

# Formování stavebních bloků života ...

... aneb molekuly tvořící život

Vladimír Kopecký Jr.

Fyzikální ústav Univerzity Karlovy v Praze  
Oddělení fyziky biomolekul  
<http://atrey.karlin.mff.cuni.cz/~ofb/kopeccky.html>  
[kopeccky@karlov.mff.cuni.cz](mailto:kopeccky@karlov.mff.cuni.cz)

# Počátky života

## Historický přehled

Timeline of the history of life:

- 1800: Synthesis of urea (Wöhler)
- 1828: Synthesis of urea (Wöhler)
- 1850: Synthesis of alanine (Strecker)
- 1861: Synthesis of sugars (Butlerov)
- 1880: Synthesis of glycine (Klages, Löb, Ling and Nanji)
- 1894-1900: Organic chemistry
- 1900: Chemical studies of autotrophic carbon assimilation
- 1924-1929: Proposals of the heterotropic origin of life (Oparin, Haldane, Lipman, Harvey)
- 1953: Miller experiment
- 1961: Synthesis of adenine (Oró)
- "RNA-World" concept
- 2000

J. L. Bada and A. Lazcano, Science 300 (2003) 745-746.

# Počátky života

## Prebiotická evoluce

- 1924 – A. I. Oparin ukazuje, že prvotní organismy musely být heterotrofní a užívat anaerobní fermentaci, navrhuje vznik života za přítomnosti  $\text{NH}_3$ , uhlovodíků a sloučenin C-kov (karbidů)
- 1927 – J. B. S. Haldane ukazuje na nepřítomnost  $\text{O}_2$  a  $\text{O}_3$  v prvotní atmosféře
- 1938 – Oparin přichází s ideou redukční atmosféry, přítomnosti UV záření a výbojů v prvotní atmosféře
- 1953 – S. L. Miller a H. Urey (Univ. of Chicago) syntéza aminokyselin
- 1961 – J. Oró (Univ. of Houston) – syntéza bází nukleových kyselin

Aleksandr Ivanovič Oparin (1894–1980)

Stanley L. Miller (\*1930)

J. B. S. Haldane (1892–1964)

# Počátky života

## Prebiotická evoluce – složení atmosféry

| Atmosféra | Složení   |
|-----------|---|
| Redukční  | $\text{CH}_4$ , $\text{NH}_3$ , $\text{N}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_2$<br>$\text{CO}_2$ , $\text{N}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{H}_2$<br>$\text{CO}_2$ , $\text{H}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ |
| Neutrální | $\text{CO}_2$ , $\text{N}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$   |
| Oxidační  | $\text{CO}_2$ , $\text{N}_2$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{O}_2$  |

- Původní Oparinův návrh redukční atmosféry obsahoval  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2$
- Shodné složení plynů užil i Miller ve svém experimentu
- Neutrální a oxidační atmosféry nevedou k abiotické syntéze aminokyselin

Původní experimentální aparatura S. L. Millera

# Aminokyseliny

## Prebiotická syntéza aminokyselin

- V roce 1952 provádí S. L. Miller experiment (v laboratoři H. C. Ureyho) se silně redukční atmosférou...

| AMINO ACID             | MURCHISON METEORITE | DISCHARGE EXPERIMENT |
|------------------------|---------------------|----------------------|
| GLYCINE                | +                   | +                    |
| ALANINE                | +                   | +                    |
| β-AMINO-N-BUTYRIC ACID | +                   | +                    |
| β-AMINOSUBUTYRIC ACID  | +                   | +                    |
| VALINE                 | +                   | +                    |
| NORVALINE              | +                   | +                    |
| ISOVAlINE              | +                   | +                    |
| PROLINE                | +                   | +                    |
| PIPECOLIC ACID         | +                   | +                    |
| ASPARTIC ACID          | +                   | +                    |
| GLUTAMIC ACID          | +                   | +                    |
| β-ALANINE              | +                   | +                    |
| β-AMINO-N-BUTYRIC ACID | +                   | +                    |
| β-AMINOSUBUTYRIC ACID  | +                   | +                    |
| γ-AMINOBUTYRIC ACID    | +                   | +                    |
| SARCOSINE              | +                   | +                    |
| N-ETHYLGLYCINE         | +                   | +                    |
| N-METHYLALANINE        | +                   | +                    |

S. L. Miller, Science 117 (1953) 528–529.

# Aminokyseliny

## Prebiotická syntéza aminokyselin – výtěžek

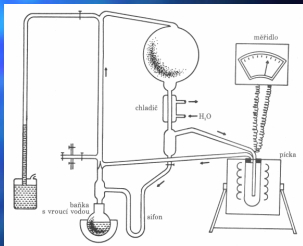
| Sloučenina      | Relativní výtěžek |
|-----------------|-------------------|
| kys. mravenčí   | 1000              |
| glycín          | 270               |
| kys. glukonová  | 240               |
| alanin          | 146               |
| kys. mléčná     | 133               |
| β-alanin        | 64                |
| kys. octová     | 64                |
| sarkosin        | 21                |
| kys. jantarová  | 17                |
| močovina        | 9                 |
| N-methylalanin  | 4                 |
| kys. glutamová  | 3                 |
| kys. asparagová | 2                 |

S. L. Miller, Biochim. Biophys. Acta 23 (1957) 480–489.

## Aminokyseliny

### Prebiotická syntéza aminokyselin

- Harada a Fox modifikovali Millerův experiment
- Odstranili elektrody a nahradili je pískou s ohřevem 900–1000 °C a s přidáním křemenného písku jako katalyzátoru
- Zvyšuje se podíl proteinogenních aminokyselin (Ala, Gly, Asp, Glu, Lys, Trp, His, Asn)
- Pokusy jsou kritizovány (teplota <120 °C je přijatelnější)

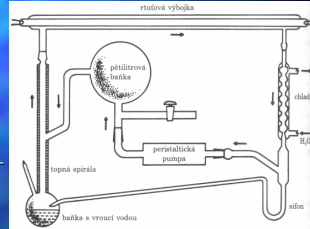


K. Harada and S. W. Fox, Nature 201(1964) 335. J. G. Lawless and C. D. Boynton, Nature 243 (1973) 450.

## Aminokyseliny

### Prebiotická syntéza aminokyselin

- Odifkace Millerova experimentu – odstranění elektrod a nahrazení UV-výbojkou
- Při ozařování směsí  $\text{CH}_4$ ,  $\text{C}_2\text{H}_6$ ,  $\text{NH}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}$  UV zářením (110–150 nm) vzniká převážně Gly, Ala a kys.  $\alpha$ -aminobutanová
- Při ozařování směsí  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NH}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}$  UV zářením (145–180 nm) vzniká Gly, Ala, Val, ..., hydrazin, močovina, formaldehyd, etc.
- Formaldehyd či sirovoď je možno užít jako fotosensibilizační činidla (při expozici 200–300 nm)

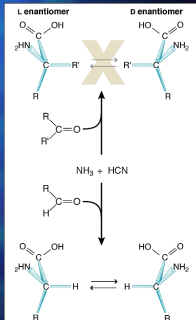


W. Groth & H. von Weysenhoff, Naturwissenschaften 44 (1957) 520. N. Dododnova & A. L. Sidorova, Biophysics 6 (1961) 14.

## Aminokyseliny

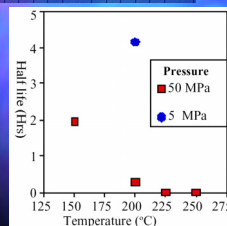
### Prebiotická syntéza aminokyselin

- Aminokyseliny vznikající Steckerovou reakcí s aldehydy mohou racemizovat, reakce s ketony vede k neracemizujícím aminokyselinám
- Meziprodukt Steckerovy syntézy aminonitril  $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{CN}$  má krátký poločas rozpadu – 1000 let při 0 °C
- Reakce musí probíhat relativně rychle
- Je závislá na koncentraci  $\text{NH}_3$  a  $\text{HCN}$ , na pH a teplotě
- $\text{NH}_3$  mohl být při pH 8,1 rozpuštěn v oceánech; v plynném stavu je rozkládán UV-zářením



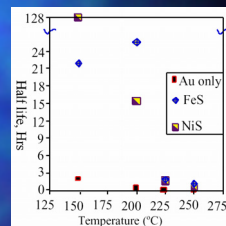
## Aminokyseliny

### Stabilita aminokyselin v přítomnosti minerálů



Efekt teploty a tlaku na poločas života leucinu (Leu). Pokus byl proveden ve vodném roztoku, v nepřítomnosti minerálů.

J. A. Brandes et al., 30th Lunar and Planetary Conference, Houston (2003), pp. 1284–1285.

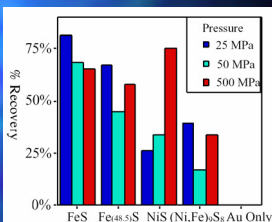


Efekt přidání minerálního pufru na stabilitu Leu. Experimentální tlak byl 50 MPa.

## Aminokyseliny

### Stabilita aminokyselin v přítomnosti minerálů

- Vysoké tlaky a teploty degradují aminokyseliny, ale urychlují polymerizační reakce
- Přítomnost minerálů, především sulfidů kovů (FeS a NiS) má stabilizační účinek
- Minerály mohly hrát roli stabilizujícího prostředí u hydrotermálních pramenů (tlaky ca. 25–50 MPa)



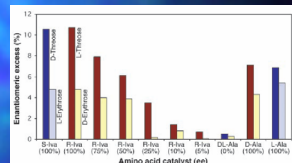
Efekt tlaku na stabilitu Leu v přítomnosti minerálů. Experiment prováděn při teplotě 200 °C a inkubaci vzorku 24 hodin.

J. A. Brandes et al., 30th Lunar and Planetary Conference, Houston (2003), pp. 1284–1285.

## Aminokyseliny

### Aminokyseliny jako katalyzátory

- Meziplanetární hmota obsahuje aminokyseliny s převahou L-formy o 2–9 %
- Syntéza cukrů ze směsí glykolaldehydu a formaldehydu (pH 5,4; 50 °C) za přítomnosti aminokyselin s převahou jedné formy ukazuje vychýlení izomerie cukrů ve prospěch opačné formy
- Vzniká asymetrie až 60 %
- Aminokyseliny a cukry ve vodném prostředí snadno racemizují, sic!
- Threosa může nahradit ribózu v molekule RNA, sic!



Efekt aminokyselinového katalyzátoru na asymetrickou syntézu threosy a erythrosy z glykolaldehydu. S-ivaline značí L-2-amino-2-methyl butiric acid.

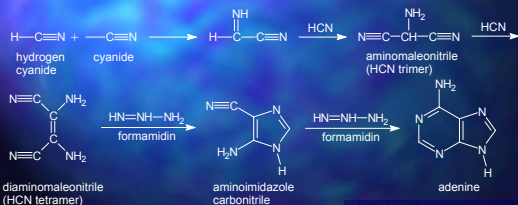
S. Pizzarello and A. L. Weber, Nature 303 (2004) 1151.



## Báze nukleových kyselin

### Abiotická syntéza adeninu

- V roce 1960 při reminiscencích na Millerův pokus získal John Oró adenin z roztoku HCN a  $\text{NH}_3$  cirkulujícím ve vhodné aparatuře po několik dní. Výtěžnost reakce je 0,5 %, vedlejšími produkty jsou 4-aminoimidazol-5-karboxyamid a kyanidový polymer.

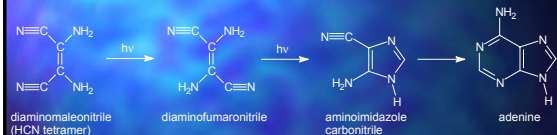


J. Oró, Biochem. Biophys. Res. Commun. 2 (1960) 407-412.

## Báze nukleových kyselin

### Abiotická syntéza adeninu

- V roce 1966 ukázali Ferris a Orgel, že limitující část Oróva cyklu lze obejít dvoufotonovým procesem



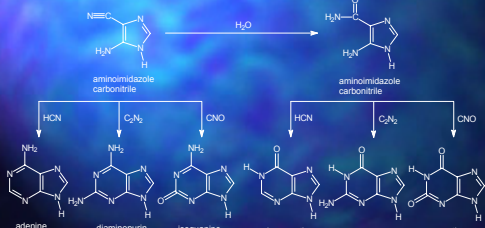
- Reakce mohla být v podmínkách primitivní Země urychlena v eutektickém roztoku HCN a  $\text{H}_2\text{O}$ , kde během měsíců při teplotách  $-10$  až  $-30$  °C samovolně vzniká HCN tetramer

J. P. Ferris and L. E. Orgel, J. Am. Chem. Soc. 88 (1966) 1074.

## Báze nukleových kyselin

### Abiotická syntéza purinů

- Syntéza purinů je obdobná k syntéze adeninu
- Výtěžky ostatních purinů jsou  $10\times$  až  $40\times$  nižší než pro adenin

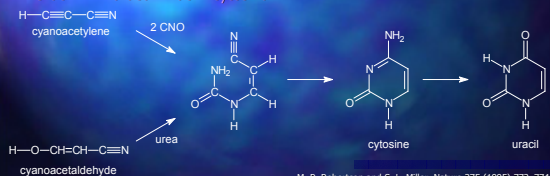


J. W. Schopf (Ed.): Life's origin, Univ. of California Press (2002) p. 94.

## Báze nukleových kyselin

### Abiotická syntéza cytosinu a uracilu

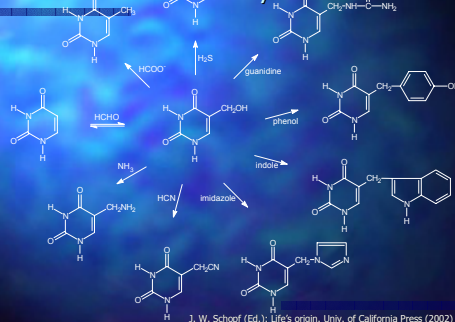
- Reakcí kvanoacetylenu s CNO vzniká cytosin, reakce vyžaduje nerelativně vysokou koncentraci CNO ( $>0,1$  M)
- Reakce kvanoacetylenu s močovinou nevede k detekovatelnému množství cytosinu, ale při simulaci podmínek vypařování v lagunách (cyklické koncentrování látek) lze získat  $> 50\%$  výtěžek cytosinu
- Uracil vzniká deaminací z cytosinu



M. P. Robertson and S. L. Miller, Nature 375 (1995) 772-774.

## Báze nukleových kyselin

### Krok ke světu RNA a aminokyselinám

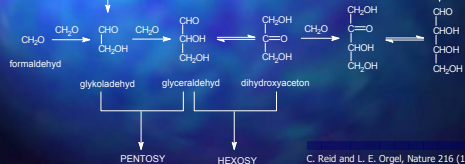


J. W. Schopf (Ed.): Life's origin, Univ. of California Press (2002) p. 97.

## Cukry

### Abiotická syntéza cukrů

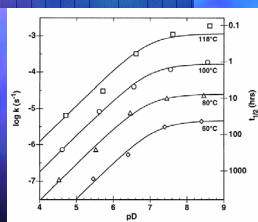
- Cukry vznikají Butlerovou syntézou (1861) za alkalických podmínek
- Reakce je katalyzována  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  a  $\text{CaCO}_3$ , jílové minerály mohou při  $100$  °C také sloužit jako katalyzátory s malým výtěžkem
- Nevýhody Butlerovy syntézy
  - Generuje velké množství rozmanitých cukrů  $>40$
  - Cukry vznikají jako racemická směs L a D formy (pouze D-ribose je přítomna v organismech)
  - Cukry mají podobné vlastnosti a nelze je snadno koncentrovat



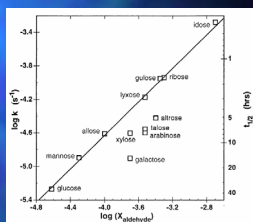
C. Reid and L. E. Orgel, Nature 216 (1961) 455.

# Cukry

## Stabilita v závislosti na teplotě a pH



Stupeň rozkladu ribosy jako funkce pH udaný pro různé teploty. Poločas rozpadu při pH 7,4 a 100 °C je 74 min., při 25 °C 300 dnů, při 0 °C 44 let



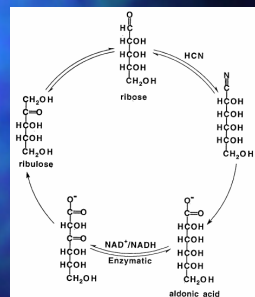
Stupeň rozkladu aldós při pH 7,4 a teplotě 100 °C v 50 mM fosfátovém pufru vs. molární frakce (X) volného aldehydu

R. Larralde et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 (1995) 8158-8160.

# Cukry

## Jsou cukry vhodný stavební materiál?

- Nestabilita cukrů je diskvalifikuje jako významnou součást prebiotické evoluce
- Cukry bylo možno v prebiotické evoluci uchovávat prostřednictvím cyklu ribosa + HCN → kyanohydrin → (hydrolyza) kys. aldonová (stabilní dlouhodobě) → (enzymaticky) → ribulosa → (izomerizace) ribosa
- Cukry musely být nahrazeny v prvním genetickém materiálu např. peptidy nebo jinou necukernou kóstrou
- Glykolýza je zřejmě jedním z prvních zdrojů energie, ale musela se vyvinout až po prebiotické evoluci

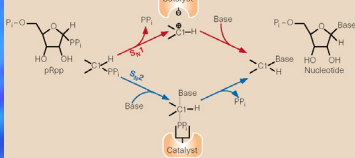


R. Larralde et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92 (1995) 8158-8160.

# Nukleotidy

## RNA katalyzovaný vznik nukleotidu

- Syntéza nukleotidů je závislá na vzniku glykosidické vazby
- Vazba se tvoří mezi C1 ribosy a N9 purinu nebo N1 pyrimidinu
- S<sub>N</sub>1 reakce
  - Pyrofosfát PP<sub>i</sub> se odštěpí
  - Vzniká + nabitý C1
  - Nukleofilním atakem se naváže báze glykosidickou vazbou
  - Užíváno nukleosid fosforibosyl transferásami



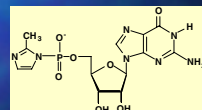
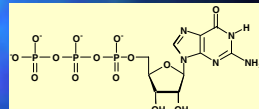
- S<sub>N</sub>2 reakce
  - PP<sub>i</sub> se váže na RNA
  - Vzniká pozitivně nabitý C1
  - Nukleofilním atakem se naváže báze glykosidickou vazbou za současného odštěpení PP<sub>i</sub>

P. J. Urrau and D. P. Bartel, Nature 395 (1998) 260-263.

# Nukleotidy

## Pradávná alternativa ATP?

- Nukleosid trifosfáty
  - Substrát „moderního“ života
  - Velice silně polární molekula
  - Nízká chemická reaktivita
- Nukleosid fosforoimidazolidiny
  - Modelový prebiotický substrát
  - Měně polární, více permeabilní
  - Vysoká chemická reaktivita



J. P. Ferris et al., Nature 381 (1996) 59-61.

# Počátky života

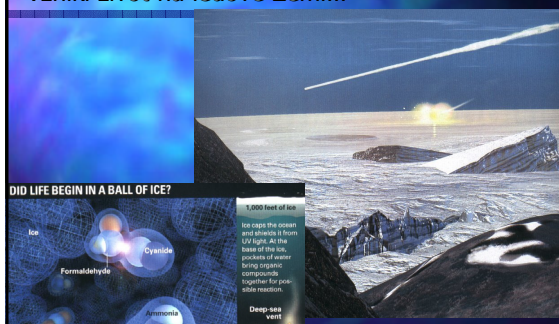
## Chemická evoluce biomolekul z HCN

- HCN hrál zřejmě nejdůležitější roli při vzniku biomolekul
- V atmosféře snadno vzniká působením výbojů a je nesnadno destruktivně UV zářením
- Bohužel snadno reaguje s H<sub>2</sub>O za vzniku formamidu a posléze HCOOH...



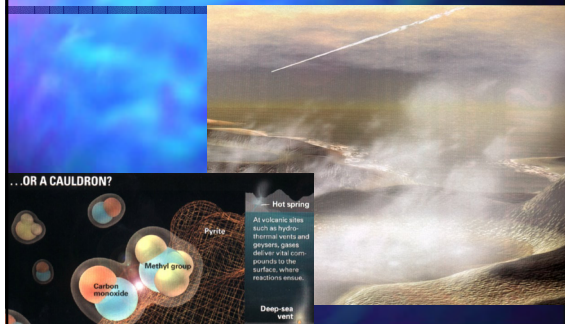
# Počátky života

## Vznikl život na ledové Zemi...





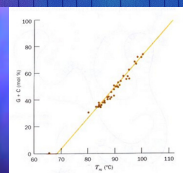
## Počátky života nebo v horkém zídle?



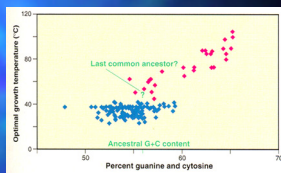
## Počátky života v Darwinově teplém rybníčku...



## Počátky života Nikdo to nerad horké...



Teplota tání DNA dle zastoupení G + C párů



Analýza společného předka na základě zastoupení G + C párů v rRNA

### ■ Poločasy rozpadů jednotlivých bází

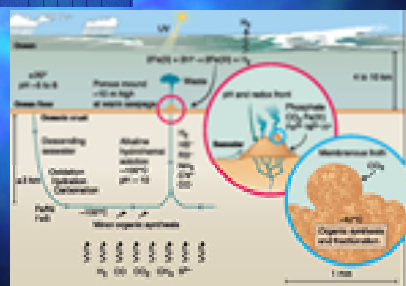
- Při 100 °C – C 19 dní, A G U 12 let, při 0 °C – C 17 000 let, A G U 600 000 let

### ■ Poločasy rozpadů cukrů

- Při 100 °C – 73 minut, při 0 °C – 44 let

R. Larralde et al. PNAS 92 (1995) 8158. S. Levy & S. Miller Science 302 (1998) 618.

## Počátky života Složitost první organické syntézy



Hanczyk et al. Science 302 (2003) 618.

## Počátky života Spletité cesty života...

