

Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Е. В. МЕЛЬНИКОВА, А. Г. ПОГОРЕЛОВ,
Б. Л. АЛЛАХВЕРДОВ

СТАБИЛИЗАЦИЯ И СОСУЩЕСТВОВАНИЕ КОАЦЕРВАТНЫХ СИСТЕМ РАЗЛИЧНОГО ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

(Представлено академиком А. И. Опариным 18 XII 1974)

Согласно теории Опарина, в происхождении жизни большое значение имеет обособление молекул из вод первичного океана в виде коацерватных капель⁽⁵⁾. Их можно получить из водных растворов разнообразных, абиогенно синтезированных и природных полимерных соединений (полипептидов, белков, полинуклеотидов, ДНК, РНК, углеводов, липидов и др.). Кроме того, в протоплазме также образуются коацерватные капли. Следовательно, коацерватные капли представляют интерес как примитивная форма объединения молекул в живой материи и на пути ее возникновения. Наряду с другими моделями коацерватные капли могут быть полезны при изучении условий, необходимых для искусственного синтеза жизни. Однако коацерватные капли большинства изученных гидрофильных коацерватных систем не стойки. Они сливаются друг с другом и образуют слой. Весь процесс занимает несколько часов. Таких систем известно свыше 250. Эта неустойчивость капель снижала их значение как предклеточных моделей. За последние годы нам удалось получить устойчивые капли, которые хорошо сохраняются в течение длительного времени (месяцы и годы)^(2, 3, 6, 7). Данные о первой стабильной системе опубликованы в 1968 г. Таким образом стабилизация коацерватных систем дала возможность провести предлагаемое исследование.

Цель работы состояла в выяснении возможности сосуществования коацерватных систем различного химического состава и стабильности. Это имеет значение для дальнейшего усложнения коацерватных систем.

Объектами экспериментов служили нестабильные и стабилизированные белково-нуклеиновые и белково-углеводные коацерватные системы. Стабилизацию проводили путем моделирования окислительных реакций с участием ферментов и их субстратов: полифенолоксидазы (1.10.3.1) и пирокатехина, а также пероксидазы (1.11.1.7) и пирогаллола, *о*-дианизидина и H_2O_2 . Продукты реакции — хиноны и окисленная форма *о*-дианизидина концентрировались в каплях и придавали им устойчивость. Все системы были получены при pH 6,0, 16—20° и одной и той же ионной силе ацетатного буфера. Подробности их приготовления опубликованы в работах^(1, 2, 3, 6, 7). Поэтому здесь приводим только сокращенные обозначения использованных коацерватных систем.

Стабилизированные системы (капли существуют пять лет, предел неизвестен): 1) полифенолоксидаза — пирокатехин — гистон — ДНК — хиноны; 2) полифенолоксидаза — пирокатехин — гистон — гумми — хиноны; 3) пероксидаза — пирогаллол — гистон — ДНК — хиноны; 4) пероксидаза — пирогаллол — гистон — гумми — хиноны; 5) пероксидаза — *о*-дианизидин — гистон — ДНК — *о*-дианизидин окисленный; 6) пероксидаза — *о*-дианизидин — гистон — гумми — *о*-дианизидин окисленный.

Нестабильные системы (капли сохраняются в течение 3—4 час.): 7) гистон — ДНК; 8) гистон — гумми.

Из этих систем готовили препараты 2 вариантов: 1) содержащие капли только стабильных систем, 2) содержащие капли всех систем, включая нестабильные. Для этого брали 0,01–0,02 мл каждой системы и смешивали в кювете толщиной в 140 мкм. Закрывали покровным стеклышком и заливали канадским бальзамом, для предохранения от высыхания. Чтобы следить за поведением коацерватных систем и отличить в смеси капли каждой системы, применяли обычную, люминесцентную и электронную микроскопию. Кроме того проводили контрольные наблюдения за каплями отдельных систем. Препараты просматривали в люминесцентный

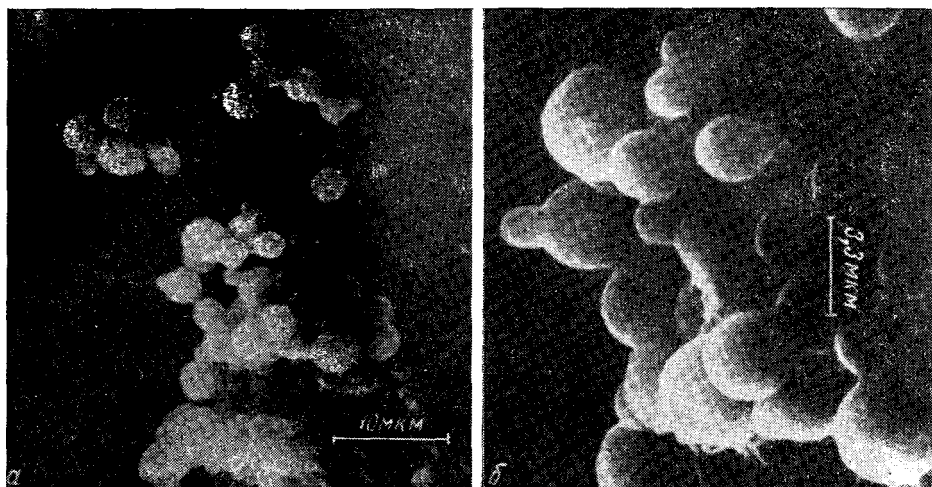


Рис. 1. Стабильные коацерватные капли различного химического состава в сканирующем электронном микроскопе. а — вид колоний, б — вид части колоний

микроскоп МЛ-4 с объективом $40\times 0,65$ и окуляром $8\times$. Фотографирование на цветную пленку вели с тем же объективом и гамалем $1,7\times$. Результаты работы показали, что стабильные капли в смеси сосуществуют друг с другом, сохраняя свои особенности. Капли каждой стабильной системы имеют характерную окраску от желтой до фиолетово-коричневой и отличаются по морфологическим признакам. Это хорошо видно в обычном свете и особенно с фазово-контрастным устройством. Кроме того они образуют смешанные колонии, состоящие из капель разного состава. На рис. 1 показан вид таких колоний в сканирующем электронном микроскопе «Jeol» 100 В. Условия съемки даны в работе (1). Капли нестабилизированных систем из гистона — ДНК и из гистона — гумми не окрашены. Чтобы отличить капли этих систем друг от друга и от остальных систем использовали 0,01% водные растворы люминесцентных красителей. Для этого к 0,05 мл коацерватной системы добавляли 0,05 мл ЭБ (2,7-диамино-10-этил-8-фенил-фенаптретдинпум-бромид) или 0,05 мл ANS (аммонийная соль 8-анилино-1-нафтоленосульфенат). Красители концентрировались в каплях. Такие капли существуют 3–4 часа. В обычном микроскопе капли бесцветны, а в люминесцентном микроскопе при возбуждении люминесценции длиной волны $\lambda=365$ нм капли, содержащие гистон — ДНК и ЭБ, светятся красным цветом, а капли из гистона — гумми и ANS — зеленым. В то же время в стабилизированных системах капли не светятся при добавлении к ним красителей. Возможно, окисленные продукты, стабилизирующие капли, заняли места в молекулах белка и ДНК, с которыми связываются красители. На рис. 2 приведены фотографии коацерватных капель в свете люминесценции. Таким образом, сочетание обычной световой и люминесцент-

а.



б.

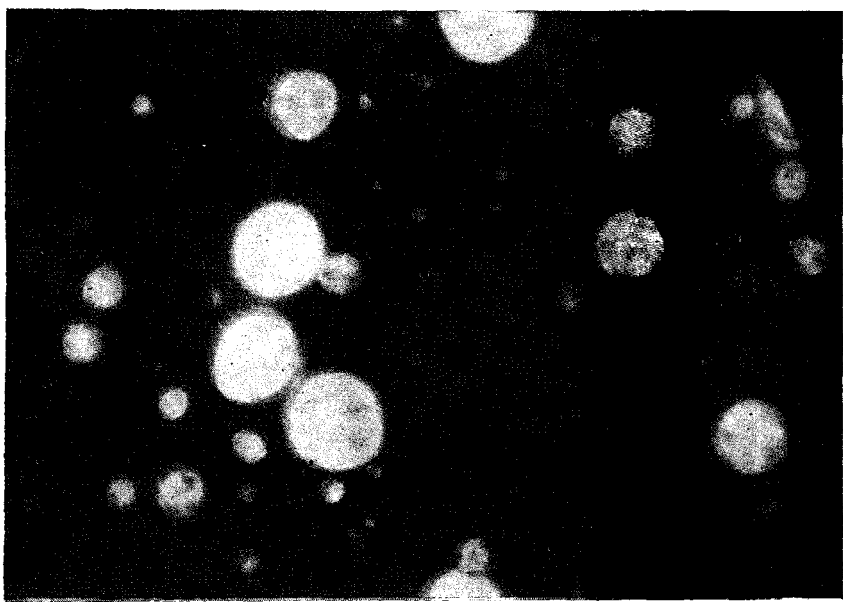


Рис. 2. Вид коагулированных капель с люминесцентными красителями в микроскопе МИ-4 при возбуждении люминесценции $\lambda = 365$ нм, а — капли из гистона — ДНК и ЭБ (свечение красное), б — капли из гистона — гумми и АНС (свечение зеленое). Масштаб: 1 см=47 мкм

ной микроскопии позволяет отличать капли разных по химическому составу систем и решать вопросы об их сосуществовании.

В данной работе доказано сосуществование различных по химическому составу коацерватных систем, причем капли не только не мешают друг другу, но способны объединяться в колонии. Эти свойства будут в дальнейшем использованы для усложнения коацерватных систем путем моделирования в них последовательной цепи химических реакций.

Авторы благодарят акад. А. И. Опарина за его постоянное внимание к нашим работам и акад. Г. М. Франка за разрешение провести эксперименты в его институте совместно с его сотрудниками. Считаем своим долгом выразить глубокую признательность В. Н. Карнаухову, советами которого мы пользовались при выполнении данной работы.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
1 X 1974

Институт биофизики
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. Н. Евреинова, Концентрирование веществ и действие ферментов в коацерватах, «Наука», 1966. ² Т. Н. Евреинова, А. Бейли, ДАН, т. 179, 723 (1968). ³ Т. Н. Евреинова, С. Б. Стефанов, Т. В. Мамонтова, ДАН, № 1, 5 (1973). ⁴ В. Н. Карнаухов, В. П. Зинченко, Цитология, 13, 1243 (1971). ⁵ А. И. Опарин, Жизнь, ее природа, происхождение и развитие, Изд. АН СССР, 1960. ⁶ Т. N. Evreinova, T. W. Mamonтова et al., J. Origin of Life, v. 5, 201 (1974). ⁷ T. N. Evreinova, B. L. Allakherdov, V. I. Peshenko, In: The Origin of Life, Evolutionary Biochemistry, N. Y., 1974, p. 89. ⁸ G. Weber, L. B. Young, J. Biol. Chem., v. 239, 1415 (1964).