

Клеточная теория, внутренне неупорядоченные белки и физика происхождения жизни

В.В. Матвеев

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург.
Электронная почта: vladimir.matveev@gmail.com
Персональный сайт: <http://vladimirmatveev.ru>

Please cite this article as: Matveev, V.V. (2019) Cell theory, intrinsically disordered proteins, and the physics of the origin of life. Prog. Biophys. Mol. Biol., 149: 114-130.
<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.04.001>, PMID: 30965040.

Аннотация. Клеточная теория Шванна, опубликованная в 1839 г., утвердила идею о том, что клетка является основным структурным элементом живой природы. Позднее, решая вопрос о размножении клеток, Вирхов расширил клеточную теорию постулатом: клетка может произойти только от предсуществующей клетки. Но от чего произошла самая первая клетка? В этой статье предлагается расширить закон Вирхова предположением о том, что между неживой протоклеткой и первой живой клеткой сохранялась преемственность фундаментальных физических свойств (принцип инвариантности физических свойств). Протоклетка понимается здесь как физическая система в форме клетки, сформированная из биологически значимых пребиотических макромолекул, прежде всего пептидов, в результате самосборки, и обладающая потенциалом для превращения в живую клетку. Принимается, что ключевые физические свойства протоклетки определяются физическими свойствами термодинамической фазы (биофазы), возникающей в результате адсорбции воды на молекулярной поверхности пептидов (фазоцентричный подход). Биофаза рассматривается как физическая основа безмембранной протоклетки, внутренняя среда которой отделена от внешней среды благодаря фазе адсорбированной воды. Приводятся свидетельства того, что первые протоклетки могли сформироваться на основе внутренне неупорядоченных пептидов. Представлены данные о сходстве физических свойств живых клеток и следующих модельных систем: растворы белков и искусственных полимеров, коацерватные капли, гранулы ионообменной смолы. Совокупность данных о сходстве физических свойств клеточных моделей и живых клеток позволяет перефразировать постулат Вирхова следующим образом: физические свойства живой клетки могли произойти только от физических свойств протоклетки.

Key words: intrinsically disordered proteins, proteinoids, protocell, thermodynamic phase, aqueous phase, adsorption, solute distribution, coacervate, microsphere, cell theory, origin of life.

[\[Video Abstract 1\]](#) [\[Video Abstract 2\]](#) [\[Video Abstract 3\]](#)

Оглавление

1. Расширение клеточной теории	2
2. Безмембранная водная фаза как физическая основа протоклетки	3
3. Экспериментальное обнаружение водных фаз в клетках и клеточных моделях	4
4. Роль водородных связей в формировании водных фаз	10
4.1. Черты сходства между протеиноидами и внутренне неупорядоченными белками.....	13
4.2. Внутренне неупорядоченные белки как потенциальные фазеры жизни.....	14
5. Внутренне неупорядоченные белки как физическая основа биофазы	16
6. Функционирование протоклетки как циклический переход между двумя состояниями	17
7. Энергия для протоклетки	18
8. Выводы	19
References (136 items, 108 with doi)	20
Интернет-ресурсы	26

1. Расширение клеточной теории

Через 16 лет после публикации Шванном клеточной теории Рудольф Вирхов в 1855 году вносит в нее важное дополнение, касающееся образования новых клеток (см. [Кашнельсон, 1963](#), с. 186; Wolpert, 1995): “Omnis cellula e cellula” (“Всякая клетка происходит только от предсуществующей клетки”). Эта идея Вирхова быстро получила признание в качестве одного из принципиальных положений клеточной теории, объясняющей происхождение клеток. За безупречное соответствие имеющимся фактам идею Вирхова называют постулатом, и аксиомой биологии, и биологическим законом.



Рудольф Вирхов (1821-1902)

Клеточная теория, дополненная Вирховым, на протяжении всей своей истории служила критерием истины при решении многих проблем клеточной биологии (Sekereš and Žárský, 2018). Единственной областью, в которой постулат Вирхова еще не нашел себе применения в качестве руководящего принципа является проблема происхождения живой клетки. Зададимся вопросом: произошла ли первая клетка от клетки или от чего-то, не имеющего ничего общего с клеточной организацией (то есть в нарушение закона Вирхова)? Я склоняюсь к следующему мнению: на протяжении десятилетий постулат Вирхова только укреплялся, отвергать его применимость к проблеме происхождения жизни нет оснований.

В контексте проблемы происхождения жизни, закон Вирхова можно перефразировать следующим образом: живая клетка могла произойти только от предсуществующей клетки, представлявшей тогда из себя протоклетку. В этой статье я буду следовать предположению, что моя интерпретация аксиомы Вирхова имеет право на существование, а ее применение к проблеме происхождения жизни может привести к новым экспериментальным и теоретическим подходам.

Постулат Вирхова, применяемый к проблеме происхождения жизни, требует ответа на принципиальный вопрос: что общего должно быть между клеткой и протоклеткой, чтобы последняя могла рассматриваться в качестве правдоподобного предшественника

живой клетки? На мой взгляд, родственные черты в данном случае необходимо искать не в биологии, а в физике. Необходимые экспериментальные данные для этого есть. Известны четыре фундаментальных физических свойства живой клетки ([Ling, 1984](#), р. xxix, xxx): полупроницаемость, способность избирательно накапливать одни вещества и удалять из своей внутренней среды другие, способность генерировать электропотенциалы и способность к осмотической устойчивости. Этими же свойствами должна была обладать и протоклетка. Оказывается, протеиноидные микросферы Фокса (Fox et al., 1959), наиболее изученные модели протоклетки, обладают тремя из перечисленных свойств, кроме свойства полупроницаемости ([Matveev, 2017](#)), которое просто никто еще не исследовал, но его наличие у микросфер можно уверенно ожидать, так как полупроницаемыми являются другие модели протоклетки — коацерваты (см. ниже).

Что касается везикулярных (мембранных) моделей протоклетки, то в литературе, насколько мне известно, отсутствуют данные о том, что они обладают упомянутыми фундаментальными физическими свойствами. Этот пробел можно объяснить тем, что носителем таких свойств, согласно общепринятым представлениям, является не просто липидная пленка, а полнофункциональная мембрана с включенными в липидный слой сложными белковыми молекулами ([Nicolson, 2014](#)). При таком подходе везикулярные протоклетки, сколько бы липидов в них ни содержалось, не могут обладать теми же физическими свойствами, что и живые клетки. Следовательно, согласно расширенному пониманию закона Вирхова, принятому здесь, живая клетка не могла произойти от мембранного компартмента, поскольку нарушено требование неизменности физических свойств при трансформации протоклетки в клетку (принцип инвариантности). Жизнь, согласно принятому подходу, не может зародиться в системе, физическая природа которой принципиально отличается от физических свойств живой клетки.

В этой статье протоклетки будут рассматриваться как безмембранные компартменты, что подтверждается данными о том, что протоклетки Фокса и коацерваты не содержат липидов и, соответственно, не имеют липидной мембраны. Целостность таких протоклеток обеспечивает не мембрана (как механическая оболочка), а физические взаимодействия, удерживающие макромолекулы и другие ключевые компоненты в составе супрамолекулярных ассоциатов, физическая природа которых определяется понятием «термодинамическая фаза» (см. ниже).

Итак, с позиций клеточной теории, ключевое условие возникновения жизни состоит в следующем: физические явления и процессы, характерные для жизни, возникли еще в протоклетке, обладавшей теми же физическими свойствами, что и современные клетки.

Эволюционный переход от протоклетки к живой клетке оказался возможным только благодаря *идентичности* фундаментальных физических свойств предшественника и преемника (принцип инвариантности). Жизнь возникла в тех же физических условиях, в которых она существует и сегодня. Следовательно, научная программа решения проблемы происхождения жизни должна быть направлена на поиск клеточных моделей, обладающих указанными физическими свойствами, и на сравнительное изучение этих свойств у клеток и моделей.

Если следовать закону Вирхова, как я его здесь применяю, то различные минеральные субстраты и геологические образования (песчаные пляжи, глина, поры в минералах, теплые пруды и лагуны, гейзеры и тому подобное) не могут рассматриваться в качестве предшественников живой клетки, так как к ним не применимо представление о единстве четырех физических свойств клетки, упомянутых выше. Геологические формации могут служить лишь химическими реакторами для производства соединений, необходимых для возникновения жизни.

Настоящая статья не является обзором литературы. Ее целью является изложение принципов, полезных, по моему мнению, для исследования проблемы происхождения жизни.

2. Безмембранная водная фаза как физическая основа протоклетки

Сопоставление имеющихся в литературе данных свидетельствует о том, что методология исследований происхождения жизни стоит перед выбором между двумя конкурирующими направлениями, объясняющими фундаментальные физические свойства протоклетки: (1) носителем этих свойств является мембрана (стандартная модель) ([Deamer, 2016](#)); (2) физические свойства протоклетки обусловлены ее фазовой природой (фазовая модель) ([Matveev, 2017](#)).

Фазовые (как и мембранные) представления об организации клетки зародились еще XIX веке ([Ling, 2007](#)), но затем были оставлены в связи с успехами стандартной, мембраноцентричной, модели. Однако в последние годы термодинамическая фаза, как физическое состояние вещества клетки (фазоцентричная модель), вновь стала привлекать к себе внимание в форме внутриклеточных безмембранных компартментов, возникающих благодаря внутренне неупорядоченным белкам ([Vekilov, 2011](#); [Mitrea and Kriwacki, 2016](#)). Ключевым фактором компартментализации в этом случае является способность определенных белков образовывать ассоциаты, которые являются не просто сгустком макромолекул, а формируют новую физическую реальность внутри ассоциата. Эту реальность в физике называют фазой. Элементарными примерами граничащих друг с другом фаз являются двухфазные системы лед/вода, масло/вода. Простым критерием,

позволяющим назвать какое-то образование фазой, является ее несмешиваемость с окружающей средой несмотря на отсутствие каких-либо мембран, препятствующих такому смешиванию.

Физические различия между фазами, входящими в состав двухфазной системы (например, клетка/среда), являются причиной неравномерного распределения веществ между фазами (см. ниже), а изменение свойств фазы, вызванное, например, внешним воздействием, приводит к новому перераспределению веществ. С физической точки зрения, если клетка состоит из отдельных фаз, то и сама она является фазой. В пользу фазовой природы живых клеток получено множество экспериментальных данных как в рамках российской научно-исследовательской программы [Д.Н. Насонова](#) и [А.С. Трошина](#) ([Насонов, 1962](#); [Nasonov, 1962](#); [Трошин, 1956](#); [Troshin, 1966](#); см. также [Matveev, 2005](#)), так и независимыми исследователями ([Ling, 1962, 2006](#); Ernst, 1963).

Фазовые свойства клеток и моделей обнаруживаются, например, при исследовании распределения веществ между *водой* исследуемой системы и *водой* среды в условиях диффузионного равновесия. Если равновесная концентрация исследуемого вещества в воде компартмента не равна таковой в объемной воде, значит, вода компартмента отличается по своим свойствам от простой немодифицированной воды. В результате тщательных исследований установлено, что вода живых клеток и клеточных моделей имеет сниженную растворяющую способность по сравнению с водой среды, следовательно, системы клетка/среда и модель/среда приобретают признаки двухфазной системы (см. следующий раздел).

Отсутствие идей о причинах появления в клетках воды с особыми свойствами вызвали к жизни разные ее наименования: коллоидная вода, биовода, связанная вода. Существенный недостаток этих понятий состоит в том, что они никак не указывают на причины возникновения биоводы из обычной и, что еще хуже, дают повод для мистификаций. Чтобы восполнить этот пробел, я хотел бы использовать здесь, в качестве первого приближения, такое хорошо известное физическое явление как адсорбция и вместо неопределенного понятия «связанная вода» использовать понятие «адсорбированная вода».

Преимущество сорбционного подхода к объяснению физической природы водной фазы со сниженной растворяющей способностью состоит в том, что он переводит анализ двухфазных водных систем на язык известных понятий: адсорбент, центры адсорбции, адсорбат, структура поверхности адсорбента, структура адсорбционного слоя, электростатическое взаимодействие, поляризация, полимолекулярная адсорбция (когда предыдущий слой адсорбата является адсорбентом для следующего), кооперативные взаимодействия адсорбата внутри адсорбционного слоя и между слоями (Dash, 1975). Адсорбция воды биополимерами — это

физическое явление, возникающее везде, где есть вода и биополимеры: от растворов в пробирке до клетки.

Вернемся к двухфазной системе лед/вода. В этом случае фазы представляют собой разные агрегатные состояния воды, что делает идентификацию фаз простой задачей. Однако понятие фазы шире: в пределах одного агрегатного состояния могут существовать различные фазы ([Ландау и др., 1969](#), с. 215; Landau et al., 1967, p. 197). Следовательно, и клетка, наряду с другими физическими системами, может быть многофазной.

Какой же компонент определяет фазовое состояние клетки и ее частей? Согласно статистической механике, агрегатное/фазовое состояние системы определяется самой многочисленной частицей, входящей в ее состав. Например, твердое агрегатное состояние воды (лёд) определяет вода, а не примеси. В живой клетке концентрация воды составляет около 44 М. К примеру, содержание воды в икроножной мышце лягушки *Rana temporaria* составляет 84% ([Belton and Packer, 1974](#), Table 2). Если принять, что межклеточное пространство в скелетных мышцах лягушки составляет около 9% от объема мышцы ([Ling and Walton, 1975](#)), то содержание внутриклеточной воды составит 75% и, соответственно, концентрация внутриклеточной воды будет около 42 М.

Сравним теперь это количество воды с количеством белков. Половина белкового состава мышц приходится на миозин, белок с молекулярным весом 500000 дальтон ([Bárány and Bárány, 1977](#)), то есть молекула миозина в 28000 раз тяжелее молекулы воды. Ясно, что молярное отношение миозин/вода будет ничтожным. Молярный вклад других белков в молекулярный пул клетки, кроме миозина, также пренебрежимо мал, поскольку их молекулярный вес тоже несопоставимо больше молекулярного веса воды. Следовательно, фазовые свойства живой клетки определяет именно вода, физическое состояние которой изменяется в результате ее взаимодействия с различными клеточными белками. С физической точки зрения, именно макромолекулы являются адсорбентами воды (ограничивая свободу ее движения) не только в клетке, но и в модельных системах поскольку они обладают развитой молекулярной поверхностью, и делают они это тем эффективнее (в случае линейных полимеров), чем больше их молекулярный вес ([Dobry and Boyer-Kawenoki, 1947](#)). С другой стороны, низкомолекулярные гидрофильные вещества, такие как сахароза, например, не обладают физиологически значимыми фазообразующими свойствами.

Простейшим признаком, по которому две водные фазы могут отличаться друг от друга, является их разная растворяющая способность. Двухфазная система лед/вода является наглядным тому примером: вещество, добавленное в воду, во льду не растворяется. Очевидно, что растворяющая способность воды определяется силой взаимодействий между ее молекулами, в которые водородные связи вносят основной вклад

([Arunan et al., 2011](#)). Для того, чтобы раствориться, молекуле необходимо разорвать определенное количество водородных связей между молекулами растворителя для того, чтобы разместиться в образовавшейся полости. Чем прочнее водородные связи, тем больше энергии необходимо затрачивать на их разрыв, тем хуже растворяющая способность воды. Водородные связи во льду настолько прочные, что его растворяющая способность, по сравнению с жидкой водой, практически равна нулю. На этом различии основан эффект вымораживания: очистка воды, основанная на том, что при образовании кристаллов льда растворенные вещества вытесняются из объема, занятого кристаллом, в жидкую воду.

В настоящей статье представлены данные о фазовой природе живых клеток, свойства которых будут даны в сравнении с соответствующими свойствами модельных систем, как того требует предложенная мною методология протофизиологии ([Matveev, 2017](#)). Для удобства изложения я буду использовать слово «фазер» (от phase maker) для обозначения любой макромолекулы, способной поляризовать воду (см. ниже) и адсорбировать ее с образованием вокруг макромолекулы водной фазы с более прочными водородными связями по сравнению с объемной водой.

3. Экспериментальное обнаружение водных фаз в клетках и клеточных моделях

Теперь зададимся вопросом о том, как экспериментально мы могли бы убедиться в наличии в исследуемой системе фазы воды со сниженной растворяющей способностью? Для этого нам необходим метод, позволяющий непосредственно измерять растворимость веществ в воде. Таким методом является равновесный диализ.

Суть метода: в диализный мешок из мембраны (полученной на основе целлюлозы), проницаемой для всех растворенных веществ, кроме макромолекул, помещают раствор полимера, а в омывающий раствор вносят низкомолекулярное вещество, характер распределения которого необходимо определить. После добавления вещества, между диализным мешком и средой возникают диффузионные потоки исследуемого вещества, воды, ионов и других малых молекул, в результате которых устанавливается диффузионное равновесие всех низкомолекулярных компонентов системы, для которых мембрана проницаема. Если отнести равновесную концентрацию исследуемого вещества в воде диализного мешка к его концентрации в воде среды, то мы получим коэффициент распределения этого вещества в системе вода/вода, который будет количественной мерой различий в растворяющей способности воды диализного мешка и воды вне его. Если коэффициент распределения равен единице, это означает, что физическое состояние воды в обоих ча-

стях системы одинаковое. Если же он меньше единицы, значит, мы имеем дело с двухфазной водной системой, потому что вода в диализном мешке обладает сниженной растворяющей способностью по сравнению с объемной водой среды.

Определение коэффициента распределения вещества в двухфазной системе должно удовлетворять следующим условиям: система находится в состоянии равновесия, растворитель в обеих частях системы насыщен исследуемым веществом, форма исследуемого вещества в обоих растворителях должна быть одинаковой, например, нейтральной. При выполнении этих условий химический потенциал исследуемого вещества будет одинаковым в обеих фазах.

В таблице 1 представлены коэффициенты распределения для 32 незаряженных низкомолекулярных соединений, расположенных в порядке возрастания молекулярной массы. Для сравнения с растворяющей способностью объемной воды исследована вода в следующих системах: (1) растворы полимеров (гемоглобин нативный и денатурированный, желатин, полиэтиленоксид), (2) безмембранные компартменты (коацерватные капли и гранулы ионообменной смолы Dowex 50; по микросферам Фокса данных в литературе нет), и (3) живые клетки — мышечные волокна в составе скелетных мышц двух видов лягушек. По данным табл. 1 построены соответствующие графики (рис. 1).

Table 1. Equilibrium distribution coefficients (q) of solutes between studied systems (solutions of macromolecules, coacervates, living cells), on the one hand, and bathing solution, on the other, depending on their molecular weight. $q = C_d/C_s$, where C_d , concentration of tested solute in dialysis bag (or some another system) calculated per volume of water (mM); C_s , concentration of the same solute in the medium (mM).

Solute	MW	q -Value							
		<i>n</i> -Hem	<i>d</i> -Hem	PEO	Gelatin	Coacervates	Dowex 50	Muscle T	Muscle P
Methanol	32.04	-	-	-	0.94	-	0.61	-	0.91
Ethanol	46.07	-	-	-	0.91	-	-	-	0.81
Acetamide	59.07	-	-	-	-	-	-	-	1
Urea	60.06	-	-	-	-	-	-	-	1.05
Isopropanol	60.1	-	-	-	0.91	-	-	-	-
<i>n</i> -Propanol	60.1	-	-	-	0.93	-	-	-	-
Ethylene glycol	62.07	0.998	0.998	0.949	0.87	-	0.67	-	1.02
<i>n</i> -Butanol	74.12	-	-	-	0.91	-	-	-	-
Tert-Butanol	74.12	-	-	-	0.91	-	-	-	-
1,2-Propanediol	76.09	-	-	-	0.89	-	-	-	0.834
DMSO	78.13	-	-	-	-	-	-	-	0.72
1,2-Butanediol	90.12	-	-	-	-	-	-	-	0.87
2,3-Butanediol	90.12	-	-	-	0.89	-	-	-	-
Glycerol	92.09	0.958	0.887	0.909	0.9	-	0.49	-	1
3-Chloro-1,2-Propanediol	110.54	-	-	-	-	-	-	-	0.893
Pinacol	118.17	-	-	-	0.86	-	-	-	-
Erythritol	122.12	1.053	0.856	0.92	-	-	-	-	0.29
D-Arabinose	150.13	-	-	0.861	-	-	-	-	0.27
D-Ribose	150.13	-	-	-	-	-	-	-	0.26
D-Xylose	150.13	0.98	-	0.864	-	-	-	-	-
L-Arabinose	150.13	-	-	-	-	-	-	0.46	0.27
L-Xylose	150.13	-	-	-	-	-	-	-	0.26
Xylitol	152.15	0.936	0.837	-	-	-	-	-	0.22
D-Fructose	180.16	-	-	-	0.95	-	-	-	-
D-Glucose	180.16	-	-	0.879	0.94	-	0.22	-	0.227
L-Galactose	180.16	-	-	-	-	0.61	-	0.36	-
D-Mannitol	182.17	0.961	-	0.82	-	-	-	-	0.217
D-Sorbitol	182.17	1.035	0.84	-	-	-	-	-	0.227
D-Trehalose	342.3	0.997	0.713	0.87	-	-	-	-	-
Lactose	342.3	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	342.3	0.976	0.627	0.768	0.77	0.60	0.24	0.28	0.132
D-Raffinose	594.51	0.971	0.552	-	0.62	-	-	-	0.1

Обозначения. MW: molecular weight; *n*-Hem: native bovine hemoglobin solution (39%) initially containing 0.4 M NaCl as well as the bathing solution at 25 °C (the same NaCl solution was used in the case of PEO, gelatin and Dowex 50); *d*-Hem: NaOH-denatured bovine hemoglobin (20%), dialysis was carried out in an alkaline solution initially containing 0.4

M NaOH as well as the bathing solution at 25 °C; PEO: poly (ethylene oxide) (15%) at 25 °C; gelatin at 38 °C (18%); coacervates: gelatin-gum arabic complex at 40 °C; Dowex 50: cation (sulfonate) exchange resin, spherical material of 20 to 50 mesh, at 25 °C; Muscle T, frog calf muscle (*Rana temporaria*) at 18-20 °C; Muscle P, frog sartorius muscle (*Rana pipiens*) at 0 °C.

References. Columns from *n*-Hem to Gelatin (Ling and Hu 1988; Ling et al., 1993); Coacervates (Troshin 1966, Table 104); Dowex 50 (Ling, 1965); Muscle T (Troshin, 1966, Table 22, there were taken minimal *q*-values because of data of Fig. 2 and 3); Muscle P (Ling et al., 1993).

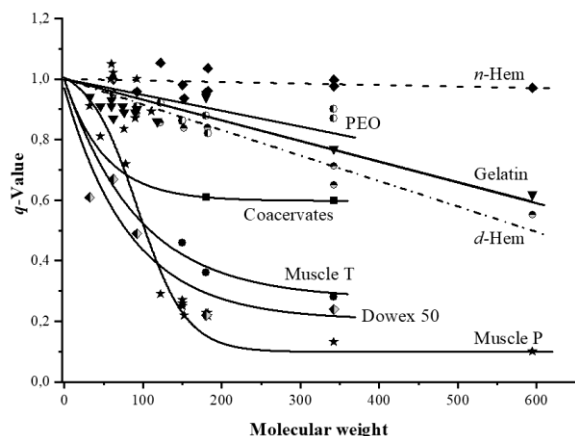


Рис. 1. Зависимость коэффициента равновесного распределения (*q*-Value) различных веществ между водой модельных систем и живых клеток и объемной водой (омывающий раствор) от их молекулярной массы. По данным табл. 1.

Согласно рис. 1, растворяющая способность воды снижена в 7 случаях из 8 представленных, причем, чем больше молекула вещества, тем хуже оно растворяется в воде исследованных систем (явление полупроницаемости). Единственным исключением из этой закономерности является раствор нативного гемоглобина. Сравнение двух препаратов гемоглобина позволит нам понять причины различий между ними.

Нативный гемоглобин — это глобулярный белок, 70% аминокислотных остатков которого включено в α -спирали (Vodrážka et al., 1972). В щелочной среде α -спирали разрушаются (Bhomia et al., 2016) и полипептидный остов гемоглобина становится доступным растворителю. Следовательно, при раскручивании спиралей, количество пептидных связей, доступных воде, возрастет, соответственно увеличится и количество адсорбированной воды. Таким образом, денатурированный гемоглобин имеет большую площадь взаимодействия с водой и поэтому он изменяет физическое состояние большего количества воды, что и делает его фазером.

Данные по растворам полимеров (PEO, денатурированный гемоглобин и желатин) являются прямым экспериментальным свидетельством в пользу важного значения полного контакта полимерной цепи (по всей длине молекулы) с водой для эффективного формирования водной фазы со сниженной растворяющей способностью. Действительно, все атомы кислорода в

PEO, полимера с линейной конформацией, доступны воде (Kjellander and Florin, 1981), а молекулы желатина имеют конформацию случайного клубка, то есть лишены вторичных структур при температурах выше температуры плавления желатинового геля (Guo et al., 2003) и поэтому все пептидные связи этого белка также доступны воде как и пептидные связи денатурированного гемоглобина. Полноразвернутая конформация желатина объясняет и сниженную растворяющую способность воды другой модельной системы, в состав которой он входит, — коацерватных капель, фазовые свойства которых обнаружены при сравнительно высокой температуре (табл. 1).

Еще одним безмембранным компартментом, кроме коацерватов, является насыщенные водой гранулы ионообменной смолы Dowex 50 (рис. 1), имеющие в сухом виде размер 0,3-0,9 мм в диаметре. Эта смола представляет из себя материал из плотно упакованных молекул полистиролсульфоната натрия, сшитого поперечными сшивками в трехмерную сеть макромолекул с большой плотностью фиксированных отрицательных зарядов. Молекулы этого полимера имеют линейную конформацию (Marinsky, 1983), что означает, что все полярные группы смолы Dowex 50 доступны воде.

Таким образом, все модели на основе фазеров, представленные на рис. 1, вне зависимости от того, являются ли они растворами макромолекул (в диализных мешках) или безмембранными коацерватами и гранулами смолы, представляют собой фазы, физическое состояние воды в которых отличается от физического состояния воды в среде. То есть мы имеем дело с двухфазными системами, неравномерное распределение малых молекул в которых обусловлено не свойствами мембраны, а различиями в свойствах воды внутри и вне компартмента.

Согласно принятому критерию, живые клетки также являются фазовыми системами, так как растворяющая способность внутриклеточной воды существенно ниже растворяющей способности физиологического раствора, в котором они находятся (рис. 1). Нетрудно видеть принципиальное сходство фазовых свойств живых клеток и моделей, которое можно объяснить лишь общим физическим механизмом, определяющим неравномерное распределение веществ между живыми и неживыми системами и средой — присутствием воды со сниженной растворяющей способностью.

Если в модельных системах свойства воды изменены фазерами, значит, фазеры должны быть и в жи-

вых клетках. Поскольку белки являются преобладающими макромолекулами мышечной клетки (и живых клеток вообще), внутриклеточные фазеры следует искать прежде всего среди них. Белки-фазеры, как теперь уже ясно, не содержат (в идеале) вторичных структур, а их пептидный остов должен быть доступен воде по всей длине молекулы. Более сложные белки, наряду с фрагментами со свойствами фазеров, могут содержать и вторичные структуры, и глобулярные домены (не обладающие физиологически значимой фазообразующей способностью). Какова бы ни была молекулярная основа белкового фазера (белки с линейной конформацией или внутренне неупорядоченные белки, или внутренне неупорядоченные участки белков), в любом случае функциональные группы их пептидных связей открыты для взаимодействия с молекулами воды. Как будет показано ниже, это взаимодействие поляризует молекулы воды, их дипольный момент возрастает и, как следствие, возрастает сила взаимодействия между молекулами воды (через водородные связи), что приводит к снижению подвижности отдельных молекул растворителя. Эти изменения являются признаками нового физического состояния воды, возникающего под влиянием макромолекулы. Следствием этих изменений является снижение растворяющей способности воды.

Очевидно, что количественные различия между фазовыми системами, представленными на рис. 1, определяются прежде всего (1) химической природой фазеров, (2) физическими свойствами функциональных групп макромолекул, взаимодействующих с водой, (3) пространственным распределением фиксированных зарядов, от которого зависит степень топологического соответствия фиксированных зарядов сетке зарядов адсорбированной воды (например, расстояние между фиксированными зарядами макромолекулы может быть равным или кратным расстоянию между узлами сети водородных связей), (4) расстоянием между макромолекулами, которое зависит от их количества в единице объема. Количественный и даже качественный анализ всех указанных факторов остается во многом нерешенной проблемой физики. Остановимся лишь на некоторых известных закономерностях.

Влияние концентрации полимера на распределение цитрата натрия между двумя фазами воды представлено на рис. 2: с ростом концентрации фазера (по мере сближения макромолекул) растворяющая способность воды снижается. Кроме того, макромолекулы разной химической природы отличаются друг от друга по эффективности взаимодействия с водой. Сравним концентрации полимеров (пересчитанные в мМ), при которой величина $q = 0,4$: PEO — 0,34; PVP — 0,94; желатин — 6,8; PEG — 6,9. Как видим, желатин имеет такую же молярную эффективность, как и PEG, но при этом молекулярная масса белка в 5 раз больше. Значит, цепь аминокислотных остатков данного белка

слабее взаимодействует с водой, чем цепочка мономеров PEG. Способность полимера влиять на свойства воды зависит не только от его химической природы, но и от длины молекулы (рис. 3), вероятно, поэтому самый длинный полимер, PEO, оказался наиболее эффективным фазером из представленных на рис. 2.

Следует принять в расчёт и более сложные физические факторы, которые могут влиять на свойства фазы адсорбированной воды (Ling and Ochsenfeld, 1983): (1) при сближении макромолекул, их водные оболочки могут объединяться, а их общий объем несколько возрастать из-за кооперативного характера взаимодействий молекул воды друг с другом; (2) упорядоченное (параллельное друг другу) расположение макромолекул увеличивает объем адсорбированной воды, а спутанное — уменьшает. Кроме того, (3) чередование положительных и отрицательных зарядов в шахматном порядке, как это имеет место в случае цепочки пептидных связей (группы NH и CO), дополнительно стабилизирует фазу адсорбированной воды, способствуя увеличению объема воды со сниженной растворяющей способностью. Линг (Ling, 1972) обратил внимание на эту важную особенность белков. Благодаря чередованию разных по знаку зарядов, молекула воды, взаимодействующая с NH, обращена к пептидной цепи своим отрицательным полюсом, а соседняя молекула воды, взаимодействующая с CO, обращена к нему положительным полюсом. Таким образом, две соседние молекулы воды ориентированы так, что положительный полюс одной молекулы оказывается рядом с отрицательным полюсом другой. Электростатическое притяжение соседних молекул воды с противоположной ориентацией полюсов вносит дополнительный вклад в стабилизацию слоя воды, удерживаемого полипептидным остовом белка.

Суммируя вклады рассмотренных факторов, приходим к выводу, что чем эффективнее макромолекулы моделей и живых клеток снижают растворяющую способность воды, чем благоприятнее условия для увеличения объема адсорбционной водной фазы, тем ниже расположены кривые на рис. 1. В этом отношении смола Dowex 50 вплотную приблизилась к живым мышцам и поэтому дает общее представление об основополагающих свойствах фазеров живой клетки: в идеале они должны представлять из себя длинную вытянутую молекулу, полностью открытую для взаимодействия с водой, с большой плотностью фиксированных зарядов. Исключенный объем (объем, занятый макромолекулами) не играет в рассмотренных явлениях никакой роли, поскольку данные табл. 1 получены только для воды, сколько бы мало ее ни оставалось в коацервате или в живой клетке.

Поскольку адсорбированная вода обнаруживает себя в экспериментах, длящихся часами и днями, ясно, что какой бы динамичной ни была ее структура, она, несомненно, играет ключевую роль в жизни клетки — разделяет вещества в пространстве. На протяжении

длительного времени фаза адсорбированной воды сохраняет устойчивость, она не растворяется в объемной воде и в этом отношении ее можно сравнить с маслом в водном окружении. Эта качественная аналогия подтверждается количественными данными.

Сравним растворяющую способность спиртовой фазы системы *n*-октанол/вода с растворяющей способностью внутриклеточной воды в двухфазной системе (вода живой мышцы)/(вода физиологического раствора). Для примера возьмем данные для рибозы. Распределение этого сахара в системе *n*-октанол/вода характеризуется величиной $q = 0,0048$ (Leo et al., 1971), а в системе (клеточная вода)/(вода среды) соответствующая величина $q = 0,26$ (табл. 1). Иными словами, спиртовая фаза в 208 раз ($1/q$) хуже растворяет рибозу, чем водная фаза, а внутриклеточная вода растворяет рибозу в 3,8 раза хуже, чем вода среды. Различия, как мы видим, носят количественный характер при одном и том же качественном результате: растворимость рибозы как в спиртовой фазе, так и во внутриклеточной воде ниже, чем в объемной воде. Поскольку октанол является растворителем с выраженными гидрофобными свойствами, то и внутриклеточная вода, следовательно, гидрофобнее омывающего физиологического раствора (аналогия с маслом оправдывается). Относительную гидрофобность внутриклеточной воды можно объяснить тем, что молекулы воды адсорбционного слоя предпочитают взаимодействовать друг с другом, а не с объемной водой (из-за более прочных водородных связей внутри адсорбционного слоя). По этой же причине полипептидная спираль гидрофобнее развернутой конформации (пептидным связям энергетически более выгодно взаимодействие друг с другом, а не с водой).

Не следует упускать из виду, что данные табл. 1 получены прямым методом — непосредственным определением растворимости веществ в воде. Косвенные методы интерпретируют изучаемое явление с помощью математических, физических или компьютерных моделей и поэтому не обладают доказательной силой. Прямые методы непосредственно отражают физическую реальность.

Сравнение полупроницаемости (фундаментального физического свойства) живых клеток и моделей (рис. 1) показывает, что в основе этого свойства лежит общий для живых и неживых систем физический механизм — снижение растворяющей способности воды. Это сходство свидетельствует о том, что первая живая клетка могла унаследовать полупроницаемость от протоклетки.

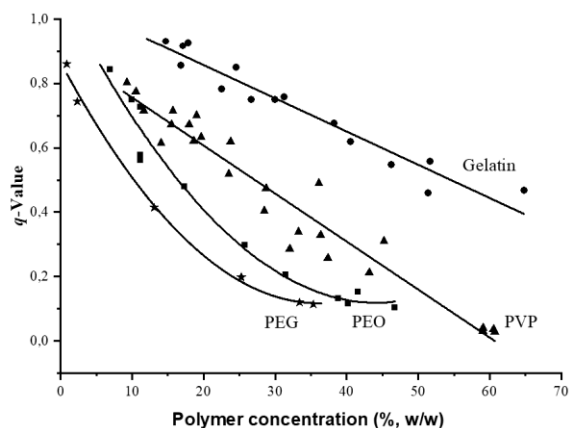


Рис. 2. Equilibrium distribution coefficient (q -Value) of Na citrate between various concentrations of polyethylene glycol (PEG, 25 °C; mol. wt. 20,000), polyethylene oxide (PEO, 25 °C; mol. wt. 600,000), polyvinylpyrrolidone (PVP, 25 °C; mol. wt. 360,000) and gelatin (37 °C; mol. wt. ~95,000) solutions in the bags and in the external solution. (Ling and Ochsenfeld, 1983, Figs. 2, 3, 4, 6, redrawn).

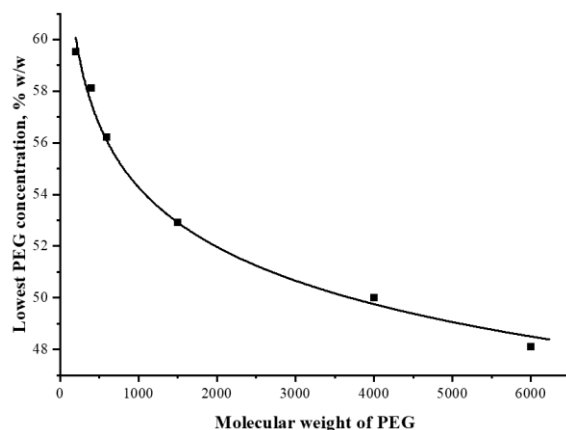


Рис. 3. Lowest polyethylene glycol concentration at which all water is bound versus molecular weight of the polymer (Tilcock and Fisher, 1982, drawn according to data in Table I).

Дополнительные пояснения к табл. 1.

1. Во всех случаях исследование начинали с определения времени наступления диффузионного равновесия. Для разных систем оно колебалось от 5-24 часов до 6 дней. В каждом конкретном эксперименте время инкубации всегда было несколько больше соответствующего времени наступления диффузионного равновесия.
2. Коэффициент распределения вещества (q) определяли не для отдельных концентраций в

исследуемом объекте и среде, а по зависимости концентрации внутри от концентрации снаружи. По наклону линейного участка полученной кривой определяли величину q , которая не зависит от того, какое количество исследуемого вещества было адсорбировано макромолекулами модели или живой клетки (Troshin, 1966, p. 86). То есть величина q является количественной мерой различий только водных фаз.

3. Концентрации полимеров в диализных мешках указаны на момент начала, а не конца, эксперимента. Это допустимо, потому что изменение их объема в процессе установления диффузионного равновесия было незначительным из-за использования небольших концентраций веществ, распределение которых исследовали. По этой же причине изменение объемов других исследованных систем также было пренебрежимо мало.
4. Экспериментаторы учитывали, что произвольное бактериальное заражение растворов могло исказить результаты экспериментов. Однако в большинстве случаев время инкубации исчислялось часами, что было явно недостаточно для заметного развития микрофлоры. В случае икроножной мышцы лягушки бактериальный контроль не обнаружил существенного увеличения численности бактерий в течение 5 часов (стандартное время инкубации). Портняжную мышцу леопардовой лягушки инкубировали в течение 6 дней при 0 °C (неповреждающая температура для этого вида), то есть в условиях, скорее подавляющих развитие обычной микрофлоры.
5. При температуре 0 °C собственный метаболизм мышц леопардовой лягушки (*Rana pipiens*) практически полностью подавлялся. Поэтому и этот фактор не мог исказить результаты экспериментов для тех веществ, которые могли бы подвергнуться метаболическим превращениям. Кроме того, по возможности, использовали вещества, не подвергающиеся метаболизму в силу их химической природы (такие вещества использовали в опытах с мышцами *Rana temporaria*). Качественное сходство данных для обоих видов лягушек указывает на то, что и в случае *Rana pipiens* возможный собственный метаболизм мышц не внес заметных искажений в конечный результат.
6. Исследовали распределение электрически нейтральных молекул, поэтому незначительное изменение распределения ионов, сопутствующее установлению диффузионного равновесия, не могло повлиять на распределение незаряженных молекул.

4. Роль водородных связей в формировании водных фаз

Воспользуемся следующим определением: “Phase is defined as a system or part of a system which is homogeneous and has definite boundaries.” (Adkins, 1983, p.3). (Термодинамическая фаза — гомогенная часть гетерогенной системы, ограниченная поверхностью раздела.) Поскольку мы убедились в том, что вода со сниженной растворяющей способностью является фазой, то она также должна быть ограничена. Очевидно, что с одной стороны она граничит с молекулярной поверхностью фазера, а с другой — с обычной водой.

Представления о том, что вода в живых клетках отличается от обычной воды, сложились еще в XIX веке. С появлением науки о коллоидах интерес к воде в многофазных системах значительно возрос, а несколько позже стали появляться данные о роли связанной воды в функционировании живой клетки. О характере исследований, проводившихся во второй половине прошлого века, в которых особое внимание уделяли связанной воде, можно судить по следующим публикациям: Eisenberg and Kauzmann (1969), Franks (1975), Clegg (1979), Hazlewood (1979), Horowitz and Paine (1979), Trantham et al. (1984), Wheatley (1991), Agutter et al. (2000), Drost-Hansen (2006), Tasaki (2008), Mentré (2012), Trevors and Pollack (2012), Pollack (2013) and Jaeken (2017).

Ключевой вопрос состоит в том, каким образом фазеры влияют на свойства воды? Возможно, одним из первых ответить на этот вопрос попытался Якобсон (Jacobson, 1955): «Если на поверхности макромолекулы имеется много атомов кислорода и азота, причем их расположение идеально соответствует пространственной решетке воды, это производит сильный эффект упорядочивания и создает почти идеальную структуру, где каждая молекула воды соединена с четырьмя другими». Согласно этой догадке, молекулярная поверхность фазера должна обладать следующими особенностями: (1) на ней должны быть фиксированные заряды (в случае белка это атомы азота и кислорода пептидных связей, боковые карбоксильные группы остатков дикарбоновых аминокислот и боковые группы остатков лизина и аргинина, содержащие азот); (2) пространственное расположение зарядов на белке и в сетке водородных связей воды должно определенным образом соответствовать друг другу, чтобы обеспечить эффективное взаимодействие. Более полная картина формирования водной фазы под влиянием белка была предложена Лингом (Ling, 1965, 1972, 2006), однако, несмотря на этот существенный вклад, многие аспекты взаимодействия белков с водой остаются неясными.

Ведущим межмолекулярным взаимодействием, определяющим свойства воды, является электростатическое взаимодействие, которое реализуется в форме водородной связи (Arunan et al., 2011). Чем больше электронная структура молекулы воды отличается от

ее невозмущенного состояния, тем больше ее поляризация, тем больше ее дипольный момент, тем больше энергия водородных связей (это справедливо не только для молекулы в целом, но и для отдельных дипольных групп сложных молекул, например белков).

Дипольный момент молекул не является неизменной величиной, а зависит от электростатических взаимодействий с другими молекулами. Так, при переходе из газообразного в жидкое состояние, в котором молекулы воды начинают взаимодействовать друг с другом, ее дипольный момент возрастает на 57% (с 1,85 до 2,9 D) в результате ее поляризации ([Kemp and Gordon, 2008](#)), но если вода будет взаимодействовать с еще более сильным диполем, чем она сама, то ее дипольный момент станет еще больше и превысит дипольный момент молекул воды в объеме. Например, суммарный дипольный момент атомов пептидной связи равен 3,5 D ([Collins and Leadbeater, 2007](#)), что уже на 20% больше дипольного момента воды в жидком состоянии (2,9 D). Согласно компьютерному моделированию, дипольный момент дипептида аланин-аланин может изменяться уже в пределах от 2,9 до 11,0 D в зависимости от конформации ([Wang and Duan, 2004](#), Table 3).

Приведенные цифры говорят о том, что дипольный момент пептидной цепи может изменяться в широких пределах ([Eckshtain-Levi et al., 2016](#)) и оказывать, следовательно, значительное поляризующее действие на воду. Действительно, дипольный момент воды в адсорбционной фазе по одним оценкам равен 5,8 D, а по другим 10 D. Такое значительное усиление поляризации является результатом действия на воду электрических полей сразу нескольких диполей — от отдельных функциональных групп до суммарного дипольного момента белковой молекулы вместе с оболочкой из связанной воды ([LeBard and Matyushov, 2010](#)). Таким образом, способность фазеров поляризовать воду и увеличивать, соответственно, энергию водородных связей очевидна. Общая, важная для нас закономерность, состоит в том, что при усилении поляризации дипольных молекул энергия водородных связей возрастает ([Xu et al., 2002](#)). Для протоклетки важно и то, что дипольный момент воды и других молекул зависит также от температуры ([Sokhan et al., 2015](#)).

О диапазоне, в котором энергия водородных связей воды может изменяться, говорят следующие данные: удельная теплота парообразования жидкой воды при 0 °C равна 10,7 ккал/моль, а удельная теплота сублимации льда при той же температуре — 12,15 ккал/моль ([Buijs and Choppin, 1963](#)). Если принять, что энергия водородной связи пропорциональна теплоте перехода молекул воды в газообразное состояние, то можно сказать, что вода при 0 °C полностью утрачивает растворяющую способность при увеличении прочности водородной связи всего на 14% (при ее превращении в лёд). Из общих соображений ясно, что изменение растворяющей способности жидкой воды при физиологических условиях будет происходить при еще меньших

изменениях энергии водородной связи. По имеющейся оценке, энергия водородной связи в адсорбционной фазе воды может быть всего на 126 ккал/моль больше, чем в объеме ([Ling et al., 1993](#)). Сколь бы ни была мала эта величина, важно чтобы она была достаточной для физиологически значимых эффектов. Поскольку макромолекулы различаются по количеству, качеству и топологии заряженных групп, они будут формировать вокруг себя адсорбционные водные фазы разной структуры и прочности. Эти различия и есть необходимое и достаточное условие образования в клетке или в протоклетке разных по своим свойствам водных фаз с более прочными водородными связями, чем в объемной воде.

Если молекулярная поверхность фазера поляризует воду, то это неизбежно влечет за собой и упорядочивание ее молекул у этой поверхности. Это объясняется тем, что полярные группы искусственных полимеров, представленных на рис. 1 (PEO и Dowex 50), расположены вдоль полимерной цепи в строго определенном порядке. Следовательно, и взаимодействующие с ними молекулы воды также будут упорядочены в пространстве. Столь же упорядоченной последовательностью диполей является и пептидный остов любого белка.

Если первый адсорбционный слой имеет упорядоченную структуру с положительными и отрицательными зарядами, расположенными в шахматном порядке, то и второй слой будет упорядоченным, как и первый, и послужит, в свою очередь, адсорбентом для третьего слоя. Продолжение послойной ассоциации воды вокруг фазера приведет к возникновению многослойной архитектуры адсорбционной фазы. Поскольку все молекулы воды в этой фазе поляризованы, они будут связаны друг с другом более прочными водородными связями, чем в объеме, что позволит такой фазе устойчиво существовать в окружении объемной воды. Адсорбция воды макромолекулами «слой за слоем» находит признание в литературе ([Merçer et al., 2017](#)). Кооперативная природа водородной связи (Eisenberg and Kauzmann, 1969, p. 257), когда каждая следующая молекула воды несколько усиливает поляризацию молекул ансамбля, также способствует усилению межмолекулярных водородных связей в фазе. Низкая скорость теплового движения массивных макромолекул, по сравнению с легкими, является дополнительным фактором, стабилизирующим адсорбционный слой воды, снижая кинетическую энергию ее молекул.

Фаза с более прочными водородными связями имеет на своей внешней границе поверхностное натяжение, превышающее поверхностное натяжение окружающей водной среды, с которой она граничит. Вследствие этого, такая фаза будет иметь более высокую поверхностную энергию, а минимум удельной поверхностной энергии достигается, как известно, только при сферической форме фазы (пример: капля воды в масле принимает сферическую форму). Связь

между поверхностным натяжением и сферической формой капель в случае водных фаз в литературе известна ([Zwicker et al., 2017](#)). Значит, если в результате взаимодействия макромолекулы с водой из раствора выделяется новая фаза, то это уже само по себе свидетельствует о том, что водородные связи между молекулами воды в новой фазе прочнее, чем в маточном растворе, а форма новой фазы будет приближаться к сферической.

Стремление системы к снижению удельной поверхностной энергии приведет к слиянию водных фаз, если поверхностное натяжение дисперсионной среды меньше (как это происходит с каплями воды в масле). Кроме того, водные фазы с большим поверхностным натяжением будут поглощаться фазами с малым поверхностным натяжением ([Foty and Steinberg, 2005](#)).

Взаимодействие фазеров с другими компонентами среды, кроме воды (например, с фосфатами), может привести к значимым изменениям их сорбционных свойств (например, селективности) и, как результат, к разделению относительно однородной системы на две или несколько несмешивающихся фаз. То есть деление протоклетки под воздействием изменяющихся условий среды можно рассматривать как разделение на фазы. Примерами такого явления могут служить деление микросфер Фокса при изменении pH ([Fox and Yuyama, 1963](#)) или возникновение двух фаз в первоначально однофазной системе при изменении pH и температуры ([Hamzehzadeh and Zafarani-Moattar, 2015](#)).

Принципиально важным для фазовой протоклетки, как колыбели жизни, является способность фазы адсорбированной воды вытеснять любые частицы, не интегрированные в фазу: свободные молекулы воды, молекулы органических веществ, разнообразные ионы, включая H^+ , белки и коллоидные частицы. Из сказанного следует, что фазовая природа адсорбированной воды способна создать концентрационный градиент практически любого вещества, нейтрального или заряженного, путем вытеснения его из фазы. В случае возникновения концентрационных градиентов ионов, между фазой и средой неизбежно возникнет разность потенциалов.

Другой механизм возникновения градиентов — адсорбция веществ на молекулярной поверхности фазера. Если фазер оказывается эффективным адсорбентом для какого-либо компонента раствора и связывает его в физиологически значимых количествах, то такое вещество будет концентрироваться фазером благодаря силам адсорбции. Если таким веществом окажется ион, то это приведет к возникновению соответствующего ионного градиента, а значит и электрического потенциала. Если, например, K^+ будет избирательно адсорбироваться в присутствии Na^+ , то электрический потенциал протоклетки будет калиевым. Способность микросфер Фокса аккумулировать значительные количества K^+ известна ([Ishima et al., 1981](#), Table 1): концентрация этого катиона в микросферах оказывается в 1600 раз больше, чем в среде, откуда он

был захвачен. Однако для протоклетки важна способность аккумулировать K^+ в присутствии Na^+ , который преобладает в морской воде. Поскольку белки живых клеток такой ионной избирательностью обладают ([Edelmann, 2014](#)), то было бы важно найти модель протоклетки с такими же свойствами. Роль адсорбции в функционировании живых клеток и модельных систем изучено русской школой клеточной физиологии ([Трошин, 1956](#); [Troshin, 1966](#)).

Таким образом, одно физическое явление, — адсорбция воды и других физиологически значимых веществ, — объясняет сразу несколько явлений, не связанных, казалось бы, друг с другом: (1) полупроницаемость (причина: растворенное вещество вытесняется из адсорбционной фазы воды тем лучше, чем больше его молекула); (2) способность избирательно накапливать одни вещества и вытеснять другие (причина: селективность центров адсорбции фазера и сниженная растворяющая способность сорбционной фазы воды); (3) способность генерировать электрические потенциалы (причина: формирование концентрационных градиентов ионов в результате селективной адсорбции, с одной стороны, и вытеснения ионов из сорбционной фазы воды, с другой); (4) осмотическая устойчивость (причина: стабильность сорбционной фазы воды в пределах физиологических изменений осмотического давления среды). При изменении сорбционных свойств белкового фазера все перечисленные физические свойства изменяются, естественно, синхронно потому, что все они обусловлены одной причиной — адсорбцией.

Свойства 1-4 являются, как уже отмечалось, фундаментальными физическими свойствами живой клетки. У клеточных моделей они тоже обнаружены: свойства 1, 2 и 4 — у коацерватов ([Трошин, 1956](#); [Troshin, 1966](#)), свойства 2, 3 и 4 — у микросфер ([Fox et al., 1970](#), Fig. 5; [Matveev, 2017](#)). Данные рис. 1 также свидетельствуют о принципиальном сходстве свойства полупроницаемости у моделей и живых клеток. Таким образом, применительно к проблеме происхождения жизни, расширение закона Вирхова можно сформулировать следующим образом: фундаментальные физические свойства живой клетки могли произойти только от фундаментальных физических свойств протоклетки. Однако наши знания о физических свойствах моделей несут фрагментарный характер хотя они необходимы для понимания физических свойств живой клетки и условий ее происхождения.

С точки зрения фазового подхода, элементарной ячейкой живого является молекула фазера белковой природы с адсорбированными на нем водой, ионами и другими веществами (рис. 4). Этот ионо-водо-белковый комплекс можно назвать физиологическим атомом ([Matveev, 2005](#)), нанопротоплазмой ([Ling, 2007](#)) или нанобиофазой как элементарной, далее физиологически неделимой части биофазы — водной фазы на основе полипептидов ([Matveev, 2017](#)). Самосборка

физиологических атомов ведет к образованию протоклетки — колыбели жизни. Любые клеточные структуры (мембраны, органеллы, цитоскелет и т.п.) можно рассматривать как объединение физиологических атомов в физиологические молекулы, различающиеся по структуре и функции. Физиологический атомизм можно рассматривать как расширение биологического атомизма (Nicholson, 2010) на физиологию клетки.

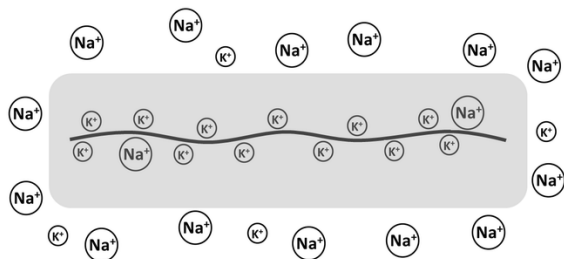


Рис. 4. Схематическое изображение физиологического атома, формирующегося на основе одной молекулы пептида. Вокруг пептида показана водная оболочка (водная фаза), сформировавшаяся на его молекулярной поверхности в результате многослойной адсорбции молекул воды. Кроме воды, внутри физиологического атома удерживаются только вещества, избирательно адсорбированные пептидом (например, K^+ селективно адсорбируются в присутствии Na^+ ; показаны относительные размеры гидратированных катионов), остальные ионы и малые молекулы (не показаны) вытесняются из фазы адсорбированной воды в окружающий раствор. Ансамбли физиологических атомов, формирующиеся благодаря самосборке, образуют биофазы разных размеров, вплоть до протоклетки.

4.1. Черты сходства между протеиноидами и внутренне неупорядоченными белками

Теперь зададимся следующим вопросом: являлись ли первые белки на Земле фазерами или глобулярными белками? Решающее преимущество белков-фазеров состоит в том, что фаза, возникающая в их присутствии, является простейшим компартментом (нужны только пептид и вода). Благодаря связыванию воды, внутри фазы возникает среда, отличающаяся по своим физическим свойствам от внешней среды, а для поддержания этих различий не нужна мембрана со встроенными в нее сложными белками, спонтанное возникновение которых не было продемонстрировано. С другой стороны, абиотическое возникновение коротких пептидов, почти не содержащих вторичных структур, сомнений не вызывает (см. ниже). Образовавшиеся на основе таких пептидов нанобиофазы формируют фазовую протоклетку, которая становится реактором специфических физических и химических

процессов (невозможных вне биофазы), ведущих к зарождению жизни. Для того, чтобы найти новые свидетельства в пользу фазоцентричной гипотезы возникновения жизни, сравним протеиноиды (Fox, 1991) с внутренне неупорядоченными белками (Wright and Dyson, 2015). Оказывается, между этими полимерами есть ряд сходных черт, изучение которых может иметь важное значение для дальнейших поисков истоков жизни.

С точки зрения молекулярного строения, протеиноиды представляют собой главным образом истинные полипептиды (Fox, 1976). Они интересны тем, что получены в условиях, которые, как предполагается, близки к условиям на первобытной Земле, а спонтанно образуемые ими микросферы являются наиболее изученной моделью протоклетки из ряда клеточных моделей, имеющих в литературе. Уже первым исследователям микросфер было очевидно, что эти образования являются фазами (Fox, 1976), так как они не содержат липидов и, соответственно, липидных мембран, но при этом сохраняют целостность.

Основопологающим свойством протеиноидов, оставшимся без внимания, является их самодетерминированный (неслучайный), аминокислотный состав и первичная структура (Fox 1969, 1981, 1985, 1991, 1992; Nakashima et al., 1977; Dose et al., 1982; Varfolomeev, 2007; Mosqueira et al., 2012). Об этом свидетельствуют различия между составом исходных смесей аминокислот и аминокислотным составом протеиноидов, которые получали нагревом этих смесей. Кроме того, частота появления аминокислот на С- и N-концах не была пропорциональна молярной доле данной аминокислоты в реакционной смеси (Dose, 1974). Это означает, что состав протеиноидов не является копией состава реакционной смеси, а первичная структура определяется неизвестными пока свойствами аминокислот и растущего пептида, включающего, по каким-то причинам, в свой состав одни аминокислоты чаще, чем другие. Идея случайного образования полезного для жизни пептида сталкивается с непреодолимыми трудностями. Если бы это было так, то из огромного количества случайных пептидов, образовавшихся на поверхности первобытной Земли, только несколько молекул представляли бы биологическую ценность (Steinman, 1967; Tokuriki and Tawfik, 2009).

Представляется, что механизм самодетерминирования состава и структуры пептидов является одним из фундаментальных физических факторов возникновения жизни, своего рода физическим отбором, предшествовавшим биологическому и, возможно, продолжающим и сегодня играть важную роль в процессах жизнедеятельности.

Важной особенностью протеиноидов является почти полное отсутствие спиральных структур и низкая молекулярная масса (4000-10000 Da) (Dose, 1974). Незначительное количество вторичных структур объясняет низкую активность и специфичность каталитических центров протеиноидов (Dose, 1984; Fox, 1980).

Молекулярная масса большинства протеиноидов, полученных другими авторами, оказалась в пределах до 2000 Da ([Brack, 2007](#)).

Наиболее изученными микросферами являются микросферы из кислых протеиноидов, так как они отличаются наибольшей устойчивостью к изменениям условий среды и выдерживают хранение в течение 6 месяцев ([Kolitz-Domb and Margel, 2015](#)). Значительно меньшей стабильностью отличаются микросферы из основных протеиноидов ([Rohlfing, 1975](#)). Молекулярная масса протеиноидов возрастает в ряду: кислые, нейтральные, основные ([Dose, 1974](#)). Кроме стабильности, кислые протеиноиды придают микросферам потенциальную способность связывать жизненно важные катионы, например, K^+ . Важно отметить, что протеиноиды, не содержащие остатков гидрофобных аминокислот, не образуют микросфер ([Rohlfing, 1975](#)), что указывает на решающую роль гидрофобных взаимодействий в формировании протоклеток.

Согласно данным хроматографического анализа, остатки дикарбоновых аминокислот (аспарагиновой и глутаминовой) являются основными компонентами наиболее изученных кислых протеиноидов ([Fox et al., 1963](#)). Из остальных аминокислот в наибольшем количестве (больше 6 молярных %) в протеиноид включаются лизин и аланин ([Fox, 1976](#)). Согласно другому исследованию, порог в 6% в кислом протеиноиде No. 50 преодолели аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты (54,27%, суммарное содержание обеих аминокислот), и аланин (6,67%). В нейтральном протеиноиде No. 53 суммарное содержание остатков дикарбоновых аминокислот составило 24,17%, а 6%-ный порог преодолели лизин (14,33), глицин (9,41), лейцин (7,88), валин (7,72), аланин (6,34) ([Fox and Waehneltd, 1968](#)). Аминокислотный состав гидролизата кислого протеиноида Prot A7 (в мМ): 95,55, аспарагиновая кислота; 49,59, глутаминовая кислота; 30,43, глицин; 15,5, пролин; 13,4, лейцин; 10,74, аргинин; 4,93, тирозин ([Kumar and Rao, 1998](#)). По своим физическим свойствам, аминокислоты, включающиеся в протеиноиды, распределяются следующим образом: кислотные (Asp, Glu), основные (Arg, Lys), полярные (Tyr), гидрофобные (Ala, Gly, Leu, Pro, Val).

Хотя рассмотренные протеиноиды получены в разных условиях, имеющиеся данные позволяют получить общее представление об аминокислотном составе фазеров этого типа: они являются гидрофильными макромолекулами с большим количеством отрицательных зарядов и бедным аминокислотным составом. К такому результату привел неизвестный пока механизм самодетерминированной полимеризации аминокислот.

Теперь рассмотрим аминокислотный состав пептидов с нативно развернутой конформацией, к которым относятся (1) внутренне неупорядоченные белки и (2) внутренне неупорядоченные участки сложных белков (для простоты изложения я объединю оба случая одним термином: внутренне неупорядоченные

пептидные цепи, ВНПЦ, которые могут быть как отдельной молекулой, так и входить в состав сложных белков).

В литературе прочно утвердилось представление о том, что ВНПЦ богаты заряженными остатками с преобладанием дикарбоновых аминокислот, но имеют бедный аминокислотный состав ([Aguzzi and Altmeyer, 2016](#); [Bergeron-Sandoval et al., 2016](#); [Courchaine et al., 2016](#); [Mitrea and Kriwacki, 2016](#); [Yu et al., 2016](#)). Сходство с протеиноидами очевидно, что дает основание рассматривать протеиноиды в качестве моделей первобытных ВНПЦ, а сами ВНПЦ — в качестве первых белков-фазеров, положивших начало ВНПЦ-микросферам. Остается убедиться в том, что ВНПЦ взаимодействуют с водой, без чего возникновение биофазы невозможно.

4.2. Внутренне неупорядоченные белки как потенциальные фазеры жизни

В последние годы большой интерес вызывают безмембранные клеточные органеллы ([Banani et al., 2017](#)). Как понятно из названия, целостность этих органелл обеспечивается не мембраной, а физическими взаимодействиями, результатом которых является образование фазы, а ВНПЦ признаны принципиальным компонентом этих водных фаз. Однако в этих исследованиях образование фазы не рассматривается как результат изменения физического состояния воды ([Shin and Brangwynne, 2017](#)), тем не менее, данные о взаимодействии воды с ВНПЦ в литературе есть.

Взаимодействие ВНПЦ и глобулярных белков с водой было исследовано различными методами, а полученные результаты сводятся к следующему.

1. ВНПЦ обладают большей способностью связывать воду, чем глобулярные белки ([Bokor et al., 2005](#); [Jose et al., 2014](#)) в том числе и благодаря большому содержанию остатков заряженных аминокислот ([Rani and Biswas, 2015a](#)). Кроме того, молекулярная поверхность, доступная растворителю, у ВНПЦ в несколько раз больше, чем у глобулярных белков ([Schirò et al., 2015](#)). Развернутая полипептидная цепь, полученная в результате денатурации глобулярного белка, взаимодействует с водой также эффективно, как и ВНПЦ ([Mamontov et al., 2010](#)).

2. Подвижность молекул воды в гидратной оболочке вокруг ВНПЦ ниже по сравнению с молекулами воды у поверхности глобулярных белков ([Gallat et al., 2012](#); [Rani and Biswas, 2015b](#)). С увеличением конформационной жесткости ВНПЦ движение молекул воды в гидратной оболочке замедляется ([Gavrilov et al., 2017](#)).

3. Для смещения молекулы воды из занятого ею положения в гидратной оболочке ВНПЦ требуется на 50% больше энергии, чем в случае гидратного слоя вокруг глобулярных белков ([Bokor et al., 2005](#)).

4. Карбоксильные группы в боковых цепях пептидов резко снижают подвижность молекул воды в их гидратной оболочке ([Gavrilov et al., 2017](#)).

5. Средняя плотность воды вокруг ВНПЦ выше, чем в объемной воде ([Rani and Biswas, 2015b](#)). Данные, приведенные в пп. 2-5, свидетельствуют об усилении водородных связей между молекулами воды адсорбционной фазы, о чем свидетельствует и соответствующий теоретический анализ ([Lábas et al., 2017](#)). Повышенная прочность водородных связей обеспечивается двумя факторами: взаимодействием молекул воды с поверхностью белка и между собой ([Song et al., 2014](#)). Это означает, что вода вокруг белка поляризована, имеет увеличенный дипольный момент.

6. Свободная энергия связывания воды больше в случае ВНПЦ по сравнению с глобулярными доменами того же белка ([Awile et al., 2010](#)). Кроме того, показано, что прочность связывания воды с белком убывает в ряду: ВНПЦ – глобулярные белки – мембранные белки ([Gallat et al., 2012](#)), то есть чем больше пептидных связей включено во вторичные структуры, тем меньше гидратной воды адсорбируется белком (в пересчете на одну пептидную связь). Другими словами, при денатурации белковой глобулы (по мере развертывания полипептидной цепи в результате разрушения вторичных структур белка) количество адсорбированной воды и, соответственно, ее объем будут возрастать.

7. Структура воды вокруг ВНПЦ имеет более упорядоченный характер ([Rani and Biswas, 2015b](#)). Впервые доказано, что вода у поверхности криопротекторного белка имеет льдоподобную структуру ([Meister et al., 2014](#)), то есть имеет место некоторое сходство структуры адсорбционной фазы воды с жидкими кристаллами. Криопротекторные белки относят к внутренне неупорядоченным ([Matsuo et al., 2018](#)).

8. Степень упорядоченности воды пропорциональна длине ВНПЦ ([Rani and Biswas, 2015b](#)). Об этой же закономерности свидетельствуют и данные на рис. 3. То есть с увеличением длины ВНПЦ возрастает объем адсорбционной водной фазы, а при увеличении объема становится заметнее, в свою очередь, вклад фактора кооперативности взаимодействий вода-вода ([Dominelli-Whiteley et al., 2017](#)) в структуре адсорбционного слоя.

Таким образом, приведенные данные не оставляют сомнений в том, что ВНПЦ являются эффективными адсорбентами воды в том числе по сравнению с глобулярными белками, что является необходимым условием формирования водных фаз.

Теперь ответим на вопрос о том, сколько слоев воды может содержаться в водной оболочке вокруг ВНПЦ, является ли адсорбционная фаза многослойной?

В результате поляризации молекул воды, индуцируемой полярными группами белка, водная оболочка вокруг инсулина состоит не менее, чем из 5 слоев воды

([Lábas et al., 2017](#)). Поскольку инсулин является глобулярным белком, есть основания ожидать, что водная оболочка вокруг пептидов с развернутой конформацией, лучше взаимодействующих с водой, может содержать больше пяти слоев.

Действительно, толщина водной оболочки вокруг линейных пептидов может быть больше 20 Å ([Gavrilov et al., 2017](#)). Если принять, что толщина одного водного слоя приблизительно равна диаметру молекулы воды, форма которой принята за сферическую (2,8 Å, [D'Arrigo, 1978](#)), то получаем, что 20 Å — это 7 слоев воды. Однако на минеральном сорбенте толщина одного слоя воды определена в 1 Å ([Ganta et al., 2014](#)), что означает, что сферическая форма является грубым приближением, а толщина адсорбционного слоя зависит от ориентации молекул воды по отношению друг к другу и к сорбенту. Поскольку конформация ВНПЦ имеет динамичный характер, то очевидно, что количество слоев воды в адсорбционной фазе может колебаться в широких пределах в зависимости не только от конформации, но и от дипольных моментов отдельных фиксированных зарядов и макромолекулы в целом.

При увеличении концентрации макромолекул, водные оболочки соседних фазеров могут объединяться, и тогда толщина адсорбционной фазы воды составит уже не менее 30-40 Å, а динамика молекул воды, находящихся в щели между двумя макромолекулами, будет на порядок медленнее, чем в объемной воде ([Gavrilov et al., 2017](#)). В случае белка-фазера γ S-кристаллина динамика гидратной воды почти в 2 раза медленнее, чем объемной, и, что примечательно, не зависит от концентрации белка вплоть до 550 мг/мл. Это означает, что свойства воды определяются особенностями ее диффузии вблизи поверхности белка ([Huang et al., 2016](#)), а не механическим захватом воды сеткой белковых молекул, как это обычно понимают в случае гидрогелей.

Гидратный слой вокруг белка (γ S-кристаллина) может быть не только толстым, но и прочным настолько, чтобы препятствовать белок-белковым взаимодействиям ([Gavrilov et al., 2017](#)).

Подсчитано, что по причине близкого расположения белков друг к другу в живых клетках (краудинг), достаточно 5-6 слоёв воды, чтобы 90% воды мышечных волокон лягушки оказалось в связанном состоянии ([Ling et al., 1993](#), р. 201-202). Этот вывод подтверждается современными оценками, согласно которым доля внутренне неупорядоченных белков во всём протеоме составляет около 17%, а у 30-50% остальных белков имеются большие неструктурированные (без вторичных структур) участки ([Finazzi-Agro, 2018](#)). Следовательно, общее количество белков в протеоме, способных эффективно адсорбировать воду, колеблется в пределах 50-70% (17 плюс 30-50). Некоторые итоги развития представлений об адсорбированной воде в живой клетке и о физиологических следствиях ее существования подведены Лингом ([Ling, 2006](#)).

Из приведенных данных следует, что свойства сорбционной фазы воды определяются белком-адсорбентом, его аминокислотным составом и последовательностью аминокислот. Однако в любом случае общей чертой любой сорбционной водной фазы, возникающей на каком-либо адсорбенте, является сетка более прочных водородных связей, благодаря которым она отделяется от объемной воды.

Итак, имеющиеся данные о сходстве протеиноидов и ВНПЦ позволяют предположить, что первые абиогенные пептиды представляли собой ВНПЦ, которые были способны адсорбировать воду и формировать фазовые (безмембранные) компартменты, обладавшие фундаментальными физическими свойствами, необходимыми для зарождения жизни.

В заключение необходимо подчеркнуть, что сорбционную фазу воды не следует представлять себе в качестве жесткой структуры, заданной раз и навсегда. Динамическая природа гидратной воды состоит в том, что время пребывания молекулы воды внутри фазы больше, чем время ее пребывания в объеме немодифицированной воды того же размера ([Rani and Biswas, 2015a](#)). Физиологическое значение будет иметь такое различие в динамике воды (каким бы малым оно ни было), которое приведет к появлению градиентов концентраций растворенных веществ. Разнообразие свойств белков будет соответствовать разнообразию физических свойств сорбционной фазы воды, а влияние на эти свойства лигандов, взаимодействующих с пептидом, заложит основу для формирования сигнальных путей, систем регуляции и адаптивного поведения посредством изменения сорбционных свойств белковых фазеров. С точки зрения такого подхода, сорбционные свойства белка определяют всё многообразие его роли в жизнедеятельности клетки.

5. Внутренне неупорядоченные белки как физическая основа биофазы

Клеточная теория, согласно принятому здесь подходу, предписывает нам искать истоки жизни в промежуточной, клеткоподобной системе, устройство которой, однако, всё еще остается тайной, если смотреть на ее природу с позиций мембраноцентричной модели, принципами которой руководствуются на протяжении уже 140 лет. Действительно, если быть последовательным, то происхождение жизни с позиций такой модели сводится к происхождению живой мембраны со всеми ее каналами, переносчиками и насосами ([Matveev, 2017](#)). Однако происхождение такой мембраны предполагает (1) спонтанное образование тяжелых белков со сложной структурой, способных осуществлять необходимые для жизни функции; (2) спонтанное объединение этих белков и липидов с образованием полнофункциональной мембраны, (3)

спонтанное образование систем, генерирующих энергию, необходимую для работы ряда мембранных механизмов.

Интересно, что на протяжении прошедших десятилетий не было получено ни одного свидетельства в пользу возможности спонтанного возникновения живой мембраны или какого-либо ее компонента (например, Na/K-насоса) даже в идеальных лабораторных условиях. Эту трудность пытались обойти, предположив, что ключевые компоненты полноценной биологической мембраны (придающей протоклетке фундаментальные физические свойства) могут возникнуть не сразу, а поэтапно на минералах или в прудах посредством химической эволюции. Однако такие идеи представляются мало убедительными ([Matveev, 2017](#)). Становится всё более очевидной другая возможность: первые спонтанно возникшие пептиды были короткими, с обедненным аминокислотным составом, а их эволюционное усложнение могло идти только внутри формируемой ими биофазы, в физических условиях, аналогичных физическим условиям в живой клетке.

С позиций фазоцентричного подхода, между протоклеткой и живой клеткой сохраняется преемственность физических свойств, так как в основе организации обеих систем лежит одно и то же, универсальное, явление — адсорбция на молекулярной поверхности пептидов. При этом, единство физических свойств биофазы и живой клетки, их инвариантность, подтверждается существенными экспериментальными данными ([Matveev, 2017](#)), а принцип инвариантности является отличительной чертой фазового подхода к происхождению жизни.

Для возникновения фазовой протоклетки достаточно коротких пептидов, возможность самопроизвольного возникновения которых (до 14 аминокислотных остатков) в абиотических условиях многократно показана ([Yu et al., 2017](#)), однако были сообщения о возможности синтеза пептидов длиной 56 аминокислотных остатков на минеральных поверхностях ([Paecht-Horowitz et al., 1970](#); [Paecht-Horowitz and Eirich, 1988](#)). Имеющиеся данные, включая данные о протеиноидах, свидетельствуют о том, что первые пептиды были небольшими, а именно такие, короткие, пептиды бедны, как известно, вторичными структурами ([Kovacs et al., 2017](#)). Если сопоставить два фактора: ограниченный набор аминокислот (из 10 разновидностей) доступных на первобытной Земле ([Longo et al., 2013](#)) и простоту образования коротких пептидов, то образование значительного количества протопептидов с линейными участками представляется очевидным. Так, в полученных коротких пептидах, содержащих 20–40 аминокислотных остатков, имелись многократно повторяющиеся линейные участки ([Blaber and Lee, 2012](#)). Таким образом, фазовый подход имеет необходимое экспериментальное подтверждение возможности образования коротких пептидов уже на самых начальных этапах химической эволюции.

Среди первых пептидов, кроме ВНПЦ, наверняка были и пептиды с жесткой конформацией, способные играть роль только опорных конструкций, обеспечивающих стабильную архитектуру и целостность протоклетки. Но для того, чтобы внутри протоклетки протекали процессы, необходимые для будущих клеточных функций, необходима способность первобытных пептидов изменять свои сорбционные свойства в ответ на изменение физических и химических условий внешней и внутренней среды. Только в этом случае могут возникнуть предпосылки для формирования и эволюции специализированных структур и соответствующих функций. Подобно фотоэлементу, преобразующему один вид энергии в другой, ВНПЦ преобразуют одни физические взаимодействия в другие (Tompa et al., 2015; Best, 2017). Очевидно, что программа этих преобразований заложена в первичной структуре пептидов, а их биологическим смыслом является такое изменение сорбционных свойств, которое обеспечило бы физиологически значимые потоки веществ из среды в клетку и из клетки в среду в ответ на изменение внешних условий.

Для того, чтобы протоклетка могла сформироваться, фазерам, в том числе ВНПЦ, необходимо объединяться друг с другом. Мы уже убедились в том, что протеиноиды способны формировать весьма прочные микросферы, но, как оказалось, даже очень короткие пептиды (15 остатков) способны взаимодействовать друг с другом с образованием устойчивых агрегатов (Pappu et al., 2008). Итак, способность первых пептидов, включая ВНПЦ, ассоциировать друг с другом с образованием безмембранной фазовой протоклетки выглядит правдоподобно.

С точки зрения сравнительной физиологии протоклетки и живой клетки (Matveev, 2017) ключевыми свойствами ВНПЦ являются (1) конформационная подвижность, способность адсорбировать (2) воду и (3) K^+ (основной катион клетки) в присутствии Na^+ (однако данных о способности ВНПЦ избирательно взаимодействовать с ионами в литературе пока нет). Пептиды с такими свойствами окажутся способными и к другим полезным для жизни взаимодействиям.

6. Функционирование протоклетки как циклический переход между двумя состояниями

Способность ВНПЦ отвечать на слабые воздействия значимыми конформационными изменениями придает протоклетке способность обратимо перестраивать свою структуру. С физиологической точки зрения, представляют интерес два состояния протоклетки: фаза есть и фазы нет (адсорбированная вода есть и адсорбированной воды нет). Отсутствие переходов между этими состояниями будет означать, что протоклетка не способна осуществлять обмен веществ во внутренней среде и с внешним миром. Состояние «фаза есть» представляет собой основное состояние

протоклетки (состояние покоя), потому что только в этом состоянии протоклетка представляет собой компартимент. В этом состоянии протоклетка не обменивается веществом со средой, а внутри нее прекращаются какие-либо структурные изменения. Благодаря этому состоянию живые формы способны переносить почти полное высушивание (споры растений) или оживать после замораживания в жидком азоте. Состояние «фазы нет» открывает возможность для взаимодействий внутри протоклетки и обмена веществ со средой, поэтому его можно назвать активным или возбужденным состоянием (см. ниже). Непрерывные переходы отдельных структур и протоклетки в целом между этими состояниями создают потоки веществ внутри протоклетки и между протоклеткой и средой. Идею физиологической деятельности клетки как результат повторяющегося обратимого перехода между двумя состояниями (покой-активность) предложил Линг (Ling, 1969).

Согласно принятому подходу, в состоянии покоя, протоклетка представляет собой ассоциат физиологических атомов следующего состава: $(ВНПЦ)_1-(H_2O)_n-(K^+)_m$. Если при каком-либо воздействии этот комплекс распадается, то это означает переход физиологических атомов (и протоклетки в целом) в активное состояние, когда происходит резкое изменение сорбционных свойств белков (вода десорбируется, а K^+ обменивается на Na^+). У активированного белка возникают вторичные структуры, благодаря которым значительно возрастает число валентностей для взаимодействия с другими компонентами протоклетки и внешней среды по сравнению с состоянием покоя, что приводит к существенному изменению физических условий в протоклетке (или отдельной ее части) как это происходит и в живой клетке (Matveev, 2010).

К основополагающим физическим свойствам ВНПЦ, определяющим физические свойства протоклетки, относятся, таким образом, способность избирательно адсорбировать жизненно важные компоненты среды (воду, K^+ , аминокислоты, нуклеотиды, сахара, липиды) и способность значительно изменять свои сорбционные свойства (десорбировать воду, обменивать K^+ на Na^+ , одни малые молекулы на другие) в ответ на изменение внешних и внутренних условий.

Динамичный характер межбелковых взаимодействий хорошо виден на примере действия физических и химических факторов на живую клетку, а также при возбуждении (мышцы, например): при увеличении температуры, гидростатического давления, при изменении концентрации химических веществ и рН среды белки агрегируют, коллоидные частицы ядра и цитоплазмы увеличиваются в размере, вязкость цитоплазмы возрастает, равновесное распределение веществ между клеткой и средой изменяется (Matveev, 2005). Если сила воздействия невелика, то указанные изменения обратимы, и клетка возвращается в состояние покоя. Кроме мышечного сокращения, такие изме-

нения могут многократно повторяться и при распространении нервного импульса, который является ярким примером функционирования в форме многократного обратимого перехода между двумя состояниями. Структурные изменения могут происходить и при взаимодействии белковых комплексов разного состава (Matveev, 2000, рис. 2). Обратимые изменения структуры отмечены и у микросфер, моделей протоклетки (Fox and Yuyama, 1964; Fox, 1965), что свидетельствуют о древней природе возбуждения, сопровождающегося образованием временных белковых ассоциатов, без которых невозможно себе представить возникновение в протоклетке структур, исполняющих определенную функцию (Matveev, 2010).

Структуры протоклетки могли испытывать циклические переходы между двумя состояниями при суточных изменениях температуры, в геологических зонах с нестабильным температурным режимом, при частичном высыхании в приливной зоне, при периодических механических воздействиях в зоне прибоя, при суточных или погодных изменениях освещенности. Теория двух состояний открывает интересную перспективу для исследований проблемы происхождения жизни в контексте фазоцентричного подхода.

7. Энергия для протоклетки

Согласно клеточной теории, как я предлагаю ее понимать, источник энергии должен находиться в протоклетке, а не где-то снаружи. С точки зрения фазового подхода, энергия должна генерироваться в результате обратимых изменений сорбционных свойств пептидов, а отбор первобытных пептидов должен был идти в направлении совершенствования этих свойств. Это означает, что чем эффективней адсорбируется вода, ионы калия и другие малые молекулы, необходимые для жизни, тем устойчивее будет фазовая компартиментализация, тем в большей степени физические условия внутри протоклетки будут соответствовать потребностям процессов жизнедеятельности.

Если структура первых пептидов неслучайна (см. выше), то неслучайным будет и взаимодействие пептидов с другими ионами и молекулами, которые могут усиливать или ослаблять их сорбционные свойства. Такого рода взаимодействия — это способ влияния среды на сорбционные свойства пептидов и, через них, на физические свойства протоклеток, а обратимые изменения этих свойств — первая, физическая, форма ответных реакций протоклеток на изменения внешних факторов. Вопрос о том, какое влияние лиганды могут оказывать на белок рассмотрим на примере АТФ.

При связывании АТФ с белками она сообщает макромолекуле значительный отрицательный заряд (Riseman and Kirkwood, 1948), благодаря которому элементы полипептидной цепи будут отталкиваться друг от друга, имеющиеся вторичные структуры будут

исчезать, приближая конформацию белка к линейной конфигурации, а межбелковые взаимодействия станут намного слабее из-за уменьшения числа необходимых для такого взаимодействия вторичных структур. В результате увеличения адсорбционной поверхности для воды, гидрофильность белка возрастет. Например, АТФ способен превращать мутную взвесь коллоидных частиц актомиозина в прозрачный гидрогель (Spicer, 1951), а раствор полилизина в двухфазную систему с выделением коацерватных капель (Nakashima et al., 2018), являющихся водными фазами. Рассмотренное фазообразующее влияние АТФ на белки является результатом не расщепления АТФ, а образования устойчивого комплекса АТФ с белком. Вещества, повышающие растворимость гидрофобных веществ, называются гидротропами, к которым относится и АТФ (Patel et al., 2017). Роль гидротропов в происхождении жизни является увлекательной темой для новых исследований.

Энергию адсорбции АТФ сократительным белком миозином оценивают величиной 12-13 ккал/моль (Wolcott and Boyer, 1974). Адсорбция АТФ, действующая как целостный нерасщепленный анион (Riseman and Kirkwood, 1948; Botts and Morales, 1951), приводит к выделению, как мы видим, значительной энергии. Акт адсорбции любой молекулы, не говоря уже об АТФ с ее значительным зарядом, неизбежно окажет влияние на распределение электронной плотности на молекулярной поверхности белка и, следовательно, изменит силу и избирательность взаимодействия его функциональных групп с другими компонентами раствора (da Silva et al., 2014). По этой причине, энергию адсорбции АТФ нельзя считать результатом одного только ее локального взаимодействия с сайтом связывания на белке, в эту величину (12-13 ккал/моль) внесут вклад изменения всех взаимодействий белка, вызванных его связыванием с АТФ. Калориметр, следовательно, дает нам суммарный тепловой эффект всех взаимодействий в системе АТФ + белок + вода + растворенные вещества. Возникает интересный вопрос: может ли комплекс АТФ-ФА (физиологический атом) служить источником энергии для биологической работы, если его разрушить?

На первый взгляд, свободная энергия такого комплекса находится в минимуме (иначе он не образовался бы самопроизвольно), однако мы знаем примеры, когда преодоление энергетического барьера (являющегося мерой стабильности системы) разрушает молекулу и при этом выделяется много энергии (пример — нитроглицерин). Возможно, разрушение супрамолекулярного комплекса $(\text{ВНПЦ})_1-(\text{H}_2\text{O})_n-(\text{K}^+)_m$, стабилизируемого вторичными, а не ковалентными связями, также может сопровождаться выделением энергии. Энергию активации (и так незначительную в случае нековалентных связей) можно снизить еще больше, если АТФ не отрывать от белка, а каталитически расщеплять ее прямо на сайте связывания. Вода

и K^+ , после расщепления АТФ, десорбируются (в результате ослабления сродства полипептидного остова белка к воде и карбоксильных групп к K^+) и становятся свободными. Кроме того, после сброса водной оболочки может возрасти конформационная подвижность пептида. В результате, мы видим перед собой картину перехода от связывания к освобождению, от порядка к беспорядку. Могут ли подобные структурные трансформации физиологического атома служить источниками энергии для протоклетки?

Кроме трансформации вторичных связей, некоторое количество энергии в состоянии покоя биофазы запасается в форме концентрационных градиентов, возникающих в результате двух процессов: вытеснения одних ионов (прежде всего Na^+ , H^+ , Cl^-) из фазы адсорбированной воды и адсорбции пептидом других (прежде всего K^+). При переходе физиологического атома в активное состояние его сорбционные свойства изменяются, вода и другие адсорбированные компоненты освобождаются, концентрационные градиенты сглаживаются.

Идея о том, что источником свободной энергии для биологической работы служит состояние покоя, формирующееся при ключевой роли АТФ, была предложена Лингом (Ling, 1984, p. 314-315). В целом, эту идею можно охарактеризовать так: несколько физических явлений, в своей совокупности, могут служить источником энергии для жизненных процессов и все они, прямо или косвенно, связаны со способностью белков адсорбировать воду и ионы. Биологическая работа может реализовываться в форме взаимодействия активированных белков друг с другом и в возникновении новых градиентов (например, диффузионных, возникающих непосредственно в момент разрушения физиологического атома). Ферментативное расщепление АТФ приводит к распаду комплекса АТФ-ФА с переходом протоклетки в более низкое энергетическое состояние. Таким образом, источником энергии для протоклетки служит не какая-то конкретная ковалентная макроэнергетическая связь, а система нековалентных физических взаимодействий, что делает этот источник распределенным, не привязанным к одной конкретной связи. Хотелось бы привлечь внимание физиков к такому механизму энергообеспечения. Однако термодинамический анализ этой проблемы встречается со значительными трудностями в случае фаз малого размера (Tovbin, 2017), какими являются физиологический атом и протоклетка.

Интересно, что АТФ является гидрофобной молекулой. Логарифм ее коэффициента распределения в системе октанол/вода равен 1.64 (для сравнения: аналогичная величина для хлороформа равна 1.97) (Leo et al., 1971). Понятно, что гидрофобность АТФ обусловлена остатком аденина. Являясь амфифильной молекулой, АТФ может взаимодействовать с пептидами не только электростатически, но и связываясь с гидрофобными участками макромолекулы, в которых, учи-

тывая конформационную гибкость ВНЩ, могут формироваться временные центры связывания АТФ. Эти же центры, при изменении физических параметров среды, могут трансформироваться в каталитический центр, расщепляющий АТФ. Вероятность такого сценария подтверждается данными о том, что даже очень короткие пептиды могут обладать каталитической активностью (Brack, 2007).

Пример с АТФ показывает, как могут действовать и другие лиганды (например, Ca^{2+}), которые, наряду с АТФ, могут изменять сорбционные свойства пептидов, оказывая влияние на их конформацию и способствуя тонкой настройке макромолекулы. Предшественниками АТФ могут быть и другие гидротропы, но наиболее правдоподобными, вероятно, являются родственные соединения: неорганические и органические фосфаты. Предшественники должны обладать одним обязательным свойством: оказывать на пептид влияние, сходное с АТФ, и сравнительно легко, в физиологических условиях, удаляться из мест связывания, что является, видимо, важным условием выделения свободной энергии и перехода отдельных пептидов, пептидных комплексов и протоклетки в целом в активное состояние.

Если протопептиды были самодетерминированными, то и их способность избирательно адсорбировать необходимые для жизни вещества также не была случайностью. Концентрирование веществ в протоклетке создало условия для первых химических реакций, которые в последствии стали биохимическими, а способность пептидов изменять свои сорбционные свойства в цикле покой-активность-покой не позволял протоклетке застыть в каком-то одном из этих состояний, что было бы равносильно смерти. Циклические изменения физических свойств протоклетки придавали ей динамизм, роль которого в происхождении жизни нам еще предстоит понять.

8. Выводы

Расширение клеточной теории, согласно которому клетка может произойти только от протоклетки с теми же физическими свойствами, позволяет увидеть проблему происхождения жизни под другим углом зрения. Прежде всего возникает вопрос, о каких физических свойствах должна идти речь? Далее, необходимо найти такую модель живой клетки, которая обладала бы теми же физическими свойствами, что и живая клетка.

В центре внимания проблемы происхождения жизни должны быть сорбционные свойства пептидов. Адсорбция выступает в роли универсального физического явления, которое порождает другие физические явления, потенциально важные для зарождения жизни. Физическая модель, в которой одно единственное явление является причиной множества других, по-

тенциально может упростить физический анализ живой клетки и ее происхождения, сводя кажущиеся разнородными явления в один фокус.

Полезно различать два типа фазеров: со стабильной конформацией и с внутренне неупорядоченной структурой. Первые играют роль структурного каркаса будущей живой клетки, а вторые формируют механизмы, необходимые для осуществления жизнедеятельности.

Физическое состояние системы определяет частица, которая представлена в ней в наибольшем числе. Такой частицей в водных фазах является вода.

Формирование водных фаз на основе биологически значимых фазеров является простейшим способом компартиментализации — ключевым условием возникновения жизни. Биофаза, благодаря силам адсорбции, способна: (1) разделять вещества в пространстве; (2) концентрировать вещества; (3) ориентировать вещества; (4) ускорять химические реакции; (5) трансформировать состояние покоя в активное состояние и наоборот; (6) генерировать энергию для биологической работы. Экспериментально доказана возможность спонтанного формирования биофазы в условиях, приближенных к условиям на первобытной Земле. Признание фазы как инструмента компартиментализации означает начало глубоких изменений в понимании физических механизмов разделения веществ внутри клетки и между клеткой и средой: *мембрана перестала рассматриваться в качестве уникальной структуры, без которой компартиментализация невозможна.*

Мишенью естественного отбора являются сорбционные свойства пептидов. Преимущество получает та

биофаза, которая оптимальным образом сочетает эффективную компартиментализацию с возможностью глубокой трансформации структуры и свойств. Обратимые переходы покой—активность придают прото-клетке свойства физиологически значимой физической машины и химического реактора.

Можно отметить следующие актуальные проблемы науки о происхождении жизни с позиций сорбционного подхода.

1. Каковы причины самодетерминирования первичной структуры пептидов?

2. Может ли молекулярная поверхность фазера избирательно адсорбировать одни ионы, аминокислоты и нуклеотиды, и не связывать другие, ненужные для жизни?

3. Каковы особенности равновесного распределения веществ между концентрированными растворами ВНПЦ и омывающим раствором? Как на это распределение влияют молекулярные особенности ВНПЦ, лиганды и физические условия? Результаты таких исследований позволили бы более полно охарактеризовать роль ВНПЦ в живых клетках и в происхождении жизни.

4. Могут ли в биофазе возникнуть условия для синтеза длинных пептидов (необходимых для формирования глобулярных белков) и полинуклеотидов? Этот этап возникновения жизни можно было бы назвать внутрибиофазной химической эволюцией.

5. Могут ли структурные трансформации биофазы быть источником энергии для физических процессов и химических реакций, ведущих к возникновению жизни?

Declaration of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

I am very grateful to Richard Wiggins, Andrey Liashenko, Michael Scherr for their searching, but fruitful, criticism. I also appreciate Timur Kazbekov and Andrey Guschin's assistance in the preparation of this document and to Bernard Delalande for the creative embodiment of the physiological atom in the Graphical Abstract. My special thanks to Denys Wheatley in discussing many of its awkward concepts and quibbles, and has helped present this article in fine idiomatic English. I thank James Clegg for insightful editorial comments. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References (136 items, 108 with doi)

- Adkins, C.J., 1983. Equilibrium Thermodynamics (3rd. edition). Cambridge University Press, Cambridge.
- Agutter, P.S., Malone, P.C., Wheatley, D.N., 2000. Diffusion theory in biology: a relic of mechanistic materialism. *J. Hist. Biol.* 33(1), 71-111. <https://doi.org/10.1023/A:1004745516972>. [PDF]
- Aguzzi, A., Altmeyer, M., 2016. Phase separation: linking cellular compartmentalization to disease. *Trends Cell Biol.* 26(7), 547-558. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.03.004>.

- Arunan, E., Desiraju, G.R., Klein, R.A., Sadlej, J., Scheiner, S., Alkorta, I., Clary, D.C., Crabtree, R.H., Dannenberg, J.J., Hobza, P., Kjaergaard, H.G., Legon, A.C., Mennucci, B., Nesbitt, D.J., 2011. Defining the hydrogen bond: an account (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 83(8), 1619-1636. <https://doi.org/10.1351/PAC-REP-10-01-01>.
- Awile, O., Krisko, A., Sbalzarini, I.F., Zagrovic, B., 2010. Intrinsically disordered regions may lower the hydration free energy in proteins: a case study of nudix hydrolase in the bacterium *Deinococcus radiodurans*. *PLOS Comput. Biol.* 6(7), e1000854. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000854>.
- Banani, S.F., Lee, H.O., Hyman, A.A., Rosen, M.K., 2017. Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 18(5), 285-298. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7>.
- Bárány, K., Bárány, M., 1977. Phosphorylation of the 18,000-dalton light chain of myosin during a single tetanus of frog muscle. *J. Biol. Chem.* 252(14), 4752-4754.
- Belton, P.S., Packer, K.J., 1974. Pulsed NMR studies on water in striated muscle III. The effects of water content. *Biochim. Biophys. Acta* 354(2), 305-314. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(74\)90015-4](https://doi.org/10.1016/0304-4165(74)90015-4).
- Bergeron-Sandoval, L.P., Safaee, N., Michnick, S.W., 2016. Mechanisms and consequences of macromolecular phase separation. *Cell* 165(5), 1067-1079. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.026>.
- Best, R.B., 2017. Computational and theoretical advances in studies of intrinsically disordered proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 42, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2017.01.006>.
- Bhomia, R., Trivedi, V., Coleman, N.J., Mitchel, J.C., 2016. The thermal and storage stability of bovine haemoglobin by ultra violet-visible and circular dichroism spectroscopies. *J. Pharm. Anal.* 6(4), 242-248. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2016.02.004>.
- Blaber, M., Lee, J., 2012. Designing proteins from simple motifs: opportunities in Top-Down Symmetric Deconstruction. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 22(4), 442-450. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2012.05.008>.
- Bokor, M., Csizmók, V., Kovács, D., Bánki, P., Friedrich, P., Tompa, P., Tompa, K., 2005. NMR relaxation studies on the hydrate layer of intrinsically unstructured proteins. *Biophys. J.*, 88(3), 2030-2037. <https://doi.org/10.1529/biophysj.104.051912>.
- Botts, J., Morales, M.F., 1951. The elastic mechanism and hydrogen bonding in actomyosin threads. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 1951, 37(1), 27-55. <https://doi.org/10.1002/jcp.1030370104>.
- Brack, A., 2007. From interstellar amino acids to prebiotic catalytic peptides: a review. *Chem. Biodiv.* 4(4), 665-679. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790057>.
- Buijs, K., Choppin, G.R., 1963. Near-infrared studies of the structure of water. I. Pure water. *J. Chem. Phys.* 39(8), 2035-2041. <https://doi.org/10.1063/1.1734579>.
- Clegg, J.S., 1979. Metabolism and the intracellular environment: the vicinal-water network model. In: Drost-Hansen, W., Clegg, J.S. (Eds.), *Cell-Associated Water*, Academic Press, New York, pp. 363-413. [PDF]
- Collins, J.M., Leadbeater, N.E., 2007. Microwave energy: a versatile tool for the biosciences. *Org. Biomol. Chem.* 5(8), 1141-1150. <https://doi.org/10.1039/B617084F>.
- Courchaine, E.M., Lu, A., Neugebauer, K.M., 2016. Droplet organelles? *EMBO J.* 35, 1603-1612. <https://doi.org/10.15252/embj.201593517>.
- Da Silva, F.L.B., Boström, M., Persson, C., 2014. Effect of charge regulation and ion-dipole interactions on the selectivity of protein-nanoparticle binding. *Langmuir* 30(14), 4078-4083. <https://doi.org/10.1021/la500027f>.
- D'Arrigo, J.S., 1978. Screening of membrane surface charges by divalent cations: an atomic representation. *Am. J. Physiol.* 235(3), C109-117. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1978.235.3.C109>.
- Dash, J.G., 1975. *Films on Solid Surfaces: the Physics and Chemistry of Physical Adsorption*, Academic Press, New York.
- Deamer, D., 2016. Membranes and the origin of life: a century of conjecture. *J. Mol. Evol.* 83(5-6), 159-168. <https://doi.org/10.1007/s00239-016-9770-8>.
- Dobry, A., Boyer-Kawenoki, F., 1947. Phase separation in polymer solution. *J. Polym. Sci.* 2(1), 90-100. <https://doi.org/10.1002/pol.1947.120020111>.
- Dominelli-Whiteley, N., Brown, J.J., Muchowska, K.B., Mati, I.K., Adam, C., Hubbard, T.A., Elmi, A., Brown, A.J., Bell, I.A.W., Cockroft, S.L., 2017. Strong short-range cooperativity in hydrogen-bond chains. *Angew. Chem., Int. Ed.* 56(26), 7658-7662. <https://doi.org/10.1002/anie.201703757>.
- Dose, K., 1974. Chemical and catalytical properties of thermal polymers of amino acids (proteinoids). *Orig. Life* 5(1-2), 239-252. <https://doi.org/10.1007/BF00927028>.
- Dose, K., 1984. Self-instructed condensation of amino acids and the origin of biological information. *Proc. Int. Symp. Q. Biol. Q. Pharm.* 26(S11), 91-101. <https://doi.org/10.1002/qua.560260712>.
- Dose, K., Hartmann, J., Brand, M.C., 1982. Formation of specific amino acid sequences during carbodiimide-mediated condensation of amino acids in aqueous solution. *BioSystems* 15(3), 195-200. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(82\)90004-1](https://doi.org/10.1016/0303-2647(82)90004-1).

- Drost-Hansen, W., 2006. Vicinal hydration of biopolymers: cell biological consequences. In: Pollack, G.H., Cameron, I.L., Wheatley, D.N. (Eds.), *Water and the Cell*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 175-218. https://doi.org/10.1007/1-4020-4927-7_9. [PDF]
- Eckshatn-Levi, M., Capua, E., Refaely-Abramson, S., Sarkar, S., Gavrilov, Y., Mathew, S.P., Paltiel, Y., Levy, Y., Kronik, L., Naaman, R., 2016. Cold denaturation induces inversion of dipole and spin transfer in chiral peptide monolayers. *Nat. Commun.* 7, 10744. <https://doi.org/10.1038/ncomms10744>.
- Edelmann, L., 2014. The physical state of potassium in frog skeletal muscle studied by ion-sensitive microelectrodes and by electron microscopy: interpretation of seemingly incompatible results. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 43(1), 75-92. [HTM] [PDF]
- Eisenberg, D., Kauzmann, W., 1969. *The Structure and Properties of Water*, Clarendon Press, Oxford.
- Ernst, E., 1963. *Biophysics of Striated Muscles*. Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest. [ResearchGate]
- Finazzi-Agro, A., 2018. Prote-ins. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 65, 5-6. <https://doi.org/10.1002/bab.1639>.
- Foty, R.A., Steinberg, M.S., 2005. The differential adhesion hypothesis: a direct evaluation. *Dev. Biol.* 278(1), 255-263. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.11.012>.
- Fox, S.W., 1965. A theory of macromolecular and cellular origins. *Nature* 205(4969), 328-340. <https://doi.org/10.1038/205328a0>.
- Fox, S.W., 1969. Self-ordered polymers and propagative cell-like systems. *Naturwissenschaften* 56(1), 1-9. <https://doi.org/10.1007/BF00599584>.
- Fox, S.W., 1976. The evolutionary significance of phase-separated microsystems. *Origin Life Evol. Biosphere* 7(1), 49-68. <https://doi.org/10.1007/BF01218513>.
- Fox, S.W., 1980. Metabolic microspheres. Origin and evolution. *Naturwissenschaften* 67(8), 378-383. <https://doi.org/10.1007/BF00405480>.
- Fox, S.W., 1981. Copolyamino acid fractionation and protobiochemistry. *J. Chromatogr.* 215, 115-120. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)81392-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)81392-8).
- Fox, S.W., 1985. Physical principles and proteinoid experiments in the emergence of life. In: Mints, S.L., Perlmutter, A. (Eds.), *Information Processing in Biological Systems*. Springer, Boston, MA, pp. 69-91. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2515-4_4.
- Fox, S.W., 1991. Synthesis of life in the lab? Defining a protoliving system. *Q. Rev. Biol.* 66(2), 181-185. <https://doi.org/10.1086/417144>.
- Fox, S.W., 1992. Thermal proteins in the first life and in the “mind-body” problem. In: Haefner, K. (Ed.), *Evolution of Information Processing Systems*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 203-228. https://doi.org/10.1007/978-3-642-77211-5_12.
- Fox, S.W., Waehnelde, T.V., 1968. The thermal synthesis of neutral and basic proteinoids. *Bioch. Biophys. Acta* 160(2), 246-249. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(68\)90093-7](https://doi.org/10.1016/0005-2795(68)90093-7).
- Fox, S.W., Yuyama, S., 1963. Abiotic production of primitive protein and formed microparticles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 108(1), 487-494. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1963.tb13404.x>.
- Fox, S.W., Yuyama, S., 1964. Dynamic phenomena in microspheres from thermal proteinoid. *Comp. Biochem. Physiol.* 11(3), 317-321. [https://doi.org/10.1016/0010-406X\(64\)90113-6](https://doi.org/10.1016/0010-406X(64)90113-6).
- Fox, S.W., Harada, K., Kendrick, J., 1959. Production of spherules from synthetic proteinoid and hot water. *Science* 129(3357), 1221-1223. <https://doi.org/10.1126/science.129.3357.1221-a>.
- Fox, S.W., Harada, K., Woods, K.R., Windsor, C.R., 1963. Amino acid compositions of proteinoids. *Arch. Biochem. Biophys.* 102(3), 439-445. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(63\)90252-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(63)90252-2).
- Fox, S.W., McCauley, R.J., Montgomery, P.O'B., Fukushima, T., Harada, K., Windsor, C.R., 1970. Membrane-like properties in microsystems assembled from synthetic protein-like polymer. In: Snell F., Wolken J., Iversen G. and Lam J. (eds.), *Physical Principles of Biological Membranes*. Gordon and Breach, New York, pp. 417-430. [PDF]
- Franks, F., 1975. *Water, a Comprehensive Treatise*, vol. 4. *Aqueous Solutions of Amphiphiles and Macromolecules*. Plenum Press, New York.
- Gallat, F.-X. Laganowsky, A., Wood, K., Gabel, F. van Eijck, L., Wuttke, J., Moulin, M. Haürtlein, M., Eisenberg, D., Colletier, J.-P., Zaccai, G. and Weik, M., 2012. Dynamical coupling of intrinsically disordered proteins and their hydration water: comparison with folded soluble and membrane proteins. *Biophys. J.*, 103(1), 129-136. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.05.027>.
- Ganta, D., Dale, E.B., Rosenberger, A.T., 2014. Measuring sub-nm adsorbed water layer thickness and desorption rate using a fused-silica whispering-gallery microresonator. *Meas. Sci. Technol.* 25(5), 055206. <https://doi.org/10.1088/0957-0233/25/5/055206>.
- Gavrilov, Y., Leuchter, J.D., Levy, Y., 2017. On the coupling between the dynamics of protein and water. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19(12), 8243-8257. <https://doi.org/10.1039/C6CP07669F>.
- Guo, L., Colby, R.H., Lusignan, C.P., Whitesides, T.H., 2003. Kinetics of triple helix formation in semidilute gelatin solutions. *Macromolecules* 36(26), 9999-10008. <https://doi.org/10.1021/ma034264s>.

- Hamzehzadeh, S., Zafarani-Moattar, M.T., 2015. Phase separation in aqueous solutions of polypropylene glycol and sodium citrate: effects of temperature and pH. *Fluid Phase Equilib.* 385, 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.10.045>.
- Hazlewood, C.F. (1979). A view of the significance and understanding of the physical properties of cell-associated water. In: Drost-Hansen, W., Clegg, J.S. (Eds.), *Cell-Associated Water*. Academic Press, New York, pp. 165-259. [PDF] [Book]
- Horowitz, S.B., Paine, P.L., 1979. Reference phase analysis of free and bound intracellular solutes. II. Isothermal and isotopic studies of cytoplasmic sodium, potassium, and water. *Biophys. J.* 25(1), 45-62. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(79\)85277-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(79)85277-7).
- Huang, K.Y., Kingsley, C.N., Sheil, R., Cheng, C.Y., Bierma, J.C., Roskamp, K.W., Khago, D., Martin, R.W., Han, S., 2016. Stability of protein-specific hydration shell on crowding. *J. Am. Chem. Soc.* 138(16), 5392-5402. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b01989>.
- Ishima, Y., Przybylski, A.T., Fox, S.W., 1981. Electrical membrane phenomena in spherules from proteinoid and lecithin. *BioSystems* 13(4), 243-251. [https://doi.org/10.1016/0303-2647\(81\)90004-6](https://doi.org/10.1016/0303-2647(81)90004-6). [PDF]
- Jacobson, B., 1955. On the interpretation of dielectric constants of aqueous macromolecular solutions. Hydration of macromolecules. *J. Am. Chem. Soc.* 77(11), 2919-2926. <https://doi.org/10.1021/ja01616a001>.
- Jaeken, L., 2017. The neglected functions of intrinsically disordered proteins and the origin of life. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 126, 31-46. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.03.002>. [PDF]
- Jose, J.C., Khatua, P., Bansal, N., Sengupta, N., Bandyopadhyay, S., 2014. Microscopic hydration properties of the A β ₁₋₄₂ peptide monomer and the globular protein ubiquitin: a comparative molecular dynamics study. *J. Phys. Chem. B* 118(40), 11591-11604. <https://doi.org/10.1021/jp505629q>.
- Kemp, D.D., 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(22), 4885-4894. <https://doi.org/10.1021/jp801921f>.
- Kjellander, R., Florin, E., 1981. Water structure and changes in thermal stability of the system poly (ethylene oxide)-water. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 77(9), 2053-2077. <https://doi.org/10.1039/F19817702053>.
- Kolitz-Domb, M., Margel, S., 2015. Engineering of novel proteinoids and PLLA-proteinoid polymers of narrow size distribution and uniform nano/micro-hollow particles for biomedical applications. In: Serra P.A. (Ed.), *Advances in Bioengineering*, pp. 49-77. <https://doi.org/10.5772/59626>.
- Kovacs, N.A., Petrov, A.S., Lanier, K.A., Williams, L.D., 2017. Frozen in time: the history of proteins. *Mol. Biol. Evol.* 34(5), 1252-1260. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx086>.
- Kumar, A.M., Rao, K.P., 1998. Preparation and characterization of pH-sensitive proteinoid microspheres for the oral delivery of methotrexate. *Biomaterials* 19(7-9), 725-732. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(97\)00188-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(97)00188-9).
- Lábas, A., Bakó, I., Oláh, J., 2017. Hydration sphere structure of proteins: a theoretical study. *J. Mol. Liq.* 238, 462-469. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.05.038>.
- Landau, L.D., Akhiezer, A.I., Lifshitz, E.M., 1967. *General Physics: Mechanics and Molecular Physics*. Pergamon Press, Oxford.
- LeBard, D.N., Matyushov, D.V., 2010. Ferroelectric hydration shells around proteins: electrostatics of the protein-water interface. *J. Phys. Chem. B* 114(28), 9246-9258. <https://doi.org/10.1021/jp1006999>.
- Leo, A., Hansch, C., Elkins, D., 1971. Partition coefficients and their uses. *Chem. Rev.* 71(6), 525-616. <https://doi.org/10.1021/cr60274a001>. [PDF]
- Ling, G.N., 1962. *A Physical Theory of the Living State: the Association-Induction Hypothesis*. Blaisdell Publ. Co., New York, London. [PDF]
- Ling, G.N., 1965. The physical state of water in living cell and model systems. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 125(2), 401-417. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1965.tb45406.x>. [PDF]
- Ling, G.N., 1969. A new model for the living cell: a summary of the theory and recent experimental evidence in its support. *Intern. Review Cytology* 26, 1-61. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61633-2](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61633-2). [PDF]
- Ling, G.N., 1972. Hydration of macromolecules. In: Horne, R.A. (ed.), *Water and Aqueous Solutions. Structure, Thermodynamics, and Transport Processes*. Wiley-Interscience, New York, pp. 663-700. [PDF]
- Ling, G.N., 1984. *In Search of the Physical Basis of Life*. Plenum Press, New York. [PDF]
- Ling, G.N., 2006. A convergence of experimental and theoretical breakthroughs affirms the PM theory of dynamically structured cell water at the theory's 40th birthday. In: Pollack, G.H., Cameron, I.L., Wheatley, D.N. (Eds.), *Water and the Cell*. Springer Verlag, Berlin, New York, pp. 1-52. https://doi.org/10.1007/1-4020-4927-7_1. [PDF]
- Ling, G.N., 2007. History of the membrane (pump) theory of the living cell from its beginning in mid-19th century to its disproof 45 years ago — though still taught worldwide today as established truth. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 39(1), 1-67. [PDF]
- Ling, G.N., Hu, W., 1988. 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* 20(4), 293-307. [PDF]

- Ling, G.N., Ochsenfeld, M.M., 1983. Studies on the physical state of water in living cells and model systems. I. The quantitative relationship between the concentration of gelatin and certain oxygen-containing polymers and their influence upon the solubility of water for Na⁺ salts. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 15(2), 127-136. [PDF]
- Ling, G.N., Walton, C.L., 1975. A simple rapid method for the quantitative separation of the extracellular fluid in frog muscles. *Physiol. Chem. Phys.* 7(2), 215-218. [PDF]
- Ling, G.N., Niu, Z., Ochsenfeld, M., 1993. Predictions of polarized multilayer theory of solute distribution confirmed from a study of the equilibrium distribution in frog muscle of twenty-one nonelectrolytes including five cryoprotectants. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 25(3), 177-208. [PDF]
- Longo, L.M., Lee, J., Blaber, M., 2013. Simplified protein design biased for prebiotic amino acids yields a foldable, halophilic protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110(6), 2135-2139. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219530110>.
- Mamontov, E., O'Neill, H., Zhang, Q., 2010. Mean-squared atomic displacements in hydrated lysozyme, native and denatured. *J. Biol. Phys.* 36(3), 291-297. <https://doi.org/10.1007/s10867-009-9184-6>.
- Marinsky, J.A., 1983. Selectivity and ion speciation in cation-exchange resins. In: Liberti, L., Helfferich F.G. (Eds.), *Mass Transfer and Kinetics of Ion Exchange*. NATO ASI Series, Serie E, Applied Sciences, No. 71, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, The Netherlands, pp. 75-120. https://doi.org/10.1007/978-94-009-6899-8_4.
- Matsuo, N., Goda, N., Shimizu, K., Fukuchi, S., Ota, M., Hiroaki, H., 2018. Discovery of cryoprotective activity in human genome-derived intrinsically disordered proteins. *Int. J. Mol. Sci.* 19(2), 401. <https://doi.org/10.3390/ijms19020401>.
- Matveev, V.V., 2000. Evidence of a new type of protein-protein interaction: desensitized actomyosin blocks Ca²⁺-sensitivity of the natural one. A possible model for an intracellular signalling system related to actin filaments. *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR* 32(2), 167-178. [PDF]
- Matveev, V.V., 2005. Protoreaction of protoplasm. *Cell. Mol. Biol.* 51(8), 715-723. [PDF]
- 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(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-7-19>. [PDF] [PDF Rus]
- Matveev, V.V., 2017. Comparison of fundamental physical properties of the model cells (protocells) and the living cells reveals the need in protophysiology. *Int. J. Astrobiol.* 16(1), 97-104. <https://doi.org/10.1017/S1473550415000476>. [PDF] [PDF Rus]
- Meister, K., Strazdaite, S., DeVries, A.L., Lotze, S., Olijve, L.L., Voets, I.K., Bakker, H.J., 2014. Observation of ice-like water layers at an aqueous protein surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111(50), 17732-17736. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414188111>.
- Mentré, P., 2012. Water in the orchestration of the cell machinery. Some misunderstandings: a short review. *J. Biol. Phys.* 38(1), 13-26. <https://doi.org/10.1007/s10867-011-9225-9>. [PDF]
- Meriçer, Ç., Minelli, M., Baschetti, M.G., Lindström, T., 2017. Water sorption in microfibrillated cellulose (MFC): the effect of temperature and pretreatment. *Carbohydr. Polym.* 174, 1201-1212. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.023>.
- Mitreá, D.M., Kriwacki, R.W., 2016. Phase separation in biology; functional organization of a higher order. *Cell Commun. Signal.* 14(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12964-015-0125-7>.
- Mosqueira, F.G., Negrón-Mendoza, A., Ramos-Bernal, S., Polanco-Gonzalez, C., 2012. Prebiotic formation of peptides: a Markov chain approach. In: Seckbach J. (Ed.), *Genesis — In The Beginning: Precursors of Life, Chemical Models and Early Biological Evolution*. Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London, pp. 159-169. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2941-4_9.
- Nakashima, K.K., Baaij, J.F., Spruijt, E., 2018. Reversible generation of coacervate droplets in an enzymatic network. *Soft Matter* 14(3), 361-367. <https://doi.org/10.1039/C7SM01897E>.
- Nakashima, T., Jungck, J. R., Fox, S.W., Lederer, E., Das, B.C., 1977. A test for randomness in peptides isolated from a thermal polyamino acid. *Int. J. Quantum Chem.* 12(S4), 65-72. <https://doi.org/10.1002/qua.560120708>.
- Nasonov, D.N., 1962. *Local Reactions of Protoplasm and Gradual Excitation*. US National Science Foundation, Washington, DC. [PDF Eng] [PDF Rus] [PDF Chinese]
- Nicholson, D.J., 2010. Biological atomism and cell theory. *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 41(3), 202-211. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2010.07.009>.
- Nicolson, G.L., 2014. The Fluid-Mosaic Model of Membrane Structure: still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years. *Biochim. Biophys. Acta* 1838(6), 1451-1466. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.10.019>.
- Paecht-Horowitz, M., Eirich, F.R., 1988. The polymerization of amino acid adenylates on sodium-montmorillonite with preadsorbed polypeptides. *Origin Life Evol. Biosphere* 18(4), 359-387. <https://doi.org/10.1007/BF01808216>.
- Paecht-Horowitz, M., Berger, J., Katchalsky, A., 1970. Prebiotic synthesis of polypeptides by heterogeneous polycondensation of amino-acid adenylates. *Nature* 228(5272), 636-639. <https://doi.org/10.1038/228636a0>.
- Pappu, R.V., Wang, X., Vitalis, A., Crick, S.L., 2008. A polymer physics perspective on driving forces and mechanisms for protein aggregation. *Arch. Biochem. Biophys.* 469(1), 132-141. <https://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2007.08.033>.

- Patel, A., Malinowska, L., Saha, S., Wang, J., Alberti, S., Krishnan, Y., Hyman, A.A., 2017. ATP as a biological hydrotrope. *Science* 356(6339), 753-756. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6846>
- Pollack, G.H., 2013. The fourth phase of water: beyond solid, liquid, and vapor. Ebner and Sons Publishers, Seattle, WA, USA.
- Rani, P., Biswas, P., 2015a. Diffusion of hydration water around intrinsically disordered proteins. *J. Phys. Chem. B* 119, 13262-13270. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b07248>
- Rani, P., Biswas, P., 2015b. Local structure and dynamics of hydration water in intrinsically disordered proteins. *J. Phys. Chem. B* 119, 10858-10867. <https://doi.org/10.1021/jp511961c>
- Riseman, J., Kirkwood, J.G., 1948. Remarks on the physico-chemical mechanism of muscular contraction and relaxation. *J. Am. Chem. Soc.* 70(8), 2820-2822. <https://doi.org/10.1021/ja01188a515>
- Rohlfing, D.L., 1975. Coacervate-like microspheres from lysine-rich proteinoid. *Origin Life Evol. Biosphere* 6(1), 203-209. <https://doi.org/10.1007/BF01372406>.
- Schirò, G., Fichou, Y., Gallat, F.X., Wood, K., Gabel, F., Moulin, M., Härtle, M., Heyden, M., Colletier, J.P., Orecchini, A., Paciaroni, A., Wuttke, J., Tobias, D.J., Weik, M., 2015. Translational diffusion of hydration water correlates with functional motions in folded and intrinsically disordered proteins. *Nat. Commun.* 6, 6490. <https://doi.org/10.1038/ncomms7490>.
- Sekereš, J., Žárský, V., 2018. 180 years of the cell: from Matthias Jakob Schleiden to the cell biology of the twenty-first century. In: Sahi, V.P., Baluška, F. (Eds.), *Concepts in Cell Biology — History and Evolution*. Springer, Heidelberg, pp. 7-37. https://doi.org/10.1007/978-3-319-69944-8_2.
- Shin, Y., Brangwynne, C.P., 2017. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science* 357(6357), eaaf4382. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4382>.
- Sokhan, V.P., Jones, A., Cipcigan, F.S., Crain, J., Martyna, G.J., 2015. Molecular-scale remnants of the liquid-gas transition in supercritical polar fluids. *Phys. Rev. Lett.* 115(11), 117801. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.115.117801>.
- Song, J., Allison, B., Han, S., 2014. Local water diffusivity as a molecular probe of surface hydrophilicity. *MRS Bull.* 39(12), 1082-1088. <https://doi.org/10.1557/mrs.2014.254>.
- Spicer, S.S., 1951. Gel formation caused by adenosinetriphosphate in actomyosin solutions. *J. Biol. Chem.* 190(1), 257-267.
- Steinman, G., 1967. Sequence generation in prebiological peptide synthesis. *Arch. Biochem. Biophys.* 119, 76-82. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90431-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90431-6).
- Tasaki, I., 2008. On the reversible abrupt structural changes in nerve fibers underlying their excitation and conduction processes. In: Pollack, G.H., Chin, W.-C. (Eds.), *Phase Transitions in Cell Biology*. Springer Science + Business Media B.V., Dordrecht, The Netherlands, pp. 1-21. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8651-9_1. [PDF]
- Tilcock, C.P., Fisher, D., 1982. The interaction of phospholipid membranes with poly (ethylene glycol). Vesicle aggregation and lipid exchange. *Biochim. Biophys. Acta* 688(2), 645-652. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(82\)90375-3](https://doi.org/10.1016/0005-2736(82)90375-3).
- Tokuriki, N., Tawfik, D.S., 2009. Protein dynamism and evolvability. *Science* 324(5924), 203-207. <https://doi.org/10.1126/science.1169375>.
- Tompa, P., Schad, E., Tantos, A., Kalmar, L., 2015. Intrinsically disordered proteins: emerging interaction specialists. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 35, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.08.009>.
- Tovbin, Y.K., 2017. *The Molecular Theory of Adsorption in Porous Solids*. CRC Press, New York.
- Trantham, E.C., Rorschach, H., Clegg, J.S., Hazlewood, C.F., Nicklow, R.M., Wakabayashi, N., 1984. Diffusive properties of water in *Artemia* cysts as determined from quasi-elastic neutron scattering spectra. *Biophys. J.* 45(5), 927-938. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(84\)84239-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(84)84239-3).
- Trevors, J.T., Pollack, G.H., 2012. Origin of microbial life hypothesis: A gel cytoplasm lacking a bilayer membrane, with infrared radiation producing exclusion zone (EZ) water, hydrogen as an energy source and thermosynthesis for bioenergetics. *Biochimie* 94, 258-262. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.10.002>. [PDF]
- Troshin, A.S., 1966. *Problems of Cell Permeability*. Pergamon Press, Oxford. [PDF Eng] [PDF rus]
- Varfolomeev, S.D., 2007. Kinetic models of the prebiological evolution of macromolecules: thermocycle as the motive force of the process. *Mendeleev Commun.* 17(1), 7-9. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2007.01.003>.
- Vekilov, P.G., 2011. Nucleation of protein condensed phases. *Rev. Chem. Eng.* 27(1-2), 1-13. <https://doi.org/10.1515/revce.2011.003>.
- Vodrážka, Z., Hrkal, Z., Koldíček, M.B., Jandová, D., 1972. Comparison of the conformation of mammalian globins in solution. *Eur. J. Biochem.* 31(2), 296-299. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1972.tb02532.x>.
- Wang, Z.X., Duan, Y., 2004. Solvation effects on alanine dipeptide: a MP2/cc-pVTZ//MP2/6-31G** study of (Φ , Ψ) energy maps and conformers in the gas phase, ether, and water. *J. Comput. Chem.* 25(14), 1699-1716. <https://doi.org/10.1002/jcc.20092>.
- Wheatley, D.N., 1991. Water: biology's forgotten molecule. *Biologist* 38, 45-49. [PDF]
- Wolcott, R.G., Boyer, P.D., 1974. The reversal of the myosin and actomyosin ATPase reactions and the free energy of ATP binding to myosin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 57(3), 709-716. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(74\)90604-4](https://doi.org/10.1016/0006-291X(74)90604-4).

- Wolpert, L., 1995. Evolution of the cell theory. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 349(1329), 227-233. <https://doi.org/10.1098/rstb.1995.0106>.
- Wright, P.E., Dyson, H.J., 2015. Intrinsically disordered proteins in cellular signalling and regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 16(1), 18-29. <https://doi.org/10.1038/nrm3920>.
- Xu, H., Stern, H.A., Berne, B. J., 2002. Can water polarizability be ignored in hydrogen bond kinetics? *J. Phys. Chem. B* 106(8), 2054-2060. <https://doi.org/10.1021/jp013426o>.
- Yu, J.F., Wu, E.S., Wang, C.L., Wang, H.M., Wang, J.H., 2016. Classification of ordered/disordered regions of intrinsically disordered proteins based on comprehensive sequence analysis and Chou's pseudo amino acid composition method. *MATCH Commun. Math. Comput. Chem.* 75, 417-430. [\[PDF\]](#)
- Yu, S.S., Solano, M.D., Blanchard, M.K., Soper-Hopper, M.T., Krishnamurthy, R., Fernández, F.M., Hud, N.V., Schork, F.J., Grover, M.A., 2017. Elongation of model prebiotic proto-peptides by continuous monomer feeding. *Macromolecules* 50(23), 9286-9294. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.7b01569>.
- Zwicker, D., Seyboldt, R., Weber, C.A., Hуman, A.A., Jülicher, F., 2017. Growth and division of active droplets provides a model for protocells. *Nat. Phys.* 13(4), 408-413. <https://doi.org/10.1038/nphys3984>.
- Кацнельсон З.С. 1963. Клеточная теория в ее историческом развитии. Л.: Медгиз. [\[PDF\]](#)
- Ландау Л.Д., Ахиезер А.И., Лифшиц Е.М. 1969. Курс общей физики: механика и молекулярная физика. М.: Наука. [\[DJVU\]](#)
- Насонов Д.Н. 1962. Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. М.-Л.: Изд-во АН СССР. [\[PDF Rus\]](#)
- Трошин А.С. 1956. Проблема клеточной проницаемости. М.-Л.: Изд-во АН СССР. [\[PDF Rus\]](#) [\[PDF Chinese\]](#)

Интернет-ресурсы

- Matveev, V.V. 2012. Main principles of Ling's physical theory of the living cell. [\[HTM\]](#)
The Journal "Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR". [\[HTM\]](#)
- Матвеев В.В. Видеопубликации. [YouTube](#).
- Линг Г. 2008. Физическая теория живой клетки. Незамеченная революция. «Наука», СПб. [\[HTM\]](#)