

УДК 523.07

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИАЦИОННОГО МЕХАНИЗМА КИРАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

В. И. Бурков¹, Л. А. Гончарова², Г. А. Гусев²,
Жанг Гаобин³, К. Кобаяши⁴, Ксю Джиянхуа⁵,
Э. В. Мойсеенко⁶, Н. Г. Полухина², Т. Саито⁷, В. А. Царев²

Представлены первые результаты эксперимента "РАМ-БАС" (Радиационный Механизм Биомолекулярной Асимметрии) по исследованию радиационного механизма воздействия на киральные молекулы, как фактора, приводящего к возникновению киральной асимметрии. Найдено, что облучение потоком электронов от радиоактивного источника смеси простых акиральных веществ инициирует синтез простейших аминокислот, а в рацемической смеси комплексов аминокислот и металлов приводит к асимметричному разложению и возникновению киральной асимметрии. Полученные результаты могут оказаться существенными для решения проблемы происхождения жизни и возникновения киральной асимметрии биосферы.

¹Московский Физико-технический институт.

²Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН.

³Университет Науки и Технологии Китая, Хефэй, КНР.

⁴Иокогамский Национальный Университет, Иокогама, Япония.

⁵Институт Физики Высоких Энергий, Пекин, КНР.

⁶Российский Федеральный Ядерный Центр, Снежинск.

⁷Институт Передовых Исследований, Токио, Япония.

Явление биологической гомокиральности было открыто более 150 лет тому назад Л. Пастером [1], обнаружившим, что в природе имеет место фундаментальное различие между живым и неживым, связанное с “зеркальной диссимметрией” живых организмов. В то время как в неорганической природе число “левых” и “правых” молекул одинаково, живые организмы используют лишь один из двух зеркальных изомеров в таких биологически важных молекулах, как аминокислоты и сахара, и не используют молекулы другой киральности (нуклеиновые кислоты содержат только *D* (правые) изомеры сахаров; ферменты содержат только *L* (левые) изомеры аминокислот). Несмотря на большое число экспериментов и гипотез, происхождение этой фундаментальной асимметрии до сих пор остается загадкой (см., например, обзоры [2–8]).

Среди большого числа возможных физических механизмов нарушения зеркальной симметрии, обсуждавшихся в литературе, наиболее привлекательным кандидатом представляется так называемый “радиационный” механизм, впервые предложенный Вестером и Ульбрихтом [9] (см. также [10, 11]), обусловленный взаимодействием молекул со “спиральными” частицами. Акиральные реактанты, облученные такими частицами, подвергаются “киральному воздействию”, которое может вызвать предпочтительную диссоциацию или рождение молекул с определенной киральностью. В “земном” сценарии происхождения жизни источниками спиральных частиц могли бы быть распады радиоактивных ядер или космические лучи [12]. В космическом (“холодном”) сценарии, где основные стадии возникновения жизни, включая образование самовоспроизводящихся структур, переносятся в космос (точнее, в межзвездные газо-пылевые облака), основным источником кирального воздействия, по-видимому, являются частицы, испускаемые при взрывах сверхновых [13–17]. “Холодный” сценарий основывается на современных идеях химии глубокого холода (впервые на возможность “холодной предыстории жизни” указал В. И. Гольданский на основе открытого им явления ненулевой скорости химических реакций при низких температурах [18, 19]), а также на недавних открытиях в геологии и астрофизике и на результатах исследования некоторых метеоритов.

До настоящего времени было проведено значительное число исследований, имевших своей целью определение эффективности воздействия спиральных частиц для генерации асимметрии при синтезе или радиоллизе рацемических смесей (см., например, обзор [5]). Однако ясности в этом вопросе до сих пор достичь не удалось.

Представленное в данной статье исследование радиационного механизма в эксперименте РАМБАС отличается от проведенных ранее работ рядом особенностей. До сих

пор ни в одном из известных нам исследований этого механизма не использовались одновременно техника кругового дихроизма, источники синхротронного излучения, а также комплексы аминокислот и тяжелых металлов. Сочетание этих факторов дает возможность обеспечить значительно более высокую чувствительность измерений ожидаемых малых киральных эффектов.

Приготовление образцов. Работы по программе РАМБАС включали несколько этапов.

На первом этапе в Японии и России были изготовлены два набора образцов. Набор (А) включал три водных раствора смесей простейших акиральных веществ, предположительно входивших в состав примитивной атмосферы/гидросферы Земли или гранул межзвездных газово-пылевых облаков: (а) $\text{CH}_3\text{OH} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$; (б) $\text{CH}_3\text{OH} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{Zn}^{2+} + \text{Cu}^{2+}$; (в) $\text{CO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$. Последняя смесь была предварительно облучена протонами с энергией 2 ГэВ. Набор (б) содержал комплексы, состоящие из рацемических смесей аминокислот и металлов: серин с карбонатом меди, ацетатом кобальта, ацетатом меди, ацетатом кобальта и палладия и карбонатом никеля; аланин с ацетатом меди и карбонатом меди; гистидин с карбонатом меди и никеля. Введенные тяжелые металлы, как ожидается [20, 21], должны служить катализаторами при синтезе аминокислот в образцах типа (а), а также увеличивать эффект кирального воздействия [10, 11]. Следует отметить, что присутствие металлов в составе реагентов на предбиологической стадии эволюции вполне вписывается в рамки космического сценария происхождения жизни. Так, известно, что в веществе комет найдены такие металлы, как Co, Zn, Cu, As, Se, Mo, Cd, Sn, I.

На втором этапе, в РФЯЦ, оба набора образцов были подвергнуты облучению потоком поляризованных β -электронов. Часть образцов этой группы облучалась в форме водного раствора с типичной концентрацией 1–3%. Другая часть облучалась в твердом состоянии в виде порошка. В дальнейшем, после облучения, при проведении измерений оптической активности, порошки растворялись в нормальной или тяжелой воде. Облучение проводилось десятью источниками типа БИС-20 с общей активностью 50 Ки. Излучающим элементом служила смесь радионуклидов $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$, нанесенная тонким слоем на подложку источника. Измеренные значения внешнего β -излучения источника в угол 2π составляли $10.7 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$. Примерно 80% этой величины приходится на долю излучения радионуклида иттрий-90, а 20% на долю излучения стронция-90, которое практически полностью поглощается в стенках контейнера образца. Длительность облучения для различных образцов была различной и составляла 46 и 209 суток. При

этом средняя величина энергии, внесенной в образцы за одни сутки облучения, равнялась примерно 10^{20} эВ.

На третьем этапе образцы группы (а) были подвергнуты прецизионному химическому анализу в Иокогамском Национальном Университете (ИНУ) с целью выявления присутствия аминокислот, которые могли бы быть синтезированы из смесей простейших неорганических веществ в результате облучения их потоком электронов. Процедура анализа содержала следующие операции. Водные растворы, предположительно содержавшие образовавшиеся аминокислоты, были подвергнуты гидролизу с помощью 6 М NCl при температуре $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов. Концентрация гидролизованных аминокислот определялась с помощью ионно-обменного прибора HPLC , который состоял из двух высокоэффективных жидкостных хроматографических насосов (Shimadzuki LC-6A), катионно-обменной колонки (Shimpac ISC-07/S1504, внутренний диаметр 0.4 мм, длина 150 мм) с дифференцирующей системой и флуориметрическим детектором Shimadzuki RF-535. В качестве дифференцирующих реагентов использовались N -ацетил-L-цистин и о-фталальдегид (OPA) в буферном растворе бората.

Т а б л и ц а 1

Данные о синтезе аминокислот под действием β -излучения

Аминокислота	Образец (а) нмоль/мл	Образец (б)	Образец (в)
Аспаргиновая	0.514	19.3	78.8
Треонин	0.301	17.2	0.492
Серин	2.103	87.4	24.3
Глутаминовая	0.489	4.90	20.2
Глицин	9.72	61.5	2650
Аланин	1.83	28.6	391
Валин	0.630	12.2	7.49
Изолейцин	–	7.85	9.47
Лизин	–	10.7	1.89
Тиразин	–	7.26	–
Фенилаланин	0.343	5.98	–

Наконец, на четвертом этапе, образцы группы (б) исследовались на предмет поиска оптической активности (т. е., киральной асимметрии), которая могла возникать в рацемических смесях в результате воздействия на них поляризованных электронов. Для

этой цели на дихрографе Jobin-Ivone Московского Физико-Технического института и на пучке синхротронного излучения 4B8 BSRF (Beijing Synchrotron Radiation Facility) Института Физики Высоких Энергий (ИФВЭ, Пекин), а также на пучке синхротрона Университета Науки и Технологии Китая (Хефэй) были проведены измерения кругового дихроизма (КД). Ниже представлены данные, полученные в Иокогаме и Пекине.

Измерения в ИНУ и ИФВЭ. Результаты и обсуждение. Прецизионный химический анализ трех образцов группы (а), проведенный в Национальном Университете Иокогамы, позволил обнаружить присутствие аминокислот, образованных в результате синтеза под воздействием β -излучения. Полученные данные приведены в Таблице 1.

Как видно из этой таблицы, в результате облучения потоком электронов смесей простейших неорганических веществ, была синтезирована значительная часть важнейших аминокислот. Найдено также, что синтез аминокислот в образцах, содержащих тяжелые металлы, а также в образцах, предварительно подвергнутых облучению в пучке протонов, привел к большему выходу продуктов реакций. Полученные данные подтверждают ранее полученные заключения [20, 21] относительно стимулирующего воздействия на синтез аминокислот наличия тяжелых металлов и облучения их потоками релятивистских заряженных частиц.

Была также предпринята попытка исследовать образцы данной группы на предмет поиска оптической активности на дихрографе МФТИ, а также в пучке синхротронного излучения на КД-спектрофотометре BSRF. Отличный от нуля сигнал КД не был обнаружен. Впрочем, этот результат представляется вполне естественным, если учесть чрезвычайно малую концентрацию синтезированных аминокислот в сочетании с малым ожидаемым эффектом кирального воздействия.

Результаты исследования на BSRF КД спектров образцов группы (б) приведены в Таблице 2.

Все наши измерения проводились при температуре 25 °С. Спектры измерялись со скоростью 6 нм/мин и накапливались от 8 до 16 раз для улучшения отношения сигнал/шум. Сравнение результатов последовательных индивидуальных сканов позволяло оценивать стабильность условий в процессе накопления данных.

В данных измерениях использовались вначале две разборные кварцевые кюветы фирмы Hellma, имевшие, согласно паспортным данным, длину оптического пути 10 мкм. Поскольку, как отмечено в работе [22], для столь тонких ячеек паспортные данные могут иметь погрешность до 50%, в окончательных измерениях для получения однородного ряда измерений была использована только одна ячейка.

этой цели на дихрографе Jobin-Ivone Московского Физико-Технического института и на пучке синхротронного излучения 4B8 BSRF (Beijing Sunchrotron Radiation Facility) Института Физики Высоких Энергий (ИФВЭ, Пекин), а также на пучке синхротрона Университета Науки и Технологии Китая (Хефэй) были проведены измерения кругового дихроизма (КД). Ниже представлены данные, полученные в Иокогаме и Пекине.

Измерения в ИНУ и ИФВЭ. Результаты и обсуждение. Прецизионный химический анализ трех образцов группы (а), проведенный в Национальном Университете Иокогамы, позволил обнаружить присутствие аминокислот, образованных в результате синтеза под воздействием β -излучения. Полученные данные приведены в Таблице 1.

Как видно из этой таблицы, в результате облучения потоком электронов смесей простейших неорганических веществ, была синтезирована значительная часть важнейших аминокислот. Найдено также, что синтез аминокислот в образцах, содержащих тяжелые металлы, а также в образцах, предварительно подвергнутых облучению в пучке протонов, привел к большему выходу продуктов реакций. Полученные данные подтверждают ранее полученные заключения [20, 21] относительно стимулирующего воздействия на синтез аминокислот наличия тяжелых металлов и облучения их потоками релятивистских заряженных частиц.

Была также предпринята попытка исследовать образцы данной группы на предмет поиска оптической активности на дихрографе МФТИ, а также в пучке синхротронного излучения на КД-спектрофотометре BSRF. Отличный от нуля сигнал КД не был обнаружен. Впрочем, этот результат представляется вполне естественным, если учесть чрезвычайно малую концентрацию синтезированных аминокислот в сочетании с малым ожидаемым эффектом кирального воздействия.

Результаты исследования на BSRF КД спектров образцов группы (б) приведены в Таблице 2.

Все наши измерения проводились при температуре 25 °С. Спектры измерялись со скоростью 6 нм/мин и накапливались от 8 до 16 раз для улучшения отношения сигнал/шум. Сравнение результатов последовательных индивидуальных сканов позволяло оценивать стабильность условий в процессе накопления данных.

В данных измерениях использовались вначале две разборные кварцевые кюветы фирмы Hellma, имевшие, согласно паспортным данным, длину оптического пути 10 мкм. Поскольку, как отмечено в работе [22], для столь тонких ячеек паспортные данные могут иметь погрешность до 50%, в окончательных измерениях для получения однородного ряда измерений была использована только одна ячейка.

Т а б л и ц а 2

Данные об исследованных образцах и результатах измерения КД
в пучках синхротронного излучения.

Код образца: R(J) – изготовлен в России (в Японии);

S(A) – образец облучался в твердом состоянии (в водном растворе)

Код образца	R, S	J, A	R, A	R, A	R, A	R, S	R, A	J, A
Состав образца	Карбонат меди с меди с серином	Ацетат коба- льта с серином	Ацетат коба- льта с серином	Ацетат меди с сери- ном	Карбонат никеля с сери- ном	Ацетат коба- льта и палла- дия с алани- ном	Ацетат меди с алани- ном	Карбонат меди с гисти- дином
Длитель- ность облу- чения (дней)	46	46	209	209	209	209	46	
Концен- трация при измере- ниях КД (%)	1.88	7.9	7.9	7.46	8.1	7.5	0.45	46
Наличие или отсут- ствие опти- ческой актив- ности	Да	Да	Нет	Нет	Да	Да	Да	Да

Следует также отметить, что в результате предварительных измерений образцов, растворенных с различными концентрациями, как в нормальной, так и в тяжелой воде, было обнаружено, что в области длин волн меньших 180 нм отношение сигнал / шум

падает из-за сильного поглощения потока синхротронного излучения. Поэтому в дальнейшем измерения проводились в основном в области 180–260 нм (иногда, для экономии времени, использовался более узкий интервал 190–220 нм).

Для контроля за надежностью измерений и выбора оптимальной концентрации образцов использовались данные относительно высоковольтного напряжения КД-спектрофотометра.

Для калибровки результатов измерений по абсолютной величине использовались измерения КД для камфорсульфоновой кислоты (CSA). Результаты этих измерений указывают на адекватную работу аппаратуры в процессе измерений.

Для выяснения устойчивости результатов измерений (зависящей, прежде всего, от стабильности пучка синхротронного излучения), фоновые измерения КД для нормальной воды были проведены 5 раз с количеством сканов от 12 до 16. Измерения с тяжелой водой проводились два раза (по 16 сканов).

Процедура анализа данных включала следующие этапы: (1) Спектры как рабочих образцов, так и фоновых измерений (для ячейки с растворителем) усреднялись по всем сканам; (2) Усредненная фоновая кривая вычиталась из усредненных спектров образцов; (3) Данные сглаживались; (4) В нескольких случаях требовался незначительный сдвиг всей кривой для зануления сигнала в области 240–260 нм, где, как известно [22, 23], сигнал КД аминокислот должен отсутствовать. Такая процедура была использована только в тех случаях, когда отклонение от нуля было невелико (≤ 0.2 мрад). Большие отклонения рассматривались как свидетельство систематических ошибок, связанных с отклонением пучка, неправильной сборкой разборной ячейки, или установкой ячейки под углом к пучку [22].

Поскольку, как уже отмечалось выше, мы ожидаем возникновения относительно небольшой асимметрии в результате облучения поляризованными электронами, мы провели целый ряд измерений с контрольными образцами чистого L-серина различной концентрации, включая “материнский” 1% раствор, и растворы с концентрацией, уменьшенной в 25, 50, 100 и 300 раз по сравнению с исходной, т.е., $4 \cdot 10^{-4}$; $2 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-4}$ и $3 \cdot 10^{-5}$. Эти измерения дают возможность непосредственно в условиях данного эксперимента оценить эффект, который дает киральный L-серин в том случае, если он присутствует в растворе в малой концентрации. Результаты измерений для концентраций 10^{-2} , $4 \cdot 10^{-4}$ и $2 \cdot 10^{-4}$ приведены на рис. 1. Видно, что для данных концентраций, несмотря на ошибки измерений, обусловленные статистическими флуктуациями, сохраняется возможность достаточно надежного выделения пика в области ~ 200 нм с

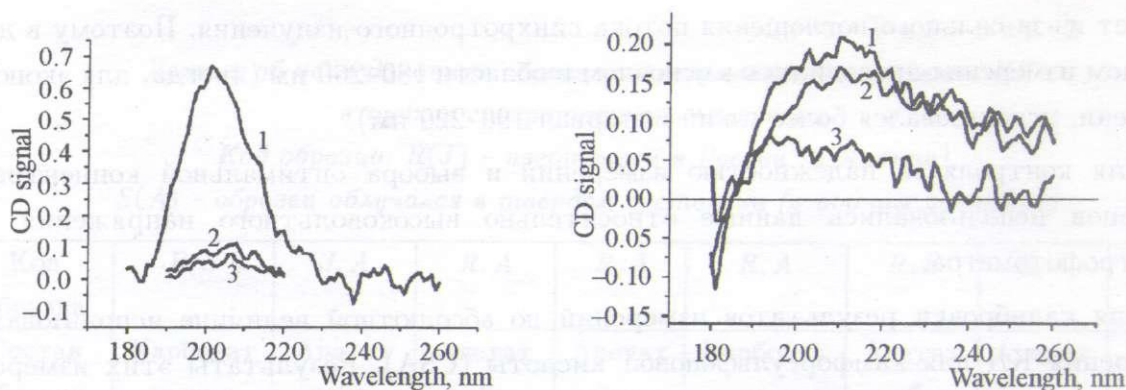


Рис. 1. Спектры КД для образцов *L*-серина с концентрациями 10^{-2} (1), $4 \cdot 10^{-4}$ (2) и $2 \cdot 10^{-4}$ (3).

Рис. 2. Спектры КД для карбоната меди + серин; кривые: 1 – образец, 2 – фон, 3 – образец минус фон.

отношением сигнал/шум лучше 2. Для меньших концентраций выделение этого пика в данных измерениях становится уже ненадежным. Следует заметить, что отношения высот пиков для “материнского” раствора (1%) и растворов с концентрацией, уменьшенной в 25 и 50 раз, оказываются меньше, чем 25 и 50, соответственно. Этот факт, по-видимому, связан с эффектом молекулярной ассоциации, уменьшающей оптическую активность раствора при высокой концентрации.

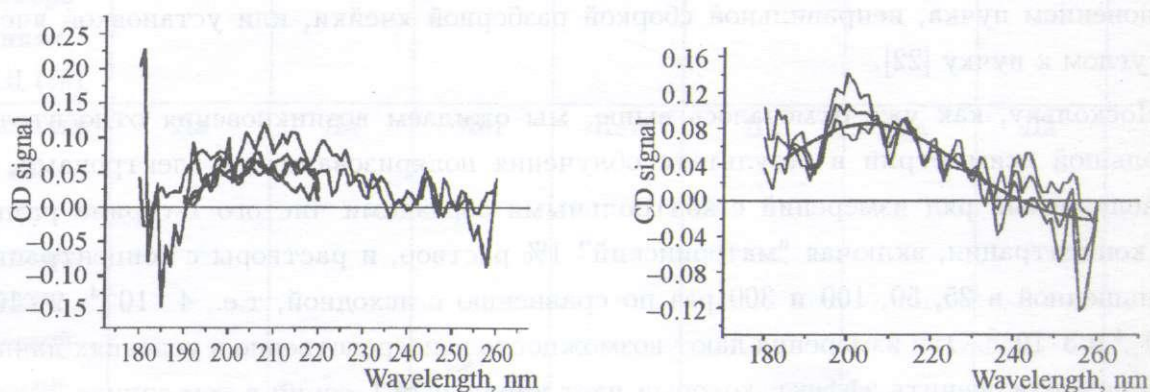


Рис. 3. Спектры КД для всех пяти образцов с серином минус фон.

Рис. 4. Спектры КД для образца ацетата меди с аланином. Кривые: два измерения и усреднение (*ave*).

Результаты, полученные при измерениях КД исследуемых образцов, можно разделить на три категории.

(а) К первой, наиболее интересной и многочисленной категории (см. таблицу 2 и рис. 2–5), мы отнесли измерения, достаточно четко показывающие наличие пика в области 200 нм при вычитании из сигнала КД образца аппаратурного фона, измеряемого для той же ячейки с растворителем. Такое поведение найдено в 8 измерениях для 6 образцов. Следует подчеркнуть, что в доступной для данных измерений области длин волн 190–260 нм, поведение кривой КД для этих образцов полностью совпадает с измеренным нами поведением кривых КД для контрольных образцов L-серина и с результатами измерений для этих веществ в работе [23]. В частности, сигнал КД для исследуемых веществ полностью исчезает в области длин волн 240–260 нм. Сравнение обнаруженного сигнала для образцов этой группы с сигналами от контрольных образцов L-серина различной концентрации показало, что оптическая активность исследуемых образцов может быть объяснена радиационно-индуцированной киральной асимметрией, соответствующей избытку левого серина (или аланина и гистидина) на уровне порядка $10^{-4} - 10^{-5}$.

(б) Ко второй категории мы отнесли результаты тех измерений, в которых найдено, что поведение сигнала для исследуемого образца совпадает, в пределах ошибок, с поведением фонового сигнала. Такие измерения можно рассматривать как корректные измерения сигнала от образцов, не проявляющих дихроизма в пределах точности измерений.

(в) Наконец, к третьей категории мы относим результаты, которые противоречат естественному ожидаемому поведению сигнала КД. Мы рассматриваем эти последние результаты как свидетельство наличия систематических ошибок в процессе измерений с данным образцом, например, связанных с нестабильностями положения пучка синхротрона, неправильной сборкой ячейки и т.п. (см., например, обсуждение в [22]).

Заключение. Приведенные выше результаты можно рассматривать как свидетельство в пользу важной роли, которую может играть облучение потоками релятивистских заряженных частиц, как для синтеза важнейших биоорганических соединений, так и для возникновения (при облучении поляризованными частицами) киральной асимметрии биоорганических веществ. Последний вывод, несомненно, может иметь важнейшее значение для решения проблемы происхождения жизни и возникновения киральной асимметрии биосферы, как в земном, так и в космическом сценариях происхождения жизни.

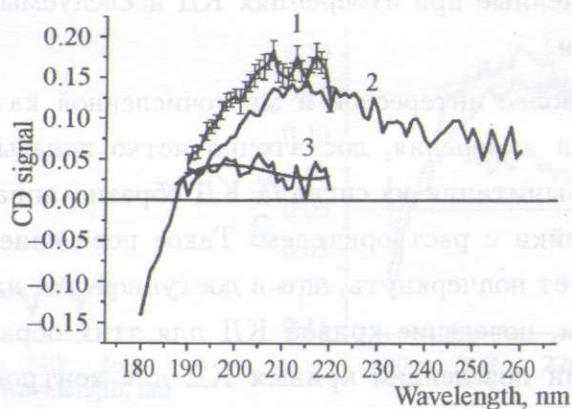


Рис. 5. Спектры КД для образца карбоната меди с гистидином. Кривые: 1 – образец, 2 – фон, 3 – образец минус фон.

Вместе с тем, полученные на данной стадии эксперимента РАМБАС данные о киральном воздействии потоков поляризованных электронов мы рассматриваем как предварительные и скорее как указание в пользу эффективности радиационного механизма, нежели доказательство решающей роли этого механизма в эволюции биосферы. Для получения более обоснованных выводов мы предполагаем продолжить данные исследования, используя более высокую чувствительность аппаратуры, прежде всего с целью проверки воспроизводимости результатов и исключения различных систематических погрешностей измерений.

Авторы благодарят администрацию BSRF (Пекин) и USTC (Хефей) за предоставленную возможность проведения измерений в пучках синхротронного излучения и лично Хуанг Ян и Тао Е за помощь в ходе измерений. Мы признательны также Даванкову В. А., Евдокимову Ю. М., Отрощенко В. А., Сорокину В. Н. и Чельцову-Бебутову П. А. за полезные обсуждения рассматриваемых в статье проблем.

Работа была поддержана Фондами Фундаментальных Исследований РАН и НАНК, грант ГФЕН-РФФИ 05-02-390020, а также частично грантом МЕХТ, Япония (N 19654084).

ЛИТЕРАТУРА

- [1] L. Pasteur, *Researches on Molecular Asymmetry* (1860). (Reproduced: Univ. Chicago Press. Chicago, 1914).
- [2] L. Keszthelyi, *BioSystems* **20**, 15 (1987).
- [3] S. F. Mason, *BioSystems* **20**, 27 (1987).

- [4] В. И. Гольданский, В. В. Кузьмин, УФН **157**, 3 (1989).
- [5] W. A. Bonner, *Origin of Life and Evol. Biosphere* **21**, 59 (1991).
- [6] A. J. MacDermott, *Origin of Life and Evol. Biosphere* **25**, 191 (1995).
- [7] В. А. Аветисов, В. И. Гольданский, УФН **166**, 873 (1996).
- [8] А. К. Mann, Н. Primakov, *Origin of Life and Evol. Biosphere* **11**, 255 (1981); **13**, 113 (1983).
- [9] L. V. Ulbricht, F. Vester, *Tetrahedron* **18**, 628 (1962).
- [10] R. A. Hegstrom, *Nature* **297**, 643 (1982).
- [11] W. J. Meiring, *Nature* **329**, 712 (1987).
- [12] В. А. Царев, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, No. 2, 33 (1999).
- [13] D. B. Cline, *AIP Conf. Proc.* **379** (American Institute of Physics, Woodbury and New York, 1996); *Comment. Nucl. Part Phys.*, **22**(3), 131 (1997).
- [14] В. А. Царев, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, No. 1, 18 (1999).
- [15] В. А. Царев, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, No. 2, 22 (1999).
- [16] Т. Саито, В. А. Царев, *Краткие сообщения по физике ФИАН*, No. 3, 16 (2004).
- [17] G. A. Gusev, T. Saito, V. A. Tsarev, A. V. Uryson, *Origin of Life and Evol. Biosphere* **37**, 256 (2007).
- [18] V. I. Goldanskii, M. D. Frank-Kamenetskii, I. M. Barkov, *Science* **182**, 1344 (1973).
- [19] V. I. Goldanskii, *Nature* **279**, 109 (1979).
- [20] Y. Takano, J. Takahashi, T. Kaneko, et al., *Earth Planet Sci. Lett.* **254**, 106 (2007).
- [21] T. Katsamatsu, T. Kaneko, T. Saito, K. Kobayashi, *Bull. Chem. Sci. Jap.* **70**, 1021 (1997).
- [22] A. J. Miles, B. A. Wallace, *Chem. Soc. Rev.* **35**, 39 (2006).
- [23] K. Matsuo, et al., *Chemistry Letters* 826 (2002).

Поступила в редакцию 3 декабря 2007 г.