ .

Поскольку в рассматриваемых протоклетках нет ни одной из перечисленных структур, то напрашивается второе следствие.

2. Реальные события, разворачивающиеся в мембране нейрона, имеют мало общего с теорией (хорошо нам известной), которая их описывает, и поэтому такая теория нуждается в такой ревизии, чтобы между живой клеткой и клеточной моделью исчезла непроходимая пропасть, в существовании которой мы убедились. Микросферы и нейроны построены из белков, физические свойства которых остаются неизменными на протяжении миллиардов лет, следовательно, все белковые образования должны работать на одних и тех же принципах. Теория потенциала действия нервной клетки, принятая в литературе, является лишь одной из возможных интерпретаций модели Ходжкина-Хаксли, и мы убедились в ее ограниченности. Очевидно, что нужна другая унифицированная математическая модель, которая смогла бы единообразно объяснить электрические свойства и живых клеток, и клеточных моделей.

Радикальный характер этих выводов объясняет, почему Пшибыльский и Страттен их не сделали, и почему на их наблюдения не обратили никакого внимания: за истекшие 30 лет их процитировали лишь в пяти статьях люди своего круга и не в связи с парадоксальными свойствами модели Ходжкина-Хаксли.

Между тем, в микросферах тоже есть то, что принято называть ионными каналами (рис. 2, В). Сравним две представленные на рисунке записи. Очевидно, что при всех количественных различиях мы имеем дело с одним и тем же физическим явлением: электрические заряды время от времени прорываются через некую преграду (изолятор) и ионный ток то возникает (ионные каналы открываются), то прекращается (ионные каналы закрываются). Мы видим, что некие структуры живой клетки и микросферы способны изменять свою проводимость, то увеличивая сопротивление движению зарядов, то снижая его. Что касается живых клеток, то признанным препятствием движению ионов является липидная сердцевина мембранного «сэндвича», а пронизываемой ее делают белковые включения, способные выполнять разнообразные функции. Пока мы остаемся в пределах живой клетки, всё выглядит логично и стройно, но стоит перенести наше внимание на микросферы, как появляются необычные и потому интересные вопросы.

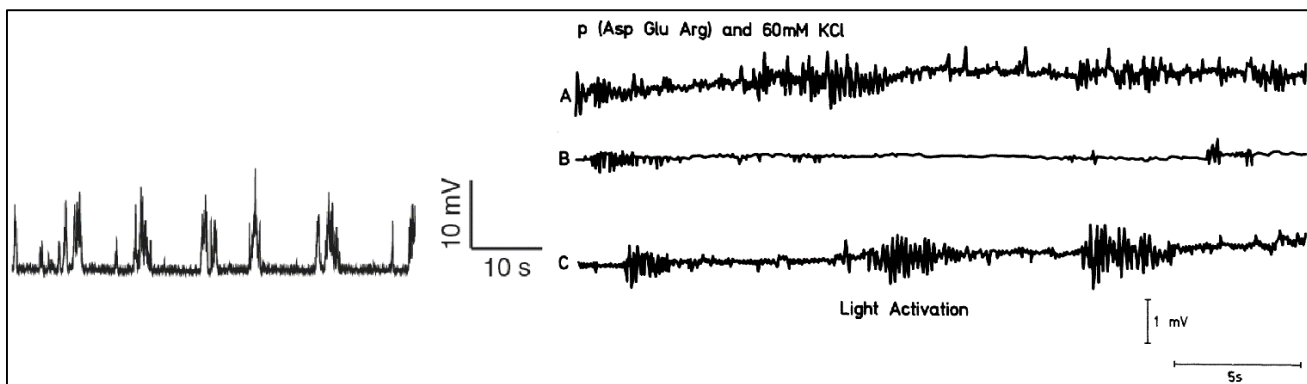


Рис. 2. Слева — спонтанная активность ионных каналов кортикального нейрона при целоклеточном отведении (whole-cell patch-clamp) в состоянии покоя (Kodandaramaiah et al., 2012). Справа — спонтанная активность «ионных каналов» протеиноидных микросфер Фокса, записанная методом «внутрипротоклеточного» отведения потенциала. Микросферы приготовлены из протеиноида поли(asp,glu,arg) и суспендированы в растворе KCl (60 мМ). А — освещенность 10 люкс; В — в темноте; С — освещенность 100 люкс (Fox, 1992). Обсуждение влияния освещенности выходит за рамки настоящей статьи. Рисунок воспроизводится с разрешения Nature Publishing Group и Springer-Verlag.

Действительно, в случае микросфер мы не можем апеллировать ни к липидной мембране, ни к привычным ионным каналам, которые принято размещать в липидной фазе. Липидов в микросферах нет, а ионные каналы (назовем их так) есть, и они должны быть еще и ион-специфичными, как того требует модель Ходжкина-Хаксли. Данные рис. 2 доказывают, что между живой клеткой и моделью нет непроходимой пропасти, что и следовало ожидать, но остается явный и глубокий разрыв в понимании природы этого сходства.

### На пути к протофизиологии

Проведенное обсуждение приводит нас к следующим выводам.

1. Идея калиевых прудов представляет определенный интерес, но она не приближает нас к пониманию происхождения живой протоклетки.

2. С точки зрения существующих представлений, ключевым событием в происхождении жизни является возникновение неравновесного физического процесса, носителем которого является, как принято думать, липидная мембрана с белковыми включениями — каналами и насосами. Эта минимальная структура жизни, нуждается в непрерывном притоке энергии откуда-то извне. Значит, одновременно с полнофункциональной мембраной должна возникнуть еще и система энергообеспечения, что в целом превращает возникновение жизни в акт творения, — настолько сложные процессы синтеза и сборки должны возникнуть в одно время, в одном месте и в определенном порядке. За всё время существования проблемы происхождения жизни как экспериментальной науки (Oparin, 1924), ни в одной лаборатории не было получено ни одной клеточной модели, которая обладала бы активной работающей мембраной, потребляющей энергию

из внешнего источника, способной распознавать физиологически значимые катионы и направлять их движение по разным каналам, перемещая их на противоположные стороны первобытной мембраны. Мы до сих пор не имеем ни малейшего представления о предке современной натриевой помпы. Даже те, кто работал с липидными везикулами, со встроенной в них Na,K-АТФазой, не осмелились всерьез предложить эти пузырьки в качестве прообраза первобытной клетки. Причина ясна: трудно представить себе, что столь сложная лабораторная технология могла реализоваться в каком-то первобытном водоеме.

3. Общепринятые физические принципы работы клетки, которые мы встречаем повсюду, и в статьях, и в учебниках, применимы, только к живым клеткам и не могут, как оказалось, быть использованы для объяснения физических свойств клеточных моделей — протеиноидных микросфер. Отсутствие в литературе содержательного, предметного сопоставления физических свойств живых клеток с аналогичными свойствами их моделей наводит на странную мысль о существовании двух физик белковых тел: одна имеет дело с липидами, каналами и насосами, а другая, неизвестная пока нам физика, управляет работой протоклеток Фокса. «Физики» почему-то разные, а явления, в основе которых они лежат, одинаковые: потенциалы покоя и действия, канальная проводимость, способность отличать  $K^+$  от  $Na^+$ . Законы физики едины и поэтому физические принципы, определяющие организацию и функционирование клетки и протоклетки, должны быть неизменными с начала времен. Основание для этого утверждения одно: фундаментом жизни во все времена были белки, свойства которых определяет их состав и структура, а не характер геологической эпохи. Однако очевидно, что в научной среде пока нет такого понимания

единства физических законов, управляющих свойствами и взаимодействиями белков, порождающими явление жизни. Поэтому, видимо, полезно ввести в научный обиход «принцип инвариантности физических свойств белков»: физические свойства белков не зависят от того, в состав какой структуры они входят, живой или протоклеточной. Модель Ходжкина-Хаксли не в состоянии дать объяснение этой инвариантности, так как она имеет физический смысл только в одном-единственном случае — в случае живой клетки.

В заключение вернемся к идее калиевых прудов. В работе Ишимы и сотр. (Ishima et al., 1981) приводятся уникальные данные о распределении ионов между протеиноидными микросферами и средой. Насколько мне известно, это единственная работа, в которой такие данные имеются. В таблице 1 этой статьи читаем: концентрация  $K^+$  внутри микросферы 80 мМ, а в среде инкубации — 0,05 мМ. Получается, что концентрация  $K^+$  в микросфере в 1600 раз больше, чем в среде. Способность микросфер Фокса аккумулировать  $K^+$  обесценивает идею калиевого пруда как колыбели жизни. Пруды могли быть самыми разными по составу, а натриевый океан уже не кажется слишком враждебной средой для протоклеток, способных, как оказалось, создавать свою внутреннюю среду без липидных мембран и  $Na, K$ -насосов.

Совершенно ясно, что микросферы действуют как капли ионообменной смолы с обратимыми свойствами. Аккумуляция ионов живыми клетками посредством адсорбции — явление хорошо известное (Damadian, 1973), а Карреман (Karreman, 1973, 1977) и Чанг (Chang, 1977, 1978) создали даже количественную теорию потенциалов покоя и действия, основанную на механизме адсорбции. Возбудимость микросфер является лучшим свидетельством в пользу применимости адсорбционного подхода к пониманию физических основ клеточной и протоклеточной физиологии. Сорбционное аккумуляция вместо насоса. Чувствительный (возбудимый) белковый/протеиноидный адсорбент на поверхности клетки/протоклетки вместо мембраны. Потенциал-чувствительные сайты связывания ионов в пограничном слое адсорбента могут выгладеть и проявлять себя в эксперименте как ион-специфические каналы.

Существующие клеточные модели дают нам ясно понять, что все важные для предбиологической эволюции процессы могли протекать внутри протоклеток в относительной изоляции от окружающей среды (даже в океане) без участия структур и механизмов, на которых настаивает современная мембранная физиология клетки. Остается только удивляться, почему аккумулирующую способность микросфер и, возможно, других клеточных моделей не исследуют самым

тщательным образом. Важное значение сравнительных исследований клеток и клеточных моделей не ограничено одной только проблемой происхождения жизни. Они могли бы дать нам возможность по-новому взглянуть и на процессы в живых клетках, которые мы, якобы, хорошо понимаем. Парадоксы модели Ходжкина-Хаксли — яркое свидетельство ограниченности наших знаний.

Случайные наблюдения, сделанные в аскетичных исследованиях микросфер и других клеточных моделей необходимо объединить и значительно расширить в рамках специальной научной дисциплины — протофизиологии. Тщательному исследованию современными методами подлежат четыре фундаментальных физических свойства протоклеток: 1) полупроницаемость; 2) способность накапливать одни вещества и удалять из своей внутренней среды другие; 3) способность генерировать электропотенциалы, и 4) осмотическая стабильность. Изучение роли сорбционных процессов необходимо включить в программу исследований проблемы происхождения жизни с обязательным методологическим требованием *сравнительного* анализа свойств известных и будущих клеточных моделей со свойствами архей, нормальных бактерий и экстремофилов (термофильных, галлофильных, полиэкстремофильных клеток и т.п.). Такое исследование сосредоточило бы наше внимание на фундаментальных физических процессах, формирующих физическую основу для химической, биохимической и структурной эволюции. Уверен, что полученные при этом знания значительно приблизят нас к решению проблемы происхождения жизни.

Внутреннюю среду протоклеток с ее уникальными свойствами можно рассматривать как своего рода протоклеточный мир, в котором только и могла возникнуть жизнь и начать свое эволюционное развитие. По существу, протоклеточный мир может оказаться объединяющим началом для известных в литературе «миров» — мира РНК, мира ДНК и мира белка. Протофизиология может иметь и важное практическое значение, поскольку искусственные клетки используют как микрореакторы для синтеза различных химических соединений в том числе и медицинского назначения, а также для адресной доставки лекарственных веществ для лечения рака и других болезней.

### **Биофаза как главный объект исследования протофизиологии**

Согласно представлениям, развивавшимся научной школой клеточной физиологии, основанной Д.Н. Насоновым и А.С. Трошиным в 30-х годах прошлого века, клетка представляет собой безмембранную фазу или, другими словами, безмембранный фазовый компартмент (подробности см. в работах Troshin 1966; Matveev 2005, 2010),



несмешивающийся с омывающим раствором в силу существенных различий физических свойств, а не благодаря наличию плазматической мембраны. Именно различия физических свойств клетки и среды, согласно методологии Школы, играют ключевую роль в функционировании клетки. Однако первые микрофотографии плазматических мембран (полученных с помощью электронных микроскопов) нанесли тяжелый удар такому подходу и принесли решительную победу тем, кто рассматривал мембрану в качестве структуры, играющей ключевую роль в организации и функционировании клетки, содержимое которой в физическом отношении не отличалось от водного раствора, окружающего клетку. В этом историческом контексте исследования последних лет, посвященные безмембранным фазовым компартаментам внутри клетки, звучат как сенсация.

Согласно этому новому взгляду, возникшему независимо от фазовых представлений прошлого, безмембранные фазовые компарменты играют важную роль в функционировании ядра (Aumiller et al., 2013), ядерной оболочки (Adams and Wentz, 2013) и цитоплазмы (Human and Brangwynne, 2011). Бренгвин (Brangwynne, 2013) такие компарменты рассматривает даже в качестве временных органелл. Согласно имеющимся данным, фазовые компарменты играют ключевую роль и в клеточной сигнализации (Li et al., 2012). Хаймен с сотр. (Human et al., 2014) полагают, что формирование безмембранных фаз, их способность самопроизвольно отделяться от внутриклеточной среды, имеет общебиологическое значение, вовлечено в самые разнообразные жизненные процессы, включая само происхождение жизни.

Поскольку микросферы Фокса не содержат липидов, признание их в качестве безмембранных фазовых компарментов было бы не только самым простым, но даже очевидным подходом к пониманию их физической природы. Основываясь на историческом опыте и данных последнего времени, можно сделать вывод, что протоклетки на заре жизни на Земле, каким бы они ни были, являлись фазовыми системами, потому что только такие физические системы способны, в силу своей природы, создать ту особую внутреннюю среду, в которой жизнь только и могла возникнуть и совершить свои первые шаги по пути молекулярной эволюции. Условия формирования белковых биофаз (протоклеток) и их фундаментальные физические свойства, упомянутые выше, являются приоритетными направлениями исследований протофизиологии.

Необходимым условием превращения белкового раствора в биофазу является взаимодействие белков с большой массой воды, сопровождающееся глубоким изменением физического состояния последней, что и делает биофазу инкубатором жизни. Представления о связанной воде появились еще в XIX веке и хорошо известны в

физической (коллоидной) химии. Примером системы, содержащей связанную воду, являются гидрогели, широко известные даже на бытовом уровне. Взаимодействию белков с водой посвящена большая литература, но только малая ее часть представляет интерес для физиологии протоклетки, потому что для нее важны не отдельные события взаимодействия воды с белком, а механизм возникновения объемной водной фазы вокруг белковой молекулы. Ключевой особенностью связанной воды является ее сниженная растворяющая способность (также известная с XIX века), состоящая в том, что равновесная концентрация растворенных веществ и содержание коллоидных частиц в ней ниже, чем в объемной воде. Именно по этой причине концентрация натрия в биофазе ниже, чем в морской воде, что очень важно для возникновения особых внутрипротоклеточных физических условий, необходимых для протекания жизненных процессов и молекулярной эволюции. Удивительно, что только спустя 150 лет после появления представлений о связанной воде стало возможным визуализировать водный слой, связанный гидрофильной поверхностью, который вытесняет коллоидные частицы по причине сниженной растворяющей способности этого слоя (Chen et al., 2012; Sulbarán et al., 2014). Это же явление — образование «вытесняющего» слоя воды, — было зарегистрировано и у поверхности живых клеток (Zheng et al., 2006). Визуализация зоны вытеснения вокруг микросфер Фокса (и других биофаз) было бы важным достижением для науки о происхождении жизни. С точки зрения фазового подхода, использование липосом и других мембранных (нефазных) клеточных моделей для решения проблемы происхождения жизни представляется движением в тупик.

### **Благодарности.**

Выражаю свою признательность коллегам Björn Brücher, Richard Egel, Laurent Jaeken, Ijaz Jamall и Richard Gordon за ценные критические замечания к статье. Я также благодарен Тимуру Казбекову и Андрею Гущину за всестороннюю помощь в работе над рукописью. Свою особую признательность я хотел бы выразить коллегам Denys Wheatley и Richard Wiggins за их заинтересованное и придирическое обсуждение рукописи, позволившее устранить ряд скрытых недостатков.

### **Литература**

- Adams, R.L., & Wentz, S.R. (2013). Uncovering nuclear pore complexity with innovation. *Cell* 152(6), 1218-1221.
- Aumiller Jr, W.M., Davis, B.W., & Keating, C.D. (2013). Phase separation as a possible means of nuclear compartmentalization. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 307, 109-149.

- Brangwynne, C.P. (2013). Phase transitions and size scaling of membrane-less organelles. *J. Cell Biol.* 203(6), 875-881.
- Chang, D.C. (1977). A physical model of nerve axon—I. Ionic distribution, potential profile, and resting potential. *Bull. Math. Biol.* 39(1), 1-22.
- Chang, D.C. (1978). A physical model of nerve axon. II: Action potential and excitation currents. Voltage-clamp studies of chemical driving forces of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> in squid giant axon. *Physiol. Chem. Phys.* 11(3), 263-288.
- Chen, C.S., Chung, W.J., Hsu, I.C., Wu, C.M., & Chin, W.C. (2012). Force field measurements within the exclusion zone of water. *J. Biol. Phys.* 38(1), 113-120.
- Dubina, M.V., Vyazmin, S.Y., Boitsov, V.M., Nikolaev, E.N., Popov, I.A., Kononikhin, A.S., Eliseev, I.E., & Natochin, Y.V. (2013). Potassium ions are more effective than sodium ions in salt induced peptide formation. *Orig. Life Evol. Biosph.* 43(2), 109-117.
- Damadjan, R. (1973). Biological ion exchanger resins. *Ann. NY Acad. Sci.* 204(1), 211-248.
- Fox, S.W. (1965). Simulated natural experiments in spontaneous organization of morphological units from protenoid. In *The Origins of Prebiological Systems and their Molecular Matrices*, ed. S.W. Fox, pp. 336-382. Academic Press, New York.
- Fox, S.W. (1992). Thermal proteins in the first life and in the "mind-body" problem. In *Evolution of Information Processing Systems*, ed K. Haefner, pp. 203-228. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Hodgkin, A.L., & Huxley, A.F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117(4), 500-544.
- Hyman, A.A., & Brangwynne, C.P. (2011). Beyond stereospecificity: liquids and mesoscale organization of cytoplasm. *Dev. Cell* 21(1), 14-16.
- Hyman, A.A., Weber, C.A., & Jülicher, F. (2014). Liquid-liquid phase separation in biology. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 30, 39-58.
- Ishima, Y., Przybylski, A.T., & Fox SW (1981) Electrical membrane phenomena in spherules from proteinoid and lecithin. *BioSystems* 13(4), 243-251.
- Jockusch, R.A., Lemoff, A.S., & Williams, E.R. (2001). Effect of metal ion and water coordination on the structure of a gas-phase amino acid. *J. Am. Chem. Soc.* 123(49), 12255-12265.
- Karreman, G. (1973). Towards a physical understanding of physiological excitation as a cooperative specific adsorption phenomenon. *Bull. Math. Biol.* 35(1-2), 149-171.
- Karreman, G. (1977). Cooperative specific adsorption phenomena in biology. *Bull. Math. Biol.* 39(2), 267-273.
- Kodandaramaiah, S.B., Franzesi, G.T., Chow, B.Y., Boyden, E.S., & Forest, C.R. (2012). Automated whole-cell patch-clamp electrophysiology of neurons in vivo. *Nat. Methods* 9(6), 585-587.
- Li, P., Banjade, S., Cheng, H.C., Kim, S., Chen, B., Guo, L., Llaguno, M., Hollingsworth, J.V., King, D.S., Banani, S.F., Russo, P.S., Jiang, Q.X., Nixon, B.T., & Rosen, M.K. (2012). Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. *Nature* 483(7389), 336-340.
- Matveev, V.V. (2005). [Protoreaction of proto-plasm](#). *Cell. Mol. Biol.* 51(8), 715-723.
- Matveev, V.V. (2010). [Native aggregation as a cause of origin of temporary cellular structures needed for all forms of cellular activity, signaling and transformations](#). *Theor. Biol. Med. Model.* 7, 19-20. [Русская версия этой статьи](#).
- Mulkidjanian, A.Y., & Galperin, M.Y. (2007). Physico-Chemical and Evolutionary Constraints for the Formation and Selection of First Biopolymers: Towards the Consensus Paradigm of the Abiogenic Origin of Life. *Chem. Biodivers.* 4(9), 2003-2015.
- Mulkidjanian, A.Y., Bychkov, A.Y., Dibrova, D.V., Galperin, M.Y., & Koonin, E.V. (2012). Origin of first cells at terrestrial, anoxic geothermal fields. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109(14), E821-E830.
- Natochin, Y.V. (2007). The physiological evolution of animals: sodium is the clue to resolving contradictions. *Herald Russ, Acad. Sci.* 77(6), 581-591.
- Oparin, A.I. (1924). *Proiskhozdenie Zhizny*. Izd Moskovskii Rabochii, Moscow.
- Pinti, D.L. (2005). The origin and evolution of the oceans. In *Lectures in Astrobiology*, eds. M. Gargaud, B. Barbier, H. Martin and J. Reisse, pp. 83-111. Springer-Verlag, Berlin.
- Przybylski, A.T. (1984). Physical background of excitability: synthetic membranes and excitable cells. In *Molecular Evolution and Protobiology*, eds. K. Matsuno, K. Dose, K. Harada, and D.L. Rohlffing, pp. 253-266. Plenum Press, New York.
- Rajaraman, H.S., Babu, G.N., Chavan, S.J., Achar, K.K., & Babu, P.R. (2013). Signature of potassium enrichment in granite of the Chitrial area, Nalgonda district, Andhra Pradesh: Inferences using its U, Th, K<sub>2</sub>O, Na<sub>2</sub>O, Rb, Ba and Sr contents. *J. Geol. Soc. India* 82(1), 53-58.
- Schidlowski, M. (2001). Carbon isotopes as biogeochemical recorders of life over 3.8 Ga of Earth history: evolution of a concept. *Precamb. Res.* 106(1), 117-134.
- Stratten, W.P. (1984). Protocell action potentials: a new perspective of bio-excitation. In *Molecular Evolution and Protobiology*, eds. K. Matsuno, K. Dose, K. Harada, and D.L. Rohlffing, pp. 233-251. Plenum Press, New York.
- Sulbarán, B., Toriz, G., Allan, G.G., Pollack, G.H., & Delgado, E. (2014). The dynamic development of exclusion zones on cellulosic surfaces. *Cellulose* 21(3), 1143-1148.

- Switek, B. (2012). Debate bubbles over the origin of life. Nature (online issue, <http://www.nature.com/news/debate-bubbles-over-the-origin-of-life-1.10024>).
- Troshin, A.S. (1966). [Problems of Cell Permeability](#). Pergamon Press, Oxford. [Предыдущее \(1956\) русское издание. 以前 \(1956年\), 中國版。](#)
- Whitney, J.A. (1988). The origin of granite: the role and source of water in the evolution of granitic magmas. Geol. Soc. Am. Bull. 100(12), 1886–1897.
- Zhang, S.B., Zheng, Y.F., Wu, Y.B., Zhao, Z.F., Gao, S., & Wu, F.Y. (2006). Zircon U–Pb age and Hf isotope evidence for 3.8 Ga crustal remnant and episodic reworking of Archean crust in South China. Earth Planet Sci. Lett. 252(1), 56–71.
- Zheng, J.M., Chin, W.C., Khijniak, E., & Pollack, G.H. (2006). Surfaces and interfacial water: evidence that hydrophilic surfaces have long-range impact. Adv. Colloid. Interface Sci. 127(1), 19–27.

