А. Гусев. Электромагнитные волны как источник свободной энергии для живых систем (В.А. Гусев)

ON 21 СЕНТЯБРЬ 2012. POSTED IN НАУЧНЫЕ КНИГИ

Электромагнитные волны как источник свободной энергии для живых систем
Эксперимент и теория*

В.А. Гусев

Институт математики им. С.Л. Соболева СО РАН, Новосибирск, Новосибирский государственный университет, Россия

* **LAP LAMBERT Academic Publishing** - ISBN-13: 978-3-8473-3271-8

Оглавление

Введение I 3

Wave in the water 13

Глоссарий 13

Введение II 15

Глава 1 Обзор экспериментальных результатов 19

1.1 История феномена амплификации в бессубстратных условиях, ключевые эксперименты, молекулярный баланс масс 19

1.2 Динамика микробных популяций в бессубстратных условиях при дополнительной электромагнитной изоляции от окружающей среды 25

1.3 Кооперативные эффекты 28

1.3.1 Вариации числа жизнеспособных клеток 28

1.3.2 Распределение числа жизнеспособных клеток в квазидвумерных и квазиодномерных популяциях 32

1.3.3 Устойчивость к ультрафиолету 35

1.3.4 Влияние инкубационного объема на амплификацию 36

1.3.5 Локальная нелинейность зависимости числа жизнеспособных клеток от объема пробы 37

1.3.6 Нелинейные концентрационные эффекты 39

1.3.7 Сезонные вариации амплификационной активности клеток 41

1.4 Вариации спонтанного фона хромосомных мутаций в условиях субстратного голода 43

1.5 Статистические закономерности в динамике популяций клеток *E.coli* 49

1.6 Фрактальные свойства популяции клеток *E.coli* 56

1.7Дискретная структура гистограмм, описывающих распределение жизнеспособных клеток в объеме популяции 60

Заключение к Главе 1 65

Глава 2 Построение моделей 67

2.1 Математическое моделирование 67

2.1.1Описание кривых роста и стационарного состояния популяций 67

2.2 Физическое моделирование 70

2.2.1Разрешение первых двух противоречий 71

2.2.2 Разрешение противоречия №3 88
2.2.3 Разрешение противоречия №4 92
2.2.4 Эффект Олли и нижняя критическая концентрация клеток в популяции микроорганизмов 101
Глава 3 Структура и свойства воды в динамике популяций микроорганизмов 105
3.1 Конвективная неустойчивость воды 105
3.2 Нелинейные явления в динамике популяции микроорганизмов как следствие динамической неустойчивости воды 114
Глава 4 Гипотезы 127
4.1 Историческая справка 111 127
4.2 Есть ли еще жизнь в Солнечной системе? 130
4.3 Что такое жизнь? 133
4.4 Генетический код 136
4.5 Хиральность структурных элементов генетического кода 166
4.6 Капельная гипотеза химической стадии эволюции 171
4.7 Возможный сценарий перехода капельного каталитического реактора к состоянию самовоспроизводящейся системы 180
Заключение 187
Список числовых констант 189
Список философских определений 190
Литература 191

Введение I

В связи с массовым внедрением мобильной телефонной связи у медицинских работников появились пока в основном интуитивные опасения за здоровье ее пользователей. Дело в том, что формально сотовые телефоны удовлетворяют требованиям санитарных норм о предельно допустимых дозах. Но исследования последних лет группы ученых из Новосибирского научного центра и из Вашингтонского университета показали, что такой формальный подход явно не отражает сущности влияния радиоволн на биосферу.

История, о которой пойдет здесь речь, началась в 1957 г. В солидном отечественном научном журнале «Микробиология» два автора Елин В.Л. и Калиненко В.О. независимо друг от друга опубликовали ошеломляющие результаты. Оказалось, что всем известная кишечная палочка, естественной средой обитания которой являются наши с вами (и не только) кишечники, способна также комфортно жить в обычном солевом растворе и даже успешно размножаться в нем при полном отсутствии органического вещества – основного источника строительного материала и энергии. Коллеги тут же устыдили авторов за «неграмотно» поставленные эксперименты, редактора журнала, опубликовавшего такую «ересь», пожурили, и страсти улеглись ровно на тридцать лет и три года – именно столько времени не было никаких упоминаний об этом явлении в научных журналах.

А в 1990 и 1992 годах в солидных отечественных журналах две группы авторов, опять же независимо друг от друга, публикуют аналогичные результаты. Научные баталии вспыхнули с новой силой и, как выразился позже один из критиков этого феномена, смысл дискуссии, по сути, сводился к вопросу: «Может ли быть то, чего быть не может?» Действительно, может ли паровоз без дров или угля, тянуть железнодорожный состав или автомобиль без заправки топливом двигаться? Ответ очевиден – нет, ни паровоз, ни автомобиль выполнять свои функции без дозаправки не могут.

Для биологов было очевидно, что в отсутствие источника энергии, каковым для кишечной палочки может быть только органическое вещество, размножение микробов в солевом растворе невероятно. И хоть источник главного строительного материала клеток микроорганизмов углерод всегда присутствует в воде в виде растворенного атмосферного углекислого газа, но он

все равно не может быть использован для строительства клеточной биомассы из-за отсутствия органического источника энергии. Аналогия простая – при наличии какого угодно количества строительного материала (кирпичей, панелей и т.д.) дом нельзя построить, если транспортные средства (экскаваторы, подъемные краны и др.) не будут обеспечены источниками энергии.

Поучителен, хотя и достаточно банален сам факт возбуждения второй волны интереса ученых к феномену размножения микроорганизмов в дистиллированной воде. Банален потому что реанимация этого открытия произошла «почти случайно». Студентка факультета естественных наук Новосибирского университета Надя Бобровская (теперь уже солидная ученая дама Nadejda Neigel, работающая в Германии в Институте биотехнологии и исследования биологически активных веществ) училась размножать микробы в пробирке и, как это всегда бывает поначалу, делала что-нибудь да не так. В данном случае элементарно забыла добавить микробам глюкозу в пробирку, в которой они плавали в водном растворе необходимых им солей. Глюкоза, как известно, является универсальным источником углерода и энергии для размножения кишечной палочки в водном солевом растворе. И тем не менее… через сутки микроорганизмы размножились - их концентрация выросла в десять тысяч раз по сравнению с исходной!!! Было над чем подумать руководителю дипломницы – в данном случае автору монографии.

Начались многолетние поиски «подводных камней» - необходимо было найти источник, откуда в пробирку с дистиллированной водой могла попасть органика, ведь всем же было тогда очевидно, что кишечная палочка не может без нее размножаться. Чистили воду путем многократной перегонки, то есть дистиллированную воду еще несколько раз дистиллировали, удаляли возможные органические примеси дополнительной обработкой воды неорганическими окислителями… За пять лет поиска так и не нашли источник органики, а как потом оказалось его попросту не было. Необходим был толчок извне, чтобы исследователи могли, наконец, свернуть с ортодоксального пути мышления, и он произошел. Толчком к разгадке феномена размножения микробов в чистой дистиллированной воде послужили эксперименты с дополнительным экранированием пробирок с водой и микробами от внешнего электромагнитного фона.

Как правило, мы не задумываемся о том, что живем и купаемся в океане из бесчисленного сонма электромагнитных волн. Лишь маленькая толика их в виде света с длиной волны в несколько долей микрона доступна нам в ощущениях. А через радио- и телеприемники мы слышим и видим более красочный мир в широком диапазоне длин электромагнитных волн от километров до метров и даже сантиметров. Осознание того, что мы живем на дне океана из электромагнитных волн приходит когда мы оказываемся в метро или в горной местности, а любители экстрима глубоко в пещере – там пропадает радиосвязь: мобильные телефоны и переносные радиоприемники начинают «сбоить». Причина проста и хорошо известна - туда попросту не доходят радиоволны. Все приемники радиоволн экранируются толстым слоем электропроводящей среды.

Аналогичный «сбой» стал наблюдаться и с микробами при попытке обнаружить их размножение в пробирке с водой, помещенной в толстостенную металлическую камеру. Вместо размножения, когда после суток выдерживания в обычных условиях их концентрация возрастала в десятки тысяч раз, в металлической камере за это же время происходило полное вымирание микроорганизмов.

У исследователей появились серьезные основания предполагать, что каждый микроб прямо или косвенно является приемником радиоволн, которые, способны снабжать его энергией, необходимой не только для выживания в столь голодных условиях, но и еще обеспечить возможность размножиться, то есть оставить свое потомство.

В конце концов, все зеленые растения и фотосинтетические микроорганизмы тоже используют для своего размножения кванты электромагнитных волн видимого диапазона в качестве источника энергии. Но каждый такой квант несет энергию как минимум в десять миллионов раз ‘большую, чем электромагнитный квант из радиодиапазона. Энергии радиокванта хватит лишь для того, чтобы чуть-чуть «пошуметь», то есть поколебать молекулы воды и не более того. Но для того, чтобы эффективно использовать кванты радиодиапазона для синтеза органического вещества клетки микроорганизма, необходим аккумулятор электромагнитной энергии.

Единственным постоянно действующим электрическим аккумулятором в клетках микроорганизмов является покрывающая их цитоплазматическая мембрана. Другими словами, тело микроба в данном случае кишечной палочки покрыто двумя цилиндрами с чуть отличающимися радиусами (для тех, кто помнит школьный курс физики - это своеобразный цилиндрический конденсатор). В живой клетке микроба этот электрический конденсатор должен быть всегда заряжен – это необходимое условие для ее жизни. Ввиду близости поверхностей цилиндров друг к другу, напряженность электрического поля между ними достигает десятков миллионов вольт на метр (для примера, напряженность естественного электрического поля вблизи поверхности Земли составляет всего 100-130 вольт на метр).

В «стандартных» ростовых условиях (например, в кишечнике) зарядку цитоплазматической мембраны микроорганизма осуществляют внутриклеточные ферменты, используя при этом химическую энергию органического вещества окружающей среды. Вся земная биота (то есть все живое от микробов до человека) живет по единому энергетическому принципу – органическое вещество окружающей среды «сжигается», то есть окисляется в биохимических «топках», а часть этой энергии переходит в электрическую форму в виде заряда цитоплазматической мембраны. Это своеобразный способ унификации энергии: исходный источник - это любой вид органики (или восстановленных форм неорганического вещества), а конечный аккумулятор универсален – это потенциальная энергия электрически заряженной цитоплазматической мембраны. Частично повторяя живую природу, по этому пути пошла и наша цивилизация - исходные источники энергии для электрических станций самые разнообразные: солнце, ветер, углеводородное сырье, распад радиоактивных элементов и т.д., а в финале опять таки электричество.

Но и это еще не все. Ведь электрическая энергия не может непосредственно использоваться при синтезе различных сложных молекулярных комплексов микроорганизма - сначала ее необходимо трансформировать опять таки в химическую, то есть доступную для внутриклеточных биохимических процессов форму. Таковой является химическая энергия, запасенная в универсальном химическом аккумуляторе -

молекуле АТФ или аденозинтрифосфате. Осуществляют эту трансформацию АТФ-синтазы - ферменты, встроенные в цитоплазматическую мембрану. Подробно узнать об этих удивительных ферментах можно на сайте http://www.nature.ru/db/msg.html?mid=1159499&s=110300020. Здесь только отметим, что при разрядке мембраны заряды, протекающие через АТФ-синтазы, заставляют вращаться эти ферменты как настоящие электрические моторы с частотой несколько сотен оборотов в секунду. Конечным результатом этих сложных молекулярных процессов, протекающих в цитоплазматической мембране, является синтез молекул АТФ. Таким образом, электрическая энергия преобразуется в химическую.

Поскольку в экспериментах, описанных выше, органического вещества по определению нет, возникает естественный вопрос – какие процессы внутри микроба или в окружающей среде, то есть в чистой дистиллированной воде поддерживают заряд на мембране? Для того чтобы ответить на этот вопрос, нам необходимо кое-что узнать о физико-химических свойствах воды.

В отличие от простых жидкостей, таких как жидкий азот, жидкий метан и др., в которых молекулы удерживаются в жидком состоянии за счет электрических сил (эти силы в сотни раз слабее тех сил, которые связывают, например, атомы водорода и углерода в молекуле метана), вода занимает особое положение – ее молекулы способны обмениваться атомами водорода. Атомы водорода способны относительно свободно перемещаться по всему объему воды.

Таким образом, молекулы жидкой воды имеют дополнительную связь – каждая связана со всеми путем обмена атомами водорода. Эта же связь сохраняется и во льду. Образно можно представить это так, что жидкая вода - это очень большая молекула размером с тот сосуд, объем которого она занимает. Есть даже теоретические расчеты, из которых следует, что два айсберга – один в Арктике, другой в Антарктике могут быть связаны единой нитью водных молекул за счет водородных связей. Конечно, эта связь не может удержать оба айсберга вместе – слишком слаба, но сам факт возможности этой связи впечатляет.

Теперь потревожим наши знания из школьной химии. Как вы помните, жидкая вода состоит не только из нейтральных молекул H_2O (в одном

кубическом сантиметре их содержится 3.3×10^{22} штук). За счет теплового движения некоторые молекулы приобретают кинетическую энергию, которой достаточно, чтобы осуществить диссоциацию молекул по типу $H_2O \rightarrow H^+ + OH^-$. Таких диссоциированных молекул при нейтральных значениях pH в десятки миллионов раз меньше, чем полноценных целых молекул.

Но именно за счет наличия таких заряженных ионов вода приобретает новое физическое свойство – на научном языке это звучит так: вода обладает свойствами конденсированной нейтральной плазмы. Про газовую плазму читатель наверняка знает. В верхних слоях земной атмосферы существует так называемая ионосфера – смесь положительно и отрицательно заряженных ионов, которая и является разреженной нейтральной газовой плазмой.

Замечательным свойством любой плазмы, в которой ионы могут свободно (без столкновений друг с другом) перемещаться на значительные расстояния, является наличие так называемых лэнгмюровских резонансных частот колебаний ионов. Молекулярный механизм их возникновения очень прост: поскольку ионы могут свободно перемещаться в газе, в его объеме будут случайным образом чередоваться области с отрицательным и положительным зарядами.

Этот случайный процесс можно сделать управляемым, если на такую плазму направить пучок электромагнитных волн, частота которых совпадает с резонансной лэнгмюровской частотой. Тогда ионы будут двигаться в такт с частотой падающей волны, а амплитуда, то есть размер зон с чередующимися положительными и отрицательными зарядами будет с течением времени нарастать. Когда мы хотим раскачать качели, мы поступаем точно также – придаем дополнительный толчок качелям, причем действуем в такт с их колебаниями. Таким образом, можно слабыми усилиями сильно раскачать тяжелые качели.

В обычной газовой плазме «раскачиваются» на своих резонансных частотах в основном электроны, так как они почти в две тысячи раз легче протона, да и газ разреженный, поэтому, не сталкиваясь ни друг с другом, ни с тяжелыми ионами, электроны могут накапливать большую энергию. А как эту плазменную идею перевести на воду - плотную конденсированную среду?

Как это ни покажется парадоксальным, но оказывается можно и очень даже просто! Как уже было сказано, атом водорода является непоседой и способен перемещаться по трехмерной сети водородных связей. Молекулы воды испытывают тепловое движение, то есть колебания и вращение вблизи своего места посадки. Вращаясь, они перекидывают друг другу атом водорода – «играют в пинг-понг» по механизму Grotthus (Song Hi Lee 2001). Этот переброс обрывается, когда между двумя соседними молекулами рвется водородная связь. Используя теннисную терминологию можно сказать, что атом водорода как теннисный мяч врезался в сетку и потерял накопленную энергию. Чтобы приобрести новую порцию кинетической энергии - все надо начинать сначала.

Аналогичным образом ведут себя не только нейтральные атомы водорода, но и ионы H^+. Формально при диссоциации молекулы H_2O теряют атом водорода, но образовавшийся ион H^+ не отрывается полностью от трехмерной сети водородных связей (иначе его подвижность в воде возрастала бы в сотни тысяч раз – чего не наблюдается экспериментально). И вот такой ион может свободно, не сталкиваясь с плотно расположенными молекулами, двигаться от одного разрыва водородной связи до другого. Теоретические расчеты показывают, что длина свободного пробега иона H^+ составляет при нейтральном pH=7 целых семь микрометров! Это почти в сто тысяч раз больше межмолекулярных расстояний.

Таким образом, в конденсированной среде, каковой является вода возможно протекание таких же процессов, что и в разреженной газовой плазме. Там основным движущимся зарядом является электрон, а в воде эту же функцию выполняет ион водорода.

Теперь уже легко построить всю схему энергообеспечения микробной клетки в чистой воде. Ионы водорода разгоняются внешним электромагнитным полем. Когда кинетической энергии иона становится достаточно для проникновения через электрический барьер мембраны происходит фиксация иона на мембране, то есть ее подзарядка.

АТФ-синтазы используют эту электрическую энергию для синтеза АТФ и далее, как говорят математики – задача сводится к известной. Ферментативный аппарат клетки обеспечен универсальным источником энергии и может выполнять все биохимические функции по поддержанию

жизни внутри микроба и даже воспроизводить его. Как уже было сказано, всех необходимых для размножения микроба химических элементов в самой чистой воде вполне достаточно – углерод, азот из атмосферы, водород и кислород из воды, минорные элементы (фосфор, сера, натрий, калий и т.д.) поступают в воду из стекла, которое выщелачивается в процессе приготовления дистиллированной воды.

На этом можно было бы закончить эту обычную историю о судьбе научных открытий, но здесь еще ничего не было сказано о конкретной величине длин волн или частот внешнего электромагнитного излучения, на которых способны «раскачиваться» протоны. Чтобы не утомлять читателя длинными расчетами, все они опубликованы в научных журналах (Биофизика. Т. 46, N5, с. 862-878) и на сайте издательства Springer http://www.springerlink.com/index/10.1007/s00114-004-0594-9, рассмотрим конечный результат – резонансные частоты для возбуждения колебаний ионов водорода при нейтральном pH составляют несколько сотен миллионов колебаний в секунду (конкретное значение частоты зависит еще от многих факторов). Знатоки мобильной связи сразу узнали, что радиоволны в диапазоне частот сотен мегагерц - это тот самый диапазон радиоволн, на которых работает мобильная и спутниковая связь.

Пример первый – персонифицированный. Радиоволны с такими частотами легко проникают в нашу черепную коробку и могут влиять на заряд мембран нервных клеток, а в конечном итоге на процессы, связанные с работой нашей нервной системы. Поскольку все ткани человека в разной степени проницаемы для радиоволн этого диапазона, то можно ожидать влияния «мобильников» и на физиологические реакции человека. Не исключено, что опасения медиков о возможных негативных (а может и позитивных, кто знает?) последствиях для пользователей мобильной телефонной связью имеют серьезные основания. Как говорят англичане “no comments”, а русские – «поживем - увидим».

Пример второй из области глобальной экологии. Астрономы за последние 10-15 лет обнаружили несколько сотен звезд, вокруг которых обращаются планеты. Представим себе, что возле какой-то из этих звезд существует обитаемая планета. И астрономы на этой планете в течение

последних 100 лет наблюдали наше Солнце в оптические и радиотелескопы. Тогда они обнаружили бы превращение Солнца из обычной оптической звезды в радиозвезду. Солнце до 1930 года было звездой, хорошо видимой в оптической части электромагнитного спектра и едва различимой в радиодиапазоне. За какие-то семьдесят лет (по звездным масштабам времен это миг) Солнце буквально вспыхнуло в радиодиапазоне электромагнитных волн как хорошая радиозвезда. И не потому, что Солнце стало ярче светить в радиодиапазоне, а потому, что на Земле сейчас «полыхает» огромное количество радиостанций, а до 1930 года не было ни одного круглосуточно работающего мощного радиоисточника. Единственным источником радиоволн были грозы. Сейчас же мы живем на дне гигантского океана из электромагнитных волн, насыщенность которыми возрастает год от года.

Это еще один пример активного воздействия царя природы вида *Homo sapiens* на свою собственную среду обитания – мы не только распахиваем целинные земли, создаем искусственные моря, изменяем состав атмосферы в пользу парникового эффекта, но и создаем не существовавший до нас на Земле океан радиоволн.

Таким образом, исследуя жизнь микробов в чистой воде, мы естественным образом подошли к пониманию молекулярного механизма воздействия нового экологического фактора неионизирующего электромагнитного излучения на биосферу Земли. Здесь необходимо отметить, что от открытия феномена выживаемости и размножения микроорганизмов в чистой воде до понимания его сути прошло сорок с лишним лет. И возможно это стало лишь после того как биологи, химики, физики и математики объединили свои усилия. Это конкретный пример, свидетельствующий о пользе интеграции наук для более глубокого понимания мира и осознания неразрывной связи живой и неживой материи.

Wave in the water

(опубликована в http://www.naturalhistorymag.com/0605/0605_samplings.html)

Here's a conundrum: even in the purest of ultrapurified water, microorganisms live and even multiply. Does the water retain trace amounts of nutrients? Do the microorganisms somehow manufacture their own food? Do they cannibalize one another?

Dissatisfied with those explanations, Victor A. Gusev of the Sobolev Institute of Mathematics in Novosibirsk, Russia, and Dirk Schulze-Makuch of Washington State University in Pullman came up with another one. Gusev, a biophysicist, and Schulze-Makuch, a geobiologist, propose that low-frequency electromagnetic waves from the Sun and Earth—specifically radio waves, a form of radiation that's less energetic than visible light—may provide the necessary energy.

To test their hypothesis, the investigators grew cultures of Escherichia coli bacteria in superdistilled water. They shielded some of the cultures from all electromagnetic waves by placing them in an airtight metal chamber, and permitted only low-frequency waves to reach the other cultures. The results were unequivocal: nearly all the bacterial populations deprived of radiation died out within a week, whereas nearly all the populations exposed to radiation survived.

The investigators' explanation is that free protons, generated by the continual dissociation of water molecules under ordinary conditions, are excited by naturally occurring electromagnetic waves. The protons accumulate enough kinetic energy that by the time they reach the bacteria's cell membrane, they can form high-energy chemical bonds—in other words, usable energy. (Naturwissenschaften 92:115–20, 2005).

Глоссарий

1. Автотрофы – *микроорганизмы, не нуждающиеся в органических источниках энергии.*
2. Амплификация – *размножение.*
3. Гетеротрофны - *микроорганизмы, использующие в качестве источников энергии и углерода только органические молекулы.*
4. Морфологические, иммунологические, физиологические признаки – *свойства микроорганизмов, по которым их относят к разным классам.*
5. Субстраты - *источники питания.*
6. Физиологический раствор - *0.8% раствор поваренной соли NaCl.*

Введение II

Начиная с середины 50-х годов прошлого столетия, в научной литературе стали эпизодически появляться публикации о том, что их авторы сталкиваются с необычным явлением амплификации (*размножением*) некоторых гетеротрофных (*питающимися только органическими молекулами*) микроорганизмов в физиологическом растворе (*0.8% раствор повареной соли*) (Елин 1957; Калиненко 1957). Была введена даже специальная терминология - амплификация в условиях «следового количества органических субстратов» (Мясник 1969), что позволило авторам опубликовать результаты, которые в корне противоречили «здравому смыслу». Дело в том, что гетеротрофы, для роста которых считалось необходимым наличие органических субстратов (*источников питания*) и сбалансированной солевой среды, не должны размножаться в физрастворе и тем более в обычной дистиллированной воде. Это – непогрешимый постулат микробиологов.

Феномен бессубстратной амплификации заинтриговывал, но, как правило, авторы ограничивались одной-двумя публикациями – адекватной интерпретации эксперименты не получали и интерес к феномену под давлением «очевидных» противоречий быстро пропадал.

Драматичность ситуации заключалась еще и в том, что в основе классификации микроорганизмов лежат их различия по морфологическим, иммунологическим, физиологическим и другим признакам. В этот же набор признаков естественным образом входят и различия по источникам питания и энергии. Последние входят в состав основных критериев классификации штаммов природной микрофлоры. Очевидно, что, допустив возможность трансформации природных гетеротрофных видов в автотрофные, микробиологи потеряли бы один из мощных классификационных критериев, в результате чего потребовался бы пересмотр всей сложившейся схемы классификации (Bergey's Man. Syst. Bact., 1984, 1986).

Все это являлось серьезным доводом, на основании которого были фактически отвергнуты результаты работ, выполненные в середине 50-х годов. Длительное время микробиологи пытались объяснять размножение микроорганизмов в неадекватных условиях тем, что живые клетки питаются

отмирающими, используя их в качестве криптического субстрата (Головлев 1998). Несомненно нет оснований отрицать такую возможность для поддержания в течение некоторого времени жизнеспособности клеток. Однако, объяснить их размножение таким путем уже невозможно – второй закон термодинамики запрещает этот процесс. Действительно, любой внутриклеточный биосинтез макромолекул требует энергии больше, нежели представляет собой разность энергий, запасенная в начальном и конечном продуктах. Всегда имеются потери энергии в тепловой резервуар (Кальве, Прат 1963). Элементарный расчет показывает, что к.п.д. в цепи полного окисления глюкозы - гликолизе, цикле трикарбоновых кислот и окислительном фосфорилировании не превышает 70%. Это означает, что число вновь синтезированных из криптического субстрата клеток будет как минимум на 30% меньше, чем их исходное количество. Иными словами, общее число живых клеток может только уменьшаться со временем. Однако, в популяции микроорганизмов *E.coli,* полностью изолированной от внешних органических источников в физрастворе или дистиллированной воде, помещенной в термостат, за сутки концентрация клеток может вырасти на три - четыре порядка (Чернощеков, Лепехин 1992).

Эти результаты, а также данные о природных и лабораторных сообществах микроорганизмов (Kayser et al. 1975; Gough et al. 1986; Vess et al. 1993; Wagner and Skipper 1993; McFeters et al. 1993; Oliver 1993; Романова, Гинцбург 1993; Nogami et al. 1996; Perera and Satterfield 1996; Matsuda et al. 1996; McAlister et al. 2002; Kulakov et al. 2002), сохраняющих длительное время жизнеспособность в условиях, при которых они согласно той же микробиологической парадигме «обязаны» только вымирать, не позволяют просто отмахнуться от феномена бессубстратной амплификации гетеротрофов. Под давлением этих фактов необходимо провести скрупулезный анализ и пересмотр микробиологической парадигмы для объяснения неукладывающихся в нее экспериментальных данных.

Мы впервые обнаружили это явление в 1986 году при исследовании динамики популяции *E.coli* в бессубстратных условиях. Неординарность явления не позволила сразу же опубликовать результаты. Начался длительный поиск возможных источников органического субстрата в солевых буферах и дистиллированной воде. Результатом этого поиска явился вывод о том, что все

необходимые компоненты для построения клеточной биомассы могут поступать в инкубационный объем только из атмосферы - углерод и азот в виде их окислов, а минорные компоненты (фосфор, сера и ионы металлов) из стенок стеклянной посуды, в процессе ее выщелачивания (Хим. энциклопедия 1988, т. 4, с. 422). Источником кислорода и водорода, естественно, является вода.

Материальный источник биомассы был установлен, но адекватной интерпретации феномен амплификации по-прежнему не получил. В отсутствии химических источников свободной энергии: сахаров, другой водо-растворимой органики, например, глицерола, аминокислот, либо промежуточных продуктов гликолиза или АТФ клетки гетеротрофных микроорганизмов *E.coli,* согласно литературным данным (Герхард 1983), не способны осуществлять биохимический синтез. В процессе поиска источников свободной энергии и исследования динамики микроорганизмов в бессубстратных условиях нами был выявлен ряд закономерностей, которые не имеют адекватной интерпретации в рамках чисто биологических категорий.

Методологический подход, развиваемый в данной монографии, выходит за рамки биологических представлений и наряду с биологическими оперирует физическими понятиями. Любая конкретная область знаний весьма консервативна по отношению к введению новых терминов, понятий и категорий. Возможно, это является одной из причин, по которой биологи не могут объяснить в рамках своих категорий феномен выживаемости и амплификации неспорообразующих гетеротрофных микроорганизмов в экстремальных условиях субстратного голода.

Целью данной работы является систематизация экспериментального материала о динамике гетеротрофных микроорганизмов в бессубстратных условиях и построение обобщенной биофизической модели этого явления.

Глава 1. Обзор экспериментальных результатов

1.1 История феномена амплификации в бессубстратных условиях, ключевые эксперименты, молекулярный баланс масс

Клетки некоторых гетеротрофных микроорганизмов, в частности, *E.coli* после определенной подготовки приобретают способность размножаться в среде, не содержащей органического субстрата. В первых экспериментах, проведенных в 50-х и 60-х годах прошлого столетия, не исключалось присутствие органических молекул «в исчезающе малой концентрации» (Калиненко 1957; Елин 1957; Мясник 1969). В последующих работах авторы применяли специальные методы очистки: остаточный органический субстрат после перегонки воды окислялся сильным неорганическим окислителем, затем вода подвергалась дополнительно многократной перегонке. Клетки микроорганизмов промывались этой водой, затем готовилась рабочая суспензия клеток с начальной концентрацией 10^2–10^3 см$^{-3}$. Для этого исходная концентрированная суспензия клеток разбавлялась в 10^8–10^7 раз. Сразу после приготовления рабочая суспензия клеток герметически закрывалась и инкубировалась при температуре 22-37^{o}C. Через 1-2 суток ампулы вскрывались и анализировались на наличие в них живых клеток. Как правило, оказывалось, что их концентрация 10^5-10^6 см$^{-3}$, что многократно превышало исходную концентрацию 10^2-10^3 см$^{-3}$.

Легко подсчитать, что количество органического субстрата, необходимое для амплификации клеток в 10^3 – 10^4 раз не может содержаться в качестве запасных веществ в полисахаридной капсуле или стенках исходных клеток. Кроме того, как показали авторы (Чернощеков, Лепехин 1992) (эти данные подтверждены в наших исследованиях), клетки в этих условиях не теряют способность размножаться при многократном пассировании в бессубстратной среде - что совершенно исключает возможность использования клетками остаточных запасных веществ клеточных стенок для воспроизводства дочерних клеток. Здесь следует еще раз отметить, что независимо от степени изоляции клеток от возможных источников органических субстратов, во всех указанных работах авторы наблюдали одну общую закономерность. При произвольной начальной концентрации клеток от 10^2 до 10^6 см$^{-3}$ конечная концентрация через

1-2 суток инкубирования при температуре 22–37°С составляла (2-5)×10^6 $см^{-3}$ (рис. 1.1.1 – верхняя кривая, рис. 1.1.2).

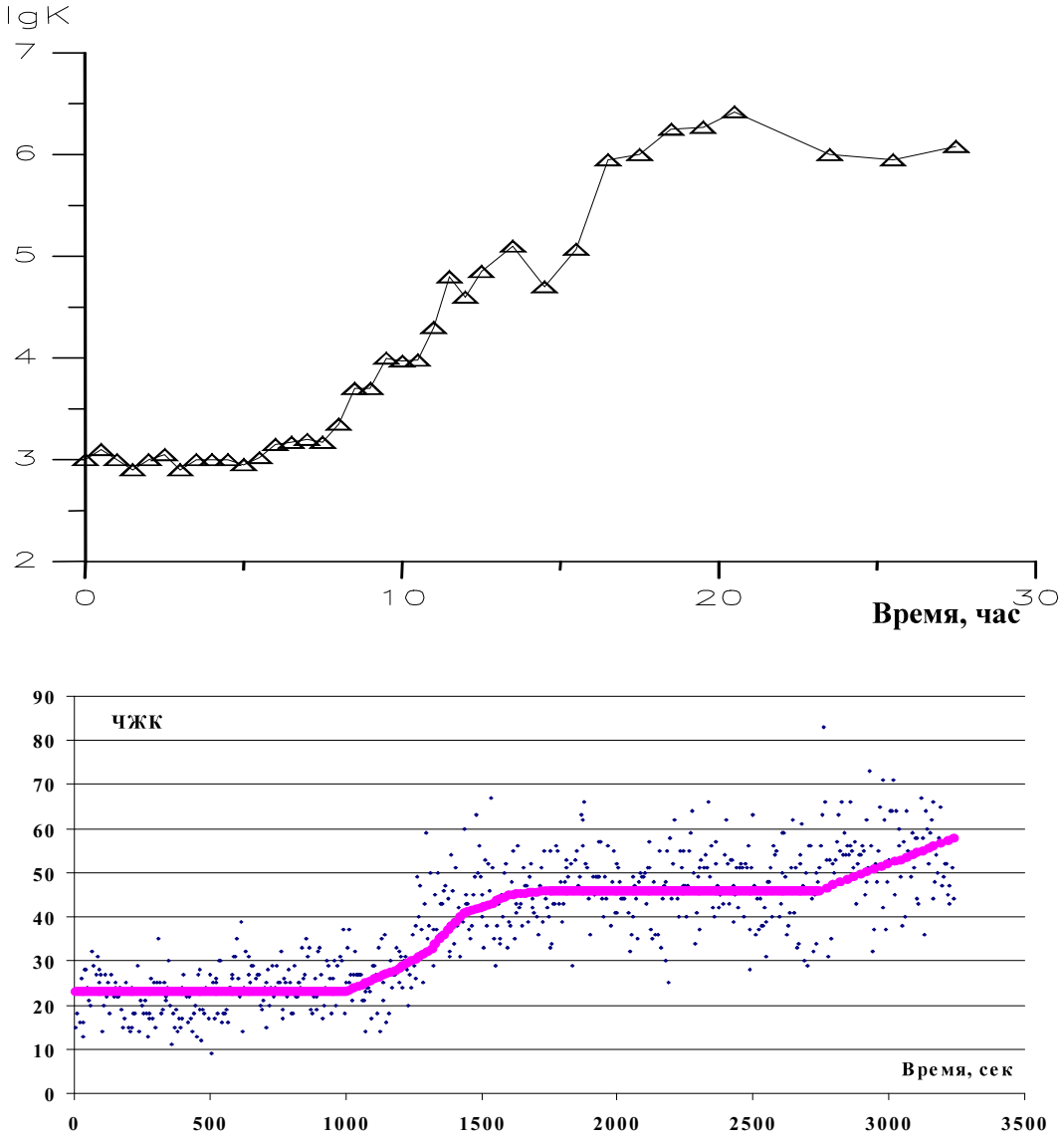


Рис. 1.1.1. Амплификация клеток *E.coli* в дистиллированной воде. По оси ординат для верхней кривой десятичный логарифм концентрации клеток в мл, температура инкубирования 37°С, время удвоения клеток, усредненное в интервале между 10 - 20 часами, составляет $\tau_2 \cong 60$ мин. По оси ординат для нижней кривой ЧЖК в отбираемой пробе объемом 10 мкл, температура инкубирования 22°С, время удвоения $\tau_2 \cong 20$ мин

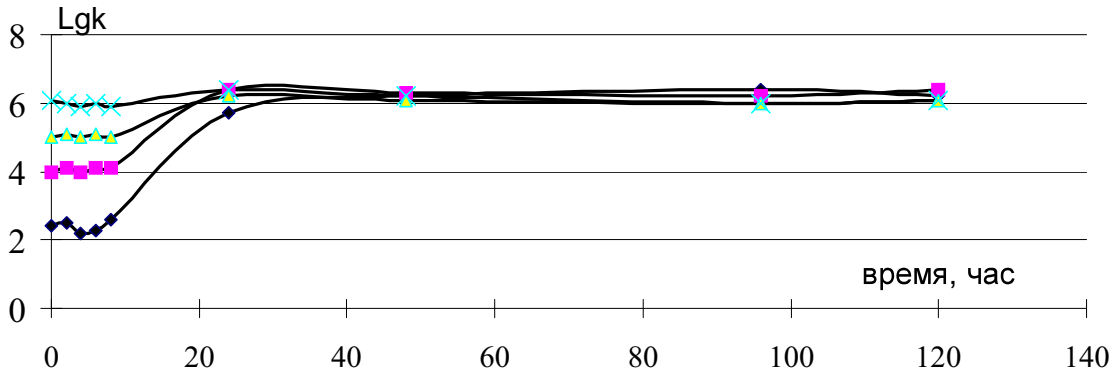


Рис. 1.1.2. Независимость конечного стационарного состояния популяции от начальной концентрации клеток. По оси ординат десятичный логарифм конценрации клеток в мл, температура инкубирования 22°С

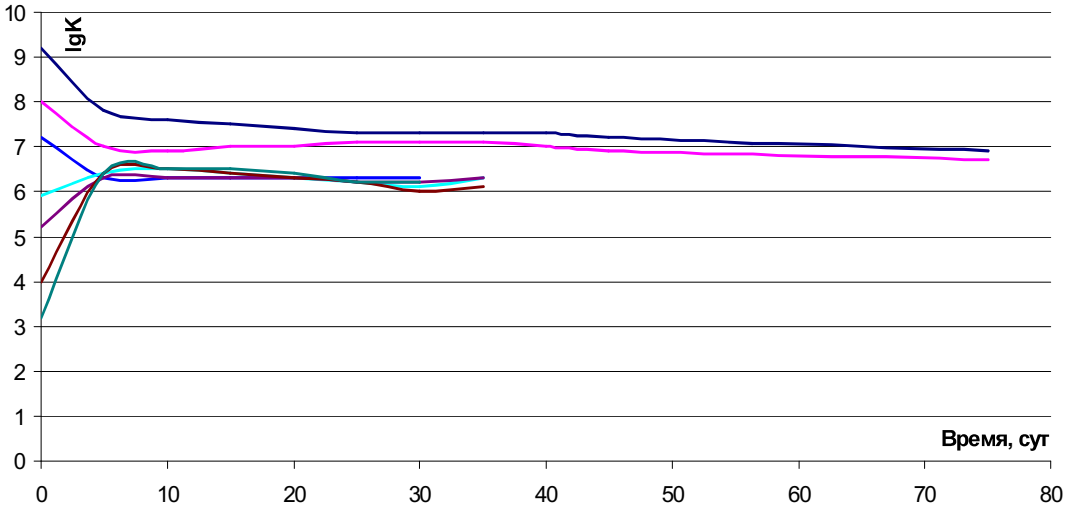


Рис.1.1.3. Динамика популяций при инкубировании в дистиллированной воде с различной начальной концентрацией клеток. По оси ординат десятичный логарифм концентрации клеток в мл, температура инкубирования 22°С

Если же начальная концентрация клеток превышала это значение, тем не менее, через несколько суток все популяции асимптотически стремились к указанному устойчивому состоянию (рис. 1.1.3). Амплификация клеток происходит квазисинхронно, время удвоения клеток, усредненное по экспоненциальной фазе, составляет $\tau_2 \cong 60$ мин (верхняя кривая на рис. 1.1.1).

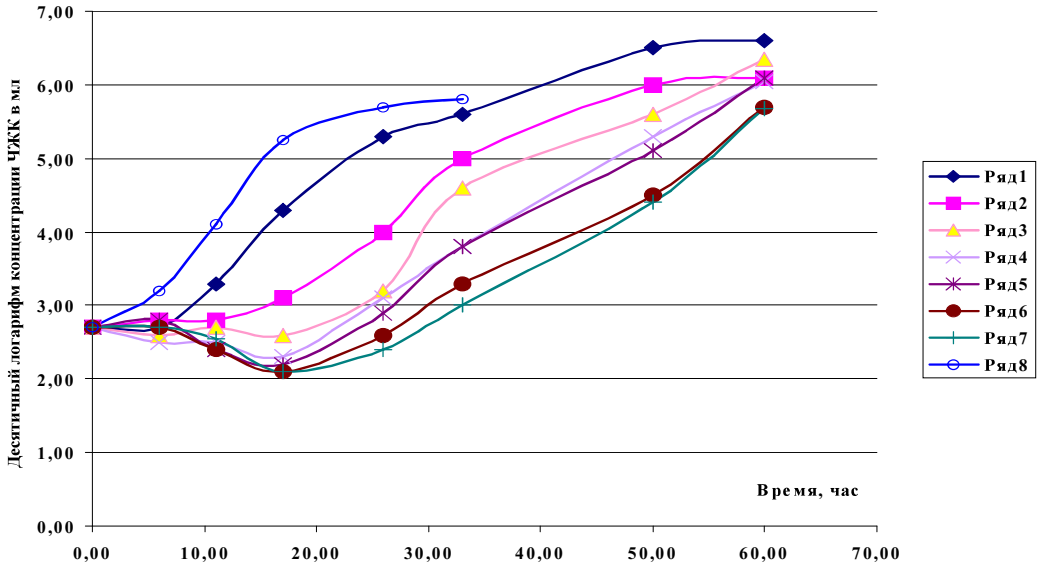


Рис. 1.1.4. Зависимость динамики амплификации клеток от концентрации NaCl. Температура инкубирования 37^{o}C, маркер 8 соответствует дистиллированной воде, далее 1 – 0.12, 2 – 0.14, 3 – 0.15, 4 – 0.16, 5 – 0.17, 6 и 7 – 0.18M NaCl

В отдельных экспериментах наблюдается практически синхронное деление клеток в течение двух циклов и время генерации $\tau_2 \cong 20$ мин (нижняя кривая на рис. 1.1.1) не отличается от времени удвоения клеток в полноценной сбалансированной ростовой среде (Герхард 1983), что само по себе является удивительным фактом. Предельная концентрация клеток, как указано выше, достигала величины $(2\text{-}5)\times10^{6}$ см$^{-3}$. В этом стационарном состоянии, испытывая некоторые вариации числа жизнеспособных клеток, популяция может находиться длительное время - максимальный срок (но не предельный!), в течение которого мы вели регулярные наблюдения составляет 9 месяцев. По данным авторов (Аркадьева и др. 1987) микроорганизмы в дистиллированной воде проявляли жизнеспособность более 7-ми лет. Добавка в дистиллированную воду неорганических одновалентных ионов Na^{+} и Cl^{-} не сказывается на предельной концентрации клеток, но время, необходимое для ее достижения увеличивается пропорционально концентрации ионов (рис. 1.1.4). Необычной оказалась реакция клеток на естественный субстрат глюкозу. Добавка ее в дистиллированную воду до оптимальной концентрации, соответствующей сбалансированной ростовой среде 0.2-0.4% приводила к летальному эффекту (рис. 1.1.5).

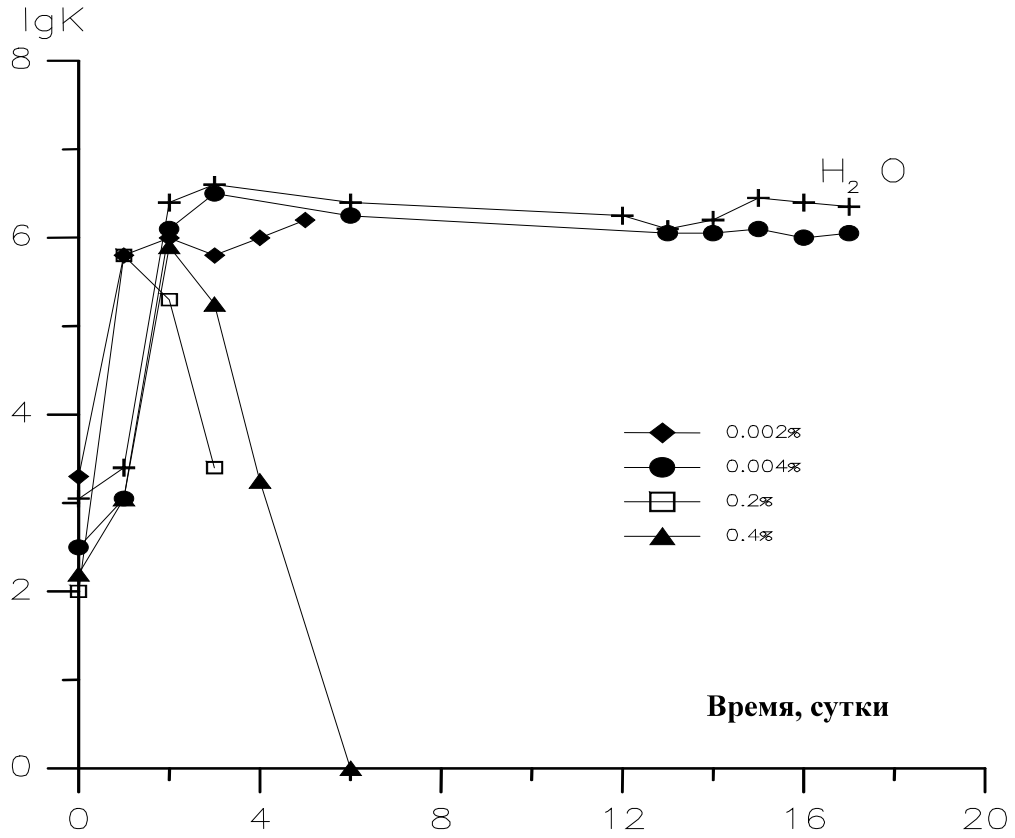


Рис. 1.1.5. Динамика амплификации клеток в воде при различном содержании глюкозы. Цифрами указано ее процентное содержание, по оси ординат десятичный логарифм концентрации клеток в мл

Отметим еще несколько экспериментальных фактов, установленных нами. Амплификация клеток *E.coli* в условиях суперочищенной воды не наблюдается: при температуре инкубирования ниже 8°С, при малом общем содержании в исходной популяции клеток 20 – 100 на весь инкубационный объем, либо при концентрации < 10^2 $см^{-3}$. Наличие или отсутствие освещенности при инкубировании клеток не влияет на динамику амплификации клеток и их предельную концентрацию.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что биохимические процессы, протекающие в клетках при амплификации микроорганизмов в бессубстратных условиях, существенно отличаются от таковых при их размножении путем бинарного деления клеток в стандартной ростовой среде. Таким образом, экспериментального материала достаточно, чтобы убедиться, что гетеротрофные микроорганизмы в экстремальных нефизиологических

условиях способны размножаться и устойчиво существовать в отсутствии экзогенных источников свободной энергии, как в виде химических соединений, так и в виде световых потоков.

Для дальнейших расчетов необходимо составить материальный баланс по основным химическим элементам, входящим в состав клеточной биомассы. Основные элементы живой клетки углерод и водород имеют в среднем степень окисления соответствующую степени окисления глюкозы (Мецлер 1980). Брутто формула органического вещества одной клетки *E.coli* массой $m \cong 2\times10^{-13}$г выглядит как $(C_6H_{12}O_6)\times n$, где $n \approx 10^9$, атомарное содержание остальных химических элементов N-азота, P-фосфора, S-серы, K-калия, Na-натрия и других много меньше указанных выше водорода, углерода и кислорода, количество которых на одну клетку соответствует величинам $n_H=4\times10^{10}$, $n_C=2\times10^{10}$, $n_O=2\times10^{10}$. Из расчета парциального содержания CO_2 - углекислого газа в атмосфере получим, что при температуре 37^{o}C равновесная концентрация углерода в воде составляет $n_C=5\times10^{15}$ см$^{-3}$ (аналогичная величина для азота $n_N=3\times10^{17}$ см$^{-3}$) (Хим. энцикл. 1988, т. 5, с. 27).

Приведенные численные оценки показывают, что даже при полной герметизации клеточной суспензии, остаточного углерода в виде растворенного CO_2 хватит на синтез приблизительно 10^5 - 10^6 клеток на миллилитр воды. Таким образом, конструктивный материал клеток - H, C, O, N присутствует в воде, все остальные минорные элементы могут быть получены при выщелачивании стеклянной посуды (Хим. энцикл. 1988, т. 4, с. 422), в которой готовится дистиллированная вода. Однако, *для конструирования клеточных структур из CO_2, H_2O и других (минорных) химических элементов необходима свободная энергия, которой, по условиям проведения данных экспериментов, нет ни в виде органики, ни в виде света.* Впрочем, наличие света все равно не решает проблемы, так как клетки *E.coli* не фотосинтетики, а факультативные аэробные гетеротрофы.

Мы рассмотрели ключевые эксперименты, условия проведения которых запрещают размножаться гетеротрофным микроорганизмам в дистиллированной воде. Тем не менее, этот процесс происходит, следовательно, требует объяснений. Если предполагать, что авторы приведенных экспериментальных результатов систематически не допускают тривиальных

недосмотров в методике своих экспериментов (что, очевидно, можно исключить, т.к. все результаты были получены разными авторами независимо друг от друга и в разное время), то мы сталкиваемся с проблемой формального нарушения общепринятых естественнонаучных законов - в первую очередь это касается второго начала термодинамики. Действительно, популяция клеток в воде не является строго замкнутой системой (молекулярные компоненты в виде H_2O, CO_2 и т.д. могут поступать из среды - газовой атмосферы и стенок сосудов), и не является полностью изолированной по отношению к потокам тепла, так как находится в термостате. Согласно второму началу термодинамики, самопроизвольный синтез структурных компонентов клеток в данных условиях хотя и не запрещен абсолютно, но реально не происходит, т.к. скорость распада их на много порядков превышает скорость синтеза. Оставаясь в рамках общепризнанных физических законов, мы должны найти канал, по которому поступает свободная энергия, необходимая для сохранения жизнеспособности и амплификации микроорганизмов.

1.2 Динамика микробных популяций в бессубстратных условиях при дополнительной электромагнитной изоляции от окружающей среды

С точки зрения классической термодинамики в замкнутой системе, изолированной от любых внешних потоков энергии, наступает полное термодинамическое равновесие. Клетки микроорганизмов в такой системе обязаны потерять жизнеспособность. Весь запас свободной энергии у бактерии, перенесенной из сбалансированной в бессубстратную среду и предварительно отмытой от всех эндогенных источников запасных веществ, сосредоточен в виде электрического заряда на цитоплазматической мембране. Элементарный расчет показывает, что этой энергии хватит клетке *E.coli* на синтез 100 – 150 молекул АТФ, то есть на такое же количество элементарных ферментативных актов. Очевидно, что этого количества энергии не достаточно для сохранения целостности всех клеточных структур в течение длительного времени и тем более не хватит даже на один акт самовоспроизведения.

Поскольку наблюдается обратное явление, необходимо было проверить один из «очевидных» каналов, по которому могла поступать энергия. Поэтому в дополнение к изоляции клеток от химических источников энергии мы

предприняли специальные меры для их глубокой изоляции от электромагнитных потоков, как возможных источников энергии. Для этого клетки помещали в многослойную пермаллоевую камеру. Конструкция камеры такова, что ее стенки не менее, чем на шесть порядков ослабляли постоянное магнитное поле Земли. Камера вместе с пластиковыми пробирками, в которых находились клетки *E.coli* в обработанной перманганатом калия и четырехкратно дистиллированной деионизованной воде, помещалась в термостат при температуре 37°С. Рядом с камерой инкубировались контрольные образцы с клетками. Экран с экспериментальных образцов снимался на 20-30 минут в сутки, когда проводился отбор проб для определения ЧЖК (числа жизнеспособных клеток). При начальной концентрации клеток $\approx 10^3$ см$^{-3}$ в шести из восьми контрольных популяций концентрация клеток достигла стационарного предела $\approx 10^6$ см$^{-3}$. Наоборот, клетки, находившиеся в пермаллоевой камере, вымерли в семи пробирках из восьми (рис. 1.2.1).

Результаты этого эксперимента свидетельствуют о том, что амплификация клеток в бессубстратной среде блокируется при дополнительной электромагнитной изоляции их от окружающей среды.[1] Следовательно, имеются основания для включения в список возможных кандидатов на роль источника энергии внешнее электромагнитное поле.

[1]Отметим, что электромагнитный фон тепловой природы вплоть до длин волн, ограниченных размерами камеры, в принципе не может быть исключен в условиях эксперимента (Левич 1969, с. 654). А тот факт, что обычный медный кожух термостата, экранирующий содержимое от переменной составляющей электромагнитного поля, не влияет на динамику амплификации клеток в бессубстратной среде, позволяет дискриминировать внешние факторы, по степени их значимости в динамике амплификации клеток: переменное нетепловое электромагнитное поле, его магнитная составляющая, либо факторы пока неизвестной природы.

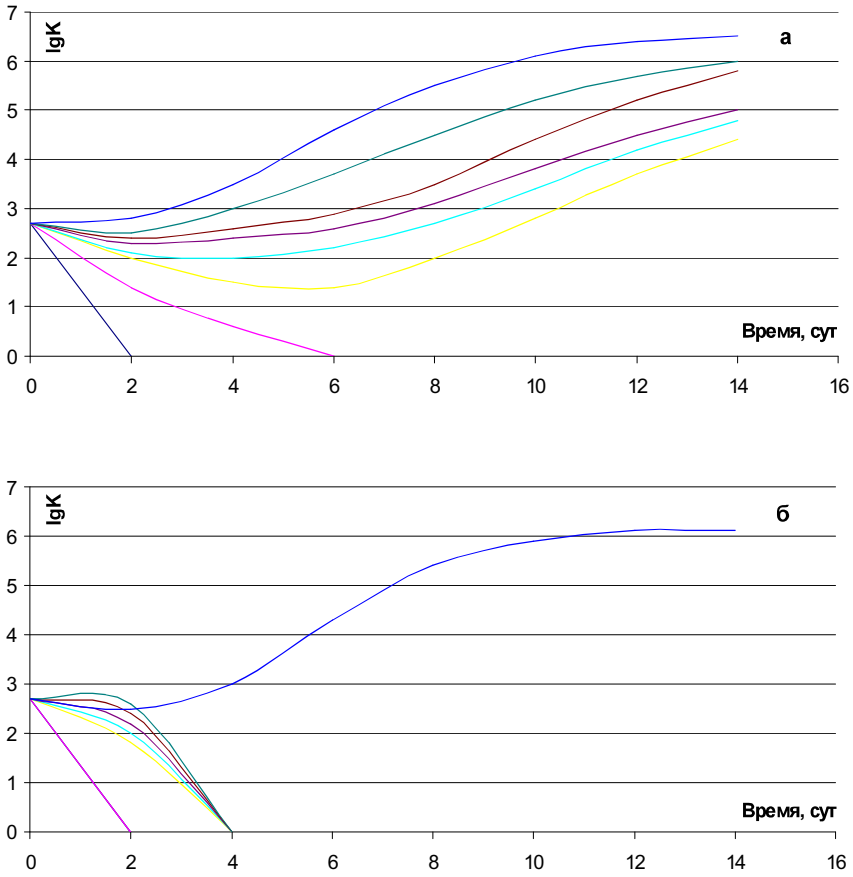


Рис.1.2.1. Амплификация клеток E.coli в дистиллированной воде в обычном термостате (а) и при наличии дополнительного пермаллоевого экрана (б).

1.3 Кооперативные эффекты

1.3.1 Вариации числа жизнеспособных клеток

Рассмотрим теперь динамику жизнеспособных клеток популяции микроорганизмов в воде в обычных лабораторных условиях. На следующей серии рисунков (рис. 1.3.1 – 1.3.2) представлены зависимости числа жизнеспособных клеток (далее ЧЖК) в таких образцах от времени. Как видим, временные вариации ЧЖК не носят случайный характер во всем исследуемом диапазоне - от нескольких секунд до нескольких суток. Отбор каждой пробы из объема (пробирки, колбы) проводился после тщательного перемешивания содержимого, следовательно, увеличение или уменьшение содержания числа жизнеспособных клеток происходило сразу во всем исследуемом объеме.

Для того, чтобы дискриминировать химические и физические факторы, под воздействием которых осуществлялась синхронизация клеток, проводили эксперименты и с неперемешиваемыми популяциями, также с суспензиями клеток в воде, содержащей до 0.1- 0.3% агара (см. раздел 1.5). Последний увеличивает вязкость среды и препятствует ее конвективному перемешиванию. Синхронность поведения популяций во всех указанных экспериментах не пропадала.

Эта кооперативность поведения клеточной популяции, очевидно, не может быть объяснена только эндогенными биохимическими факторами регуляции, выделяемыми клетками. За несколько секунд последние просто не успевают диффузионным путем распространиться во всем объеме образца с клетками. Так в колбе объемом 50 мл с характерным радиусом 2.5см низкомолекулярное вещество продиффундирует из центра к периферии за время более 100 часов.

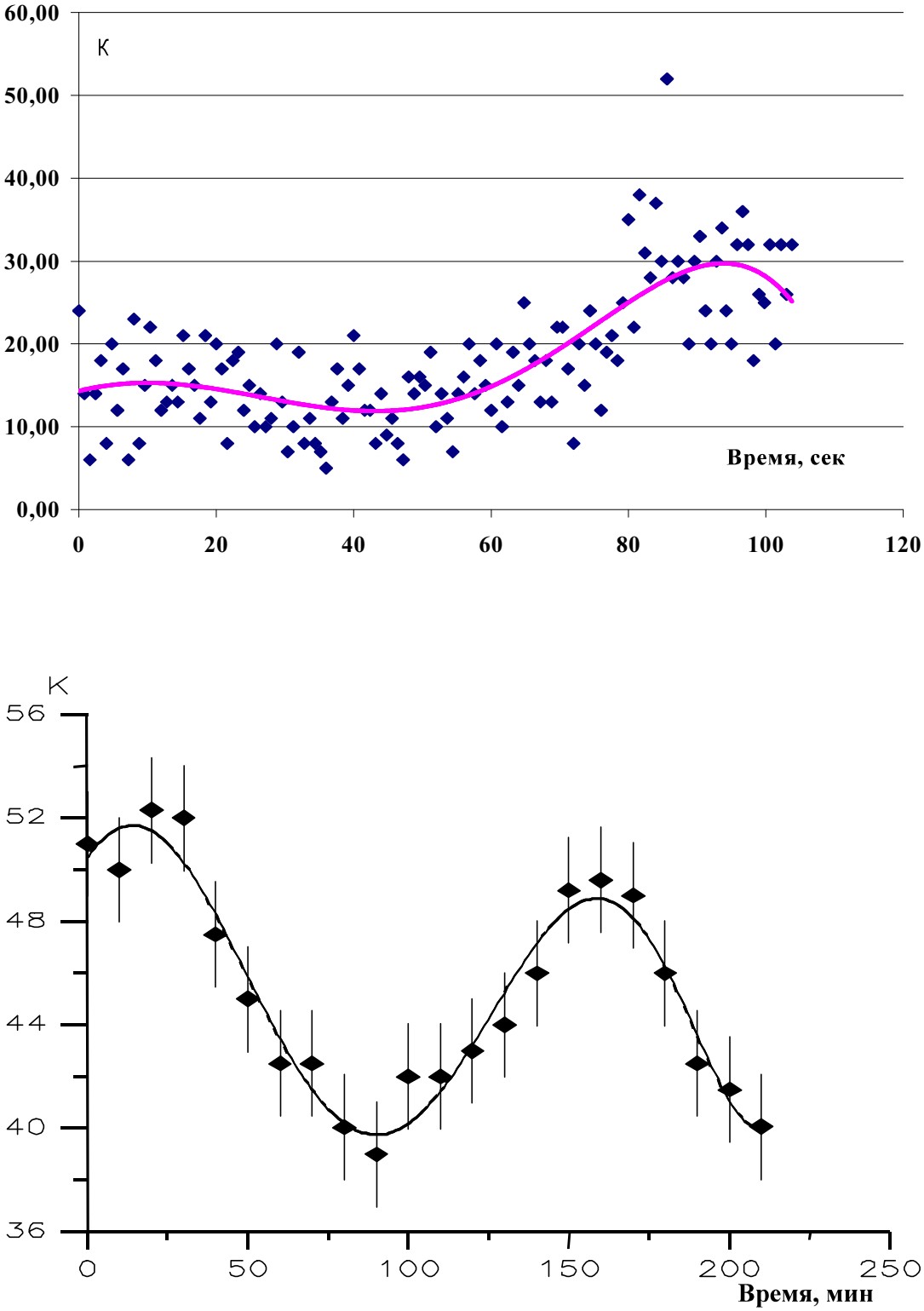


Рис. 1.3.1. Зависимость числа жизнеспособных клеток K от времени при инкубировании популяции *E.coli* в дистиллированной воде. Температура инкубирования 22°C, объем пробы 10 мкл, средний интервал между пробами: верхняя кривая 0.8 сек, нижняя кривая 10 мин

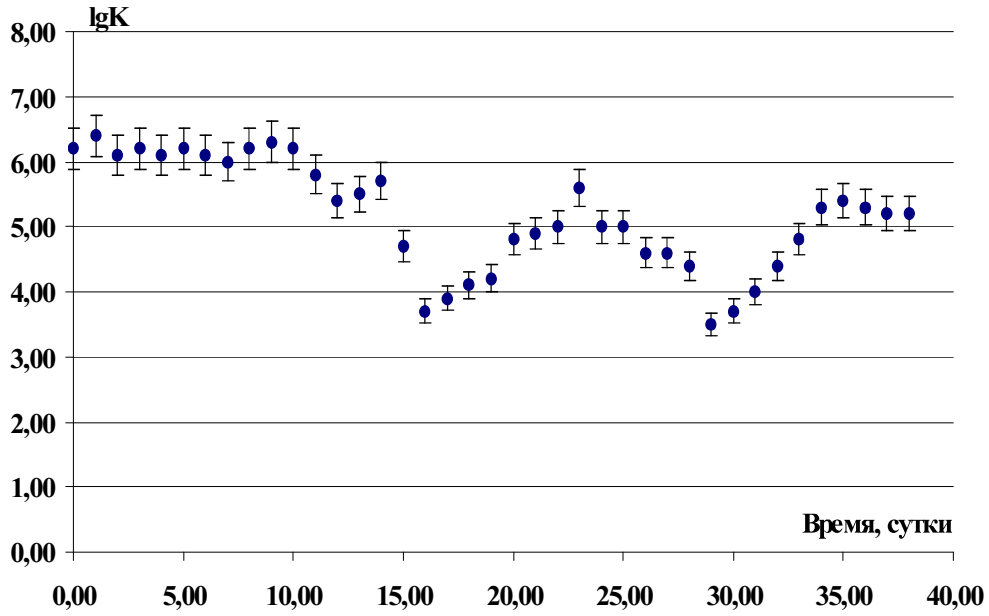


Рис. 1.3.2. Зависимость числа жизнеспособных клеток от времени при инкубировании популяции *E.coli* в дистиллированной воде. По оси ординат десятичный логарифм концентрации клеток в мл. Температура инкубирования 22^{o}C, средний интервал между пробами 24 час

Нами были предприняты попытки определить порог концентрации, ниже которой указанные колебания ЧЖК не наблюдаются. Экспериментальные возможности используемого метода для исследования динамики ЧЖК ограничены концентрацией $K \approx 10^2$ см$^{-3}$. Тем не менее, даже в таких разреженных популяциях наблюдается коррелированное во времени поведение клеток. На рис. 1.3.3 представлены результаты такого эксперимента. В работе (Гусев 1993) показано, что синхронное поведение клеток не пропадает, если исходную популяцию разделить на 96 независимых объемов и в случайной последовательности отбирать из них пробы для определения ЧЖК.

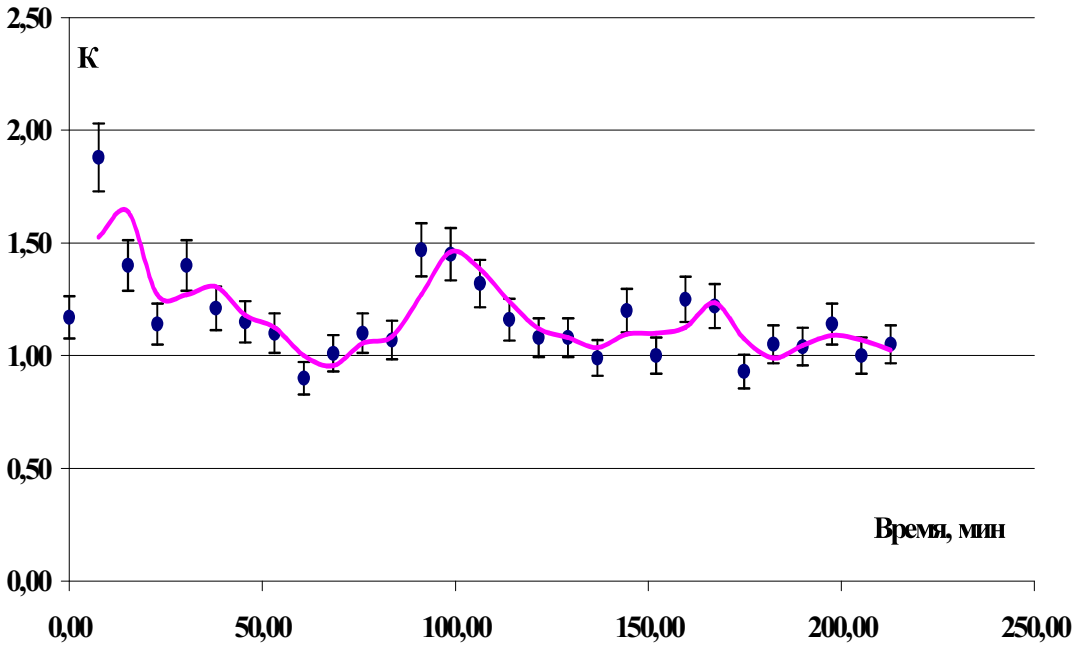


Рис. 1.3.3. Синхронные вариации числа жизнеспособных клеток *E.coli* в «предельно» разбавленных суспензиях. В пробе объемом 10 мкл содержится в среднем 1 – 1.5 клетки, что соответствует концентрации в исходном объеме $K \approx 10^2$ см$^{-3}$. Каждая точка на кривой получена после усреднения 96 проб, отобранных из независимых объемов иммунологических плат. Всего проанализировано 2784 таких проб. Перед началом эксперимента иммунологические плата с клетками выдерживались в течение суток при +4^{o}C

Результаты этих экспериментов не могут быть проинтерпретированы с точки зрения действия на клетки синхронизирующих эндогенных внутрипопуляционных факторов химической природы. Есть основания считать, что кооперативное поведение популяций в независимых объемах является следствием действия экзогенного фактора (Гусев и др. 1992).

При существенно больших концентрациях клеток нами был выявлен кооперативный эффект повышения выживаемости клеток. Как видно из данных, представленных на рис. 1.3.4, характерное время выживаемости τ резко возрастает, если концентрация клеток в популяции превышает $K \approx 3\times10^6$ см$^{-3}$. При меньших концентрациях характерное время «полужизни» является константой τ = 147±11час, т.е. не зависит от общей концентрации жизнеспособных клеток. Отметим, что указанная пороговая концентрация численно соответствует стационарной концентрации, которой достигает

популяция клеток при амплификации в дистиллированной воде (см. рис. 1.1.1).

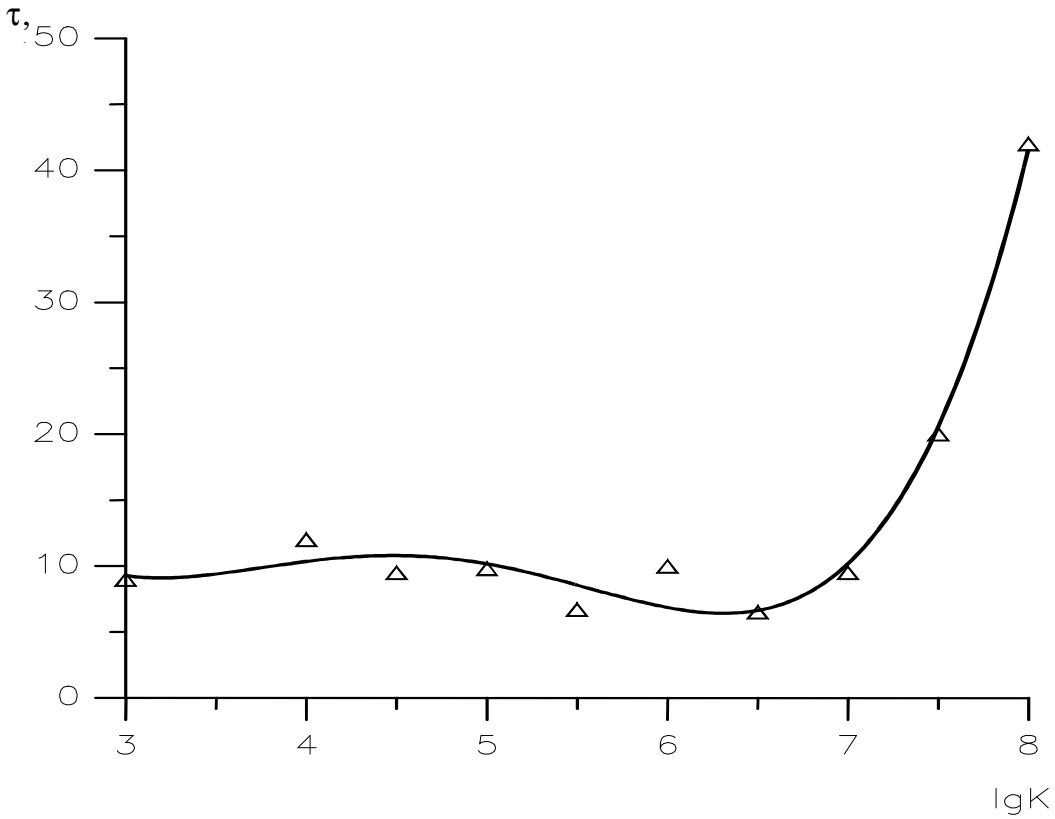


Рис. 1.3.4. Зависимость времени «полужизни» популяции клеток *E.coli* в дистиллированной воде от их концентрации. Готовили водные суспензии клеток *E.coli* K12 с концентрациями от 10^3 до 10^8 см$^{-3}$. В каждую емкость добавляли одно и тоже количество (до концентрации 10^3 см$^{-3}$) генетически маркированных клеток *E.coli* K12 rif$^+$, устойчивых к рифампицину. Все суспензии инкубировали при +4^{o}C, периодически отбирали пробы для определения ЧЖК *E.coli* K12 rif$^+$

Характерное время вымирания τ (время «полужизни») маркированных клеток определяли по формуле $K = K_o 2^{-(t/\tau)}$, где K_o и K концентрация маркированных клеток в начальный момент и через время t соответственно. По оси абсцисс десятичный логарифм концентрации клеток в мл, по оси ординат время в сутках.

1.3.2 Распределение числа жизнеспособных клеток в квазидвумерных и квазиодномерных популяциях

В предыдущем разделе представлены данные, которые можно интерпретировать как кооперативное поведение клеток в объеме суспензии. Линейные размеры колб, в которых еще возможно проведение указанных экспериментов, как правило, не превышали 10 см. Для того, чтобы исследовать возможность проявления кооперативности на больших линейных масштабах

была проведена серия экспериментов с квазиодномерными и квазидвумерными популяциями.

В первой серии суспензию клеток в воде $K \approx 10^3$ см$^{-3}$ помещали в четыре тефлоновых капилляра диаметром 1 мм и длиной 30 см. Торцы капилляров герметизировали и суспензии клеток в таком виде инкубировали в пределах часа при комнатной температуре. Затем исследовалось распределение жизнеспособных клеток по длине капилляров (см. рис. 1.3.5).

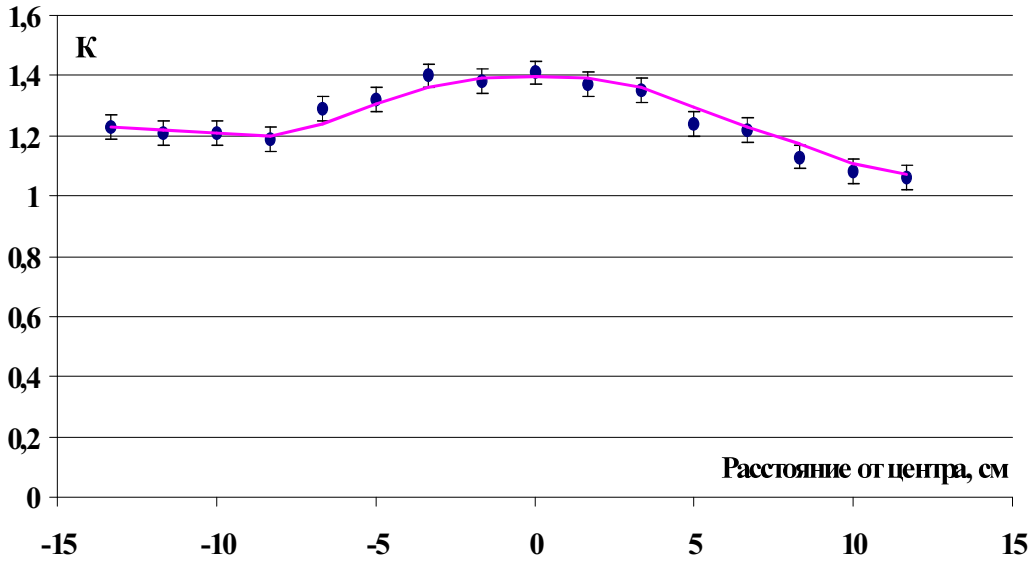


Рис. 1.3.5. Распределение жизнеспособных клеток по длине квазиодномерной популяции. По оси ординат концентрация клеток в мкл

Число жизнеспособных клеток синхронно изменяется во всех капиллярах и активирование клеток, то есть увеличение количества тестируемых жизнеспособных клеток, достоверно наблюдалось в пределах зоны возмущения $\Delta L \approx 10$ см.

Результаты этого эксперимента нужно интерпретировать так, что кооперативность поведения независимых квазиодномерных популяций детерминирована внешним воздействием.

К аналогичным выводам мы приходим после анализа экспериментов, выполненных на «квазидвумерных» популяциях. Для их реализации использовали ячейки иммунологических плат, которые заполняли исходно

однородной популяцией клеток, суспендированных в воде. В каждую из 96 ячеек вносился 200 мкл суспензии с концентрацией клеток $(2.2\pm0.1)10^3$ см$^{-3}$. Плата закрывались и выдерживались при комнатной температуре 1 - 2 суток. Контроль содержания жизнеспособных клеток осуществлялся стандартным методом высева проб на агаризованную ростовую среду. На рис. 1.3.6 представлены результаты исследования ЧЖК через сутки инкубирования. Как видим, ячейки, в которых концентрация клеток возросла на 2 – 3 порядка, имеют тенденцию группироваться в локальной области. Сама постановка эксперимента исключает такую возможность, то есть при спорадической активации клеток без внешнего воздействия распределение «активированных» ячеек должно быть случайным.

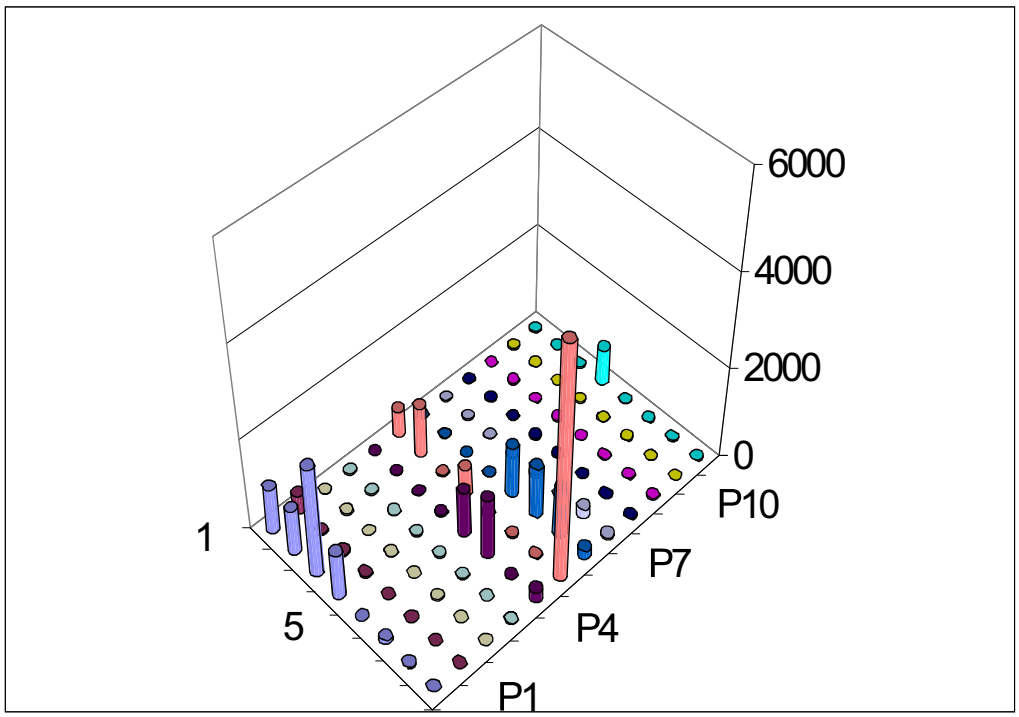


Рис.1.3.6. Групповое распределение популяций по эффективности роста после суток инкубирования в дистиллированной воде. Цифры по оси аппликат соответствуют концентрации в мкл жизнеспособных клеток в ячейках

1.3.3 Устойчивость к ультрафиолету

Неожиданными явились данные, полученные при исследовании Уф чувствительности клеток, инкубировавшихся в воде в течение нескольких суток при различной начальной концентрации от 10^3 до 10^6 см$^{-3}$. На рис. 1.3.7 представлены зависимости характерного времени УФ-инактивации $\tau(K_o)$, рассчитанного по формуле $lnK_o/K = t/\tau(K_o)$, где K_o и K концентрация клеток в начальный момент времени и после t сек УФ-облучения. Как видно из рисунка характерное время инактивации не зависит от исходной концентрации клеток K_o в диапазоне 10^3 -- 10^6 см$^{-3}$, а затем резко увеличивается. Следует отметить также, что численное значение этой пороговой концентрации соответствует оптимальной концентрации $K\approx(2\text{-}5)\times10^6$ см$^{-3}$, при которой наступает устойчивое состояние популяции в условиях абсолютного субстратного голода.

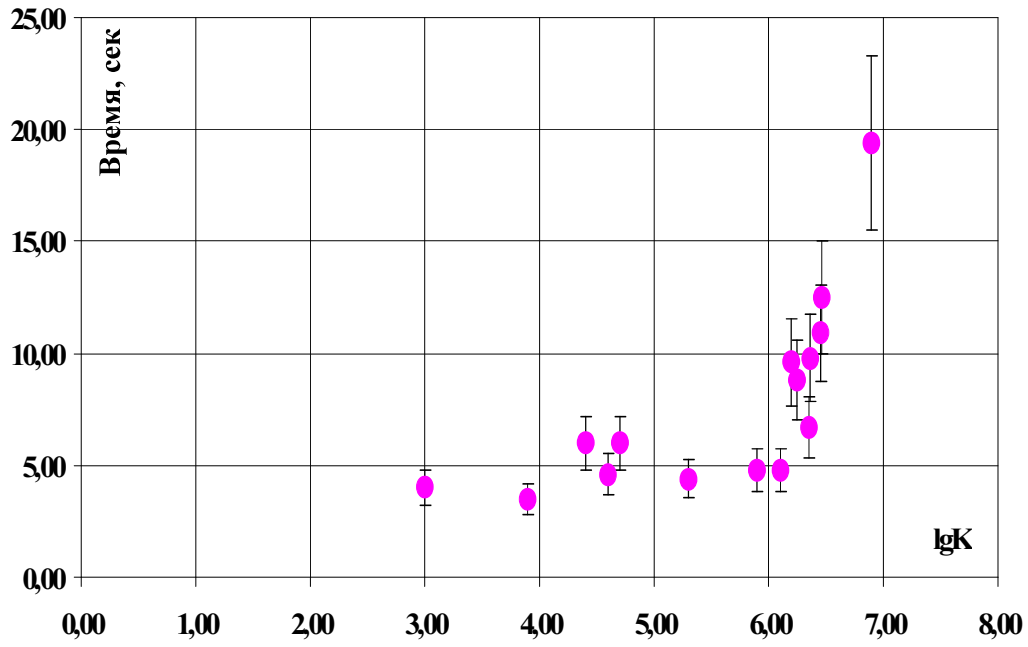


Рис. 1.3.7. Зависимость характерного времени УФ-инактивации популяции *E.coli* от концентрации клеток, при которой осуществлялась предварительная инкубация в дистиллированной воде. По оси абсцисс десятичный логарифм концентрации клеток в мл

1.3.4 Влияние инкубационного объема на амплификацию

Следует упомянуть еще об одном пороговом явлении, связанном с бифуркацией в динамике клеток при инкубировании их в дистиллированной воде. Амплификация клеток в дистиллированной воде критична не только к величине исходной концентрации, но и к объему, занимаемому популяцией. Исходная популяция клеток с концентрацией $(1.6 \pm 0.1)\times10^3$ см$^{-3}$ (это на порядок выше минимального порога 10^2 см$^{-3}$) помещалась в идентичные силиконизированные стеклянные пробирки. Последнее было предпринято для того, чтобы иметь возможность визуально наблюдать и манипулировать с малыми объемами, так как в противном случае жидкость растекалась по гидрофильной стеклянной поверхности пробирки. В гидрофобизованных же пробирках вся жидкость при объеме пробы менее 10 мкл собиралась в хорошо наблюдаемые сферические капли. Исходные объемы суспензии готовили в диапазоне 1мкл - 1000мкл. Соответственно, общее содержание клеток в среднем приходящееся на исследуемый объем изменялось от 1.6 ± 0.1 до $(1.6 \pm 0.1)\times10^3$. Поскольку при малых объемах мы работали фактически уже с единичными клетками, то, во избежание, инкубирования только пустых пробирок с объемом суспензии 1мкл ставились многократные повторы. Из распределения Пуассона:

$$p_r = \frac{\bar{k}^r}{r!}\exp(-\bar{k}), \qquad (1.3.1)$$

где p_r – вероятность попадания в пробирку r клеток при их среднем содержании $\bar{k}$, можно рассчитать, что при среднем содержании $\bar{k} = 1.6$, вероятность встретить пустую пробирку равна 0.2. В эксперименте каждый день анализировалось 15 пробирок и, по крайней мере, 12 из них должны быть не пустые. При использовании объемов 5, 10 и 100 мкл проблема пустых пробирок уже не возникает.

Через трое суток инкубирования при физиологической температуре в дистиллированной воде, амплификация наблюдается в пробирках, объем суспензии в которых больше или равен 100 мкл, что соответствует общему начальному содержанию 160 ± 10 и более клеток. При общем содержании клеток в популяции 16 ± 1 жизнеспособные клетки (объем пробы 10 мкл) тестировались в течение трех суток без существенного падения концентрации,

затем еще через сутки исчезли. При объемах проб 5 мкл и 1 мкл с общим содержанием 8 ± 0.5 и 1.6 ± 0.1 клеток соответственно, уже через сутки жизнеспособные клетки не тестировались.

1.3.5 Локальная нелинейность зависимости числа жизнеспособных клеток от объема пробы

На рис.1.3.8 представлены зависимости числа жизнеспособных клеток от

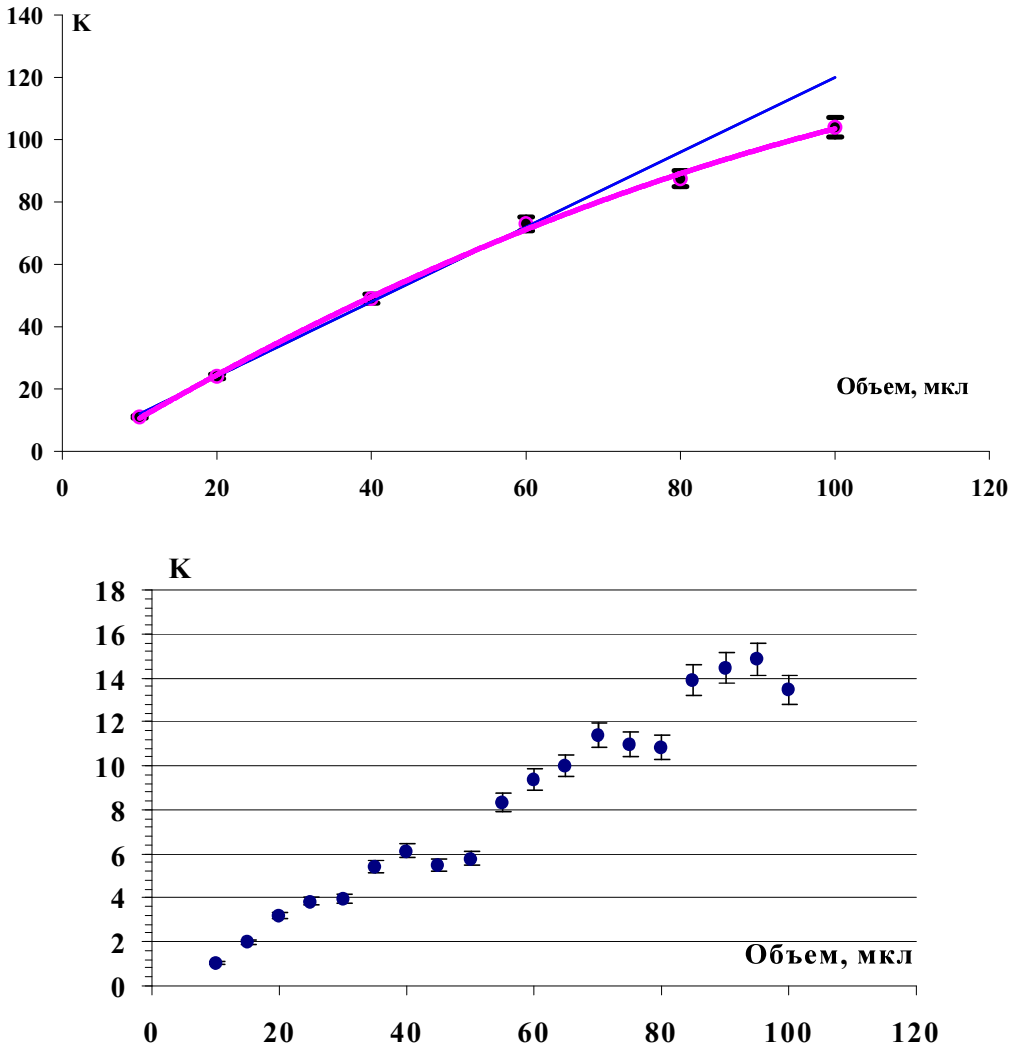


Рис. 1.3.8. Нелинейная зависимость числа жизнеспособных клеток от величины отбираемого объема. Средняя плотность популяций: верхняя кривая 150 $см^{-3}$, нижняя кривая 2500 $см^{-3}$

объема пробы, отбираемой из исходного объема. На фоне линейной в среднем кривой наблюдаются небольшие, но достоверные локальные отклонения.

Величина и характер таких отклонений не является строго фиксированной для конкретного образца популяции, но изменяется с течением времени. Другими словами, две такие зависимости, снятые с интервалом времени 30-40 мин непредсказуемым образом изменяются. На меньших временах такие кривые, как правило, не различаются в пределах ошибки эксперимента.

1.3.6 Нелинейные концентрационные эффекты

Рассмотрим еще один нелинейный эффект, связанный с изменением концентрации суспензии микроорганизмов при разбавлении ее водой. *A priori* можно было ожидать, что при разбавлении суспензии, содержащей исходно K_o клеток в единице объема, в m раз концентрация клеток будет изменяться по закону:

$$\frac{K_o}{K_m^{th}} = m, \tag{1.3.2}$$

где в знаменателе стоит теоретически ожидаемая величина концентрации микроорганизмов. Однако, экспериментально эта зависимость трансформируется к виду:

$$\frac{K_o}{K_m^{\exp}} = m^{\alpha}, \tag{1.3.3}$$

где в знаменателе стоит экспериментально наблюдаемая концентрация микроорганизмов. Коэффициент нелинейности α не является строго фиксированной константой. Как правило, диапазон его изменений от эксперимента к эксперименту заключен внутри интервала $1.0 \geq \alpha \geq 0.8$. На рис. 1.3.9 приведены результаты аппроксимации двух независимых экспериментов с коэффициентом нелинейности α=0.915 и α=0.783. Как оказалось, вариабельность этого коэффициента обусловлена достаточно длительным временем релаксации популяции после возмущающего воздействия изменения окружения, то есть изменении концентрации микроорганизмов при добавлении воды. На рис.1.3.10 продемонстрирована экспериментальная зависимость изменения концентрации жизнеспособных клеток после разведения исходной

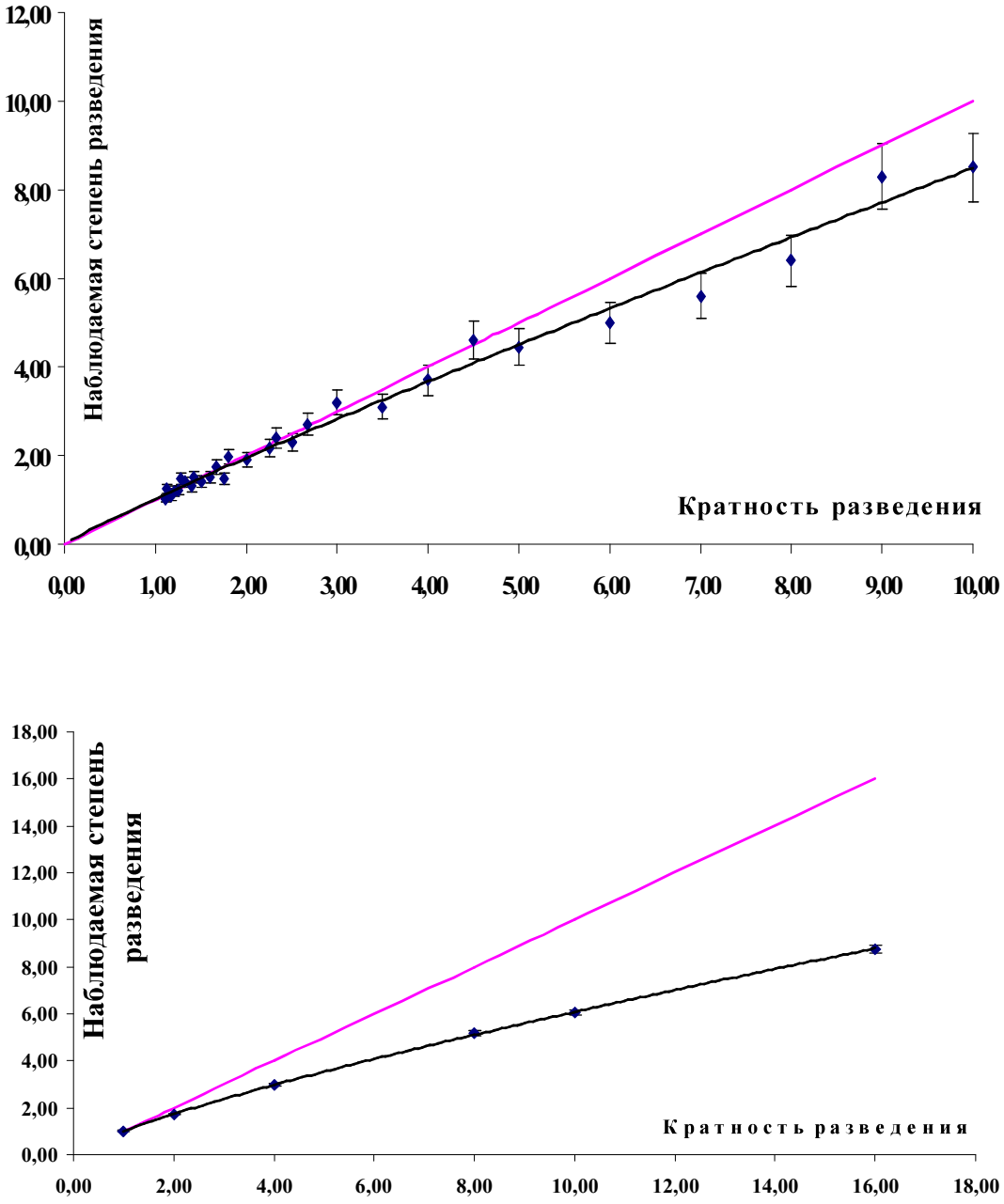


Рис. 1.3.9. Нелинейная зависимость концентрации от кратности разведения. Коэффициент нелинейности: для верхней кривой 0.915, для нижней 0.783. Коэффициенты корреляции нелинейной аппроксимации равны 0.993 и 0.999 соответственно

концентрированной суспензии ($K \approx 10^8$ см$^{-3}$) вплоть до концентрации $K \approx 10^3$ см$^{-3}$. В пределах ошибки параметры кривой релаксации не зависят от степени разведения популяции. На рис. 1.3.11 представлена усредненная кривая, по которой рассчитано характерное время релаксации (в предположении

экспоненциальной зависимости) $\tau \approx 43$ мин. Эти данные подтверждают наличие кооперативного поведением микроорганизмов вплоть до чрезвычайно низких концентраций.

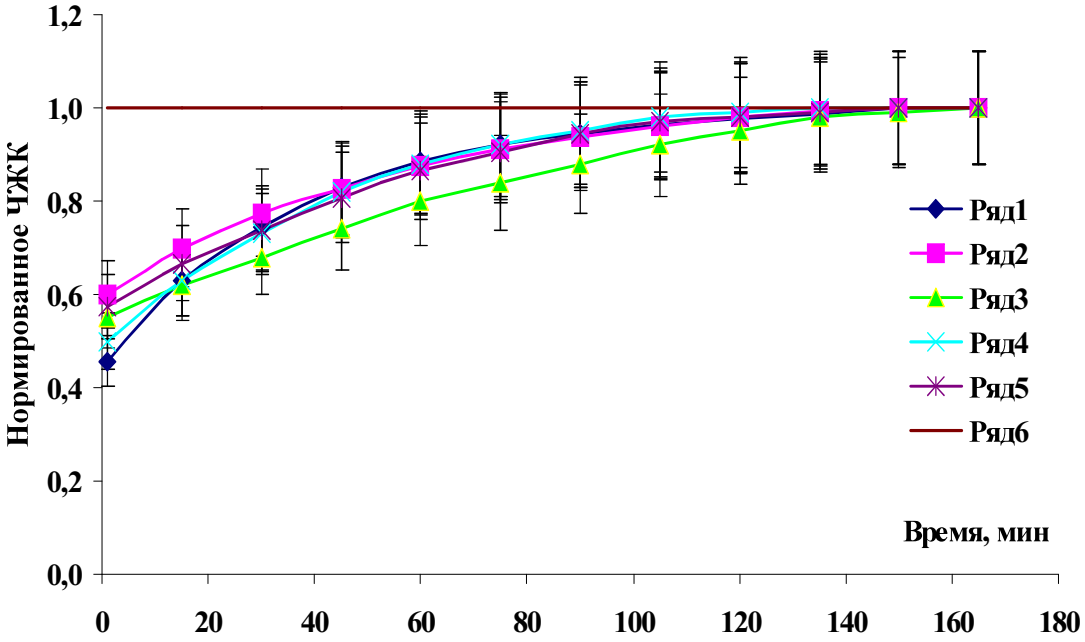


Рис. 1.3.10. Релаксация числа жизнеспособных клеток (ЧЖК) в воде при комнатной температуре после разведения исходной суспензии. Исходная популяция с концентрацией жизнеспособных клеток $\approx 10^8$ см$^{-3}$ выдерживалась при +4^{o}C двое суток, затем в течение 5-7 минут готовились пять разведений с кратностью 10 (ряд 6 – исходная суспензия 10^8 см$^{-3}$, ряд 5 – 10^7 см$^{-3}$, ряд 4 – 10^6см$^{-3}$, ряд 3 –10^5 см$^{-3}$, ряд 2 –10^4 см$^{-3}$, ряд 1 –10^3 см$^{-3}$) на дистиллированной воде при комнатной температуре, далее периодически отбирались пробы для определения ЧЖК. Нормированное значение ЧЖК по оси ординат получено путем деления ЧЖК, в данный момент времени на величину стационарного значения ЧЖК

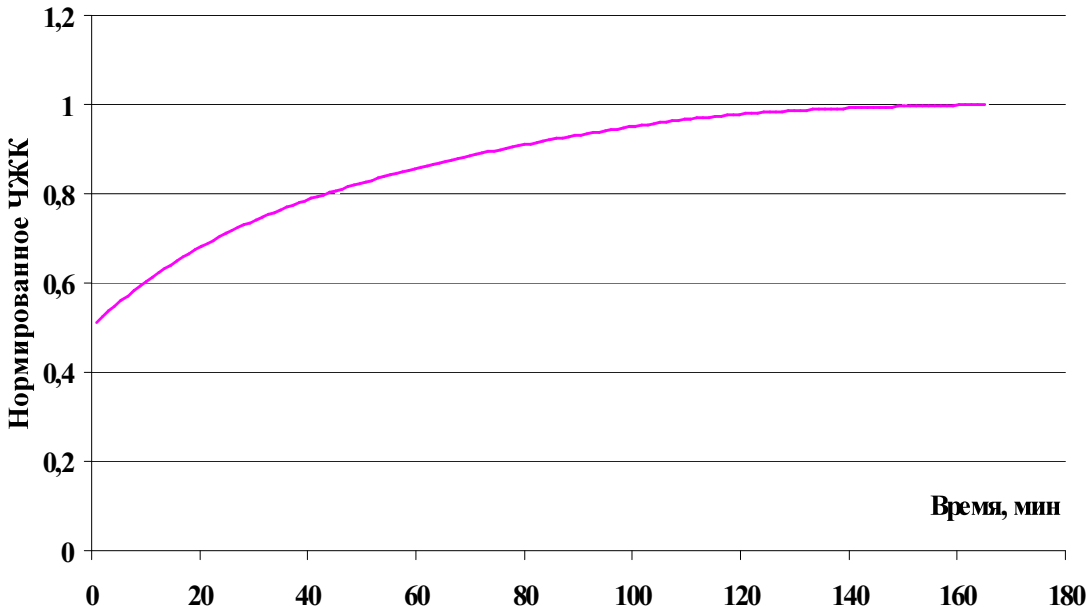


Рис. 1.3.11. Релаксация числа жизнеспособных клеток в воде при комнатной температуре после разведения исходной суспензии. Усреднение проводилось по всем разведениям (см. рис. 1.3.10). Аппроксимационная кривая вида K/K_o=1-0.5*exp(-t*/42.73*)* с коэффициентом корреляции r=0.8, время релаксации 43 мин

1.3.7 Сезонные вариации амплификационной активности клеток

Необходимо отметить, что для определения критических концентраций биомассы потребовалось провести указанные эксперименты в разные сезоны года. По причинам, на сегодняшний день до конца не понятным, активация клеток с последующей их амплификацией в дистиллированной воде или солевых буферах (0.15M NaCl и др.) имеет некую природную цикличность: наблюдались временные интервалы, когда ни при каких экспериментальных ухищрениях не удавалось активировать клетки. По прошествии нескольких суток те же исходные препараты клеток демонстрировали хорошо воспроизводимую динамику амплификации в бессубстратных условиях. Эти явления наблюдались в течение каждого годового цикла. Строгой привязки к конкретному времени года не было выявлено.

В «пассивные» периоды, когда не наблюдается амплификация клеток, происходит их деградация, независимо от начальной концентрации популяции клеток за исключением области начальных концентраций, превышающих 10^6

см$^{-3}$. Кроме того, в эти периоды наблюдался эффект повышения этого «стандартного» порога устойчивости, то есть при начальных концентрациях K_o ≈10^7 см$^{-3}$ эти популяции не проявляли тенденцию к вымиранию. Во всяком случае, за период наблюдения в течение восьми суток не было отмечено достоверного падения концентрации жизнеспособных клеток (рис. 1.3.12).

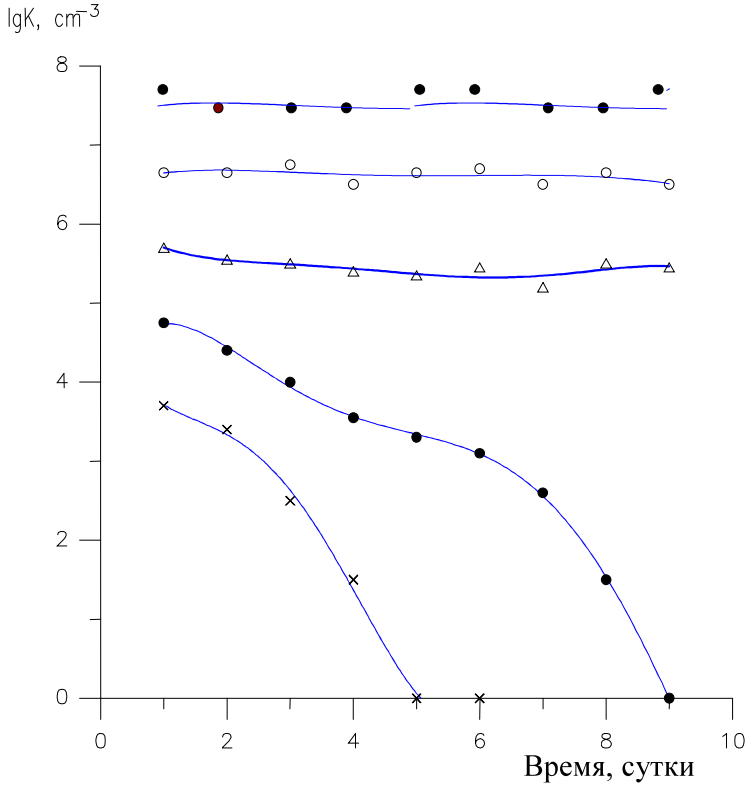


Рис. 1.3.12. Зависимость выживаемости популяций *E.coli* в «пассивные» сезоны года от начальной концентрации клеток. Условия инкубирования: дистиллированная вода, комнатная температура

Завершая этот раздел, необходимо отметить, что вся совокупность представленного экспериментального материала позволяет сделать следующие выводы:

- **процесс амплификации клеток в дистиллированной воде критичен к объему, занимаемому популяцией, точка бифуркации соответствует ≈10мкл,**
- **существуют нижняя K_{min} ≈10^2 см$^{-3}$ и верхняя K_{max} ≈ 5×10^6 см$^{-3}$ критические точки концентрации жизнеспособных клеток, при которых происходит бифуркация динамики популяции,**
- **при исходной концентрации клеток $K < K_{min}$ амплификация клеток**

не происходит никогда,

- **при исходной концентрации клеток $K_{min} < K < K_{max}$ в дистиллированной воде при физиологической температуре возможны два взаимоисключающих типа динамик популяций – амплификация (в «активные» сезоны), либо деградация (в «пассивные» сезоны),**
- **при концентрации клеток вблизи $K_{max} \approx (2\text{-}5) \times 10^6$ см$^{-3}$ популяция *E.coli* приобретают множественную устойчивость к инактивирующим внешним воздействиям,**
- **воспроизводимость амплификационной динамики популяций определяется не только условиями эксперимента, но и состоянием внешней по отношению к лабораторным условиям среды.**

1.4 Вариации спонтанного фона хромосомных мутаций в условиях субстратного голода

A priori невозможно было ожидать, что вне ростовых условий клетки микроорганизмов способны демонстрировать весьма разнообразную динамику. Речь идет не только о способности клеток к амплификации, но в данном случае о пространственной и временной гетерогенности свойств популяции. В данном разделе мы рассмотрим динамику спонтанного мутагенеза хромосомных маркеров.

Эксперименты по определению спонтанного мутационного фона в популяции клеток *E.coli* K12 по двум генетическим маркерам rif (устойчивость к рифампицину) и nal (устойчивость к налидиксовой кислоте) проводили с клетками, хранящихся в дистиллированной воде при +4^{o}C. Было показано, что содержание обоих маркеров варьируется в достаточно широких пределах. Так мутационный фон rif – маркера может изменяться в течение нескольких суток и даже часов от 10^{-8} до 10^{-9}, эти цифры характеризуют отношение числа клеток, устойчивых к антибиотику ко всему числу жизнеспособных клеток в популяции. Частота спонтанной вариации nal – маркера в популяции, как правило, в 5-10 раз меньше, чем rif – маркера. Однако в отдельные моменты времени частоты обоих маркеров совпадала в пределах ошибки эксперимента. Результаты этих экспериментов суммированы в таблицах 1.4.1 и 1.4.2.

Табл. 1.4.1.Вариация спонтанного мутационного фона rif - маркера. Даты проведения экспериментов: первая строка - 22.06.89, вторая строка - 01.03.90, третья строка – 16.11.90

Время от начала наблюдения мин	0	10	20	30	40
Концентр. жизнеспосо-бных клеток K $\times 10^{-10}$, $см^{-3}$	13±1 ***18±1*** **7±1**	12±2 ***16±1*** **11±1**	12±1 ***15±2*** **7±1**	14±1 ***18±1*** **7.9±0.4**	6±0.06 ***17±1*** **12±1**
Концентр. rif^+ клеток $m_{rif} \times 10^{-2}$,$см^{-3}$	24±2 ***32±1*** **8.0±0.6**	23±2 ***19±2*** **10.0±0.2**	24±2 ***32±1*** **8.0±0.5**	20±0.5 ***37±2*** **8.4±0.4**	21±2 ***32±1*** **10±1**
Мутац. фон $(m_{rif}/K) \times 10^8$	1.8±0.3 ***1.8±0.2*** **1.1±0.2**	1.9±0.5 ***1.2±0.2*** **1.0±0.1**	1.9±0.3 ***2.1±0.2*** **1.1±0.2**	1.4±0.1 ***2.1±0.2*** **1.1±0.1**	3.5±0.3 ***1.9±0.3*** **0.8±0.2**

Таблица 1.4.2.Сравнительный анализ частот спонтанных мутаций rif и nal хромосомных маркеров. Коэффициент корреляции r=0.860. Данные в столбцах, помеченные символом ☺ получены на одной и той же популяции клеток

Дата наблюдения	**22.06.89**	**15.01.90**	**18.01.90** ☺	**19.01.90** ☺	**20.01.90** ☺	**21.01.90** ☺	**22.01.90** ☺
Частота rif – маркера $(m_{rif}/K) \times 10^8$	**2.8±0.5**	**1.4±0.01**	**0.5±0.2**	**7.9±0.7**	**0.5±0.2**	**3.2±0.2**	**0. 17±0.02**
Частота nal – маркера $(m_{nal}/K) \times 10^9$	**1.2±0.2**	**1.7±0.02**	**2.5±0.3**	**9±3**	**2.8±0.06**	**4±1**	**2.6±0.3**
m_{rif}/ m_{nal}	**25±4.6**	**8.2±0.2**	**2±1**	**8.8±3.7**	**1.8±0.75**	**8.0±2.5**	**0.6±0. 1**

Здесь необходимо отметить, что методика эксперимента исключала воздействие на популяцию клеток известных мутагенных факторов (УФ - облучения, γ - радиации, химических агентов). Результаты экспериментов при инкубировании клеток в бессубстратных условиях с дополнительной электромагнитной изоляцией (см. раздел 1.2, рис. 1.2.1) логически подводят к

аналогичной постановки экспериментов по исследованию спонтанного мутационного фона. На рис. 1.4.1 показано распределение рифампицинустойчивых клеток в суспензии *E.coli* с концентрацией 8×10^9 см$^{-3}$, помещенной в тефлоновый капилляр диаметром 1 мм и длиной 80 см. Один конец этого капилляра помещали в эллипсоид вращения с межфокусным расстоянием 40 см. Оболочкой эллипсоида являлась алюминиевая фольга толщиной 0.3 мм. Факт экранировки сферическими металлическими поверхностями внешнего электромагнитного поля в широком диапазоне частот хорошо известен (см., например: Калашников 1977). Суспензия клеток, находящаяся в дистиллированной воде при комнатной температуре 22^{o}C выдерживалась в таком виде в течение получаса, затем проводилось ее фракционирование. В каждой фракции определялось содержание мутантов с Rif$^+$ фенотипом и полное число жизнеспособных клеток.

Первые пять точек на графике соответствуют неэкранированной части квазиодномерной популяции клеток. Как видно из рис.1.4.1 мутационный фон (m/K – отношение концентрации rif-устойчивых мутантных клеток к концентрации жизнеспособных клеток) в максимуме составляет $m/K=2.5\times10^{-8}$, что в среднем на порядок превышает соответствующее значение в той части популяции, которая находилась в условиях металлического экрана. Общая же концентрация клеток не имеет никаких достоверных системных отклонений по всей длине капилляра. По полуширине пика на рис. 1.4.1 можно оценить пространственный масштаб области локализации мутагенной флуктуации $\Delta L \approx$ 8 см.

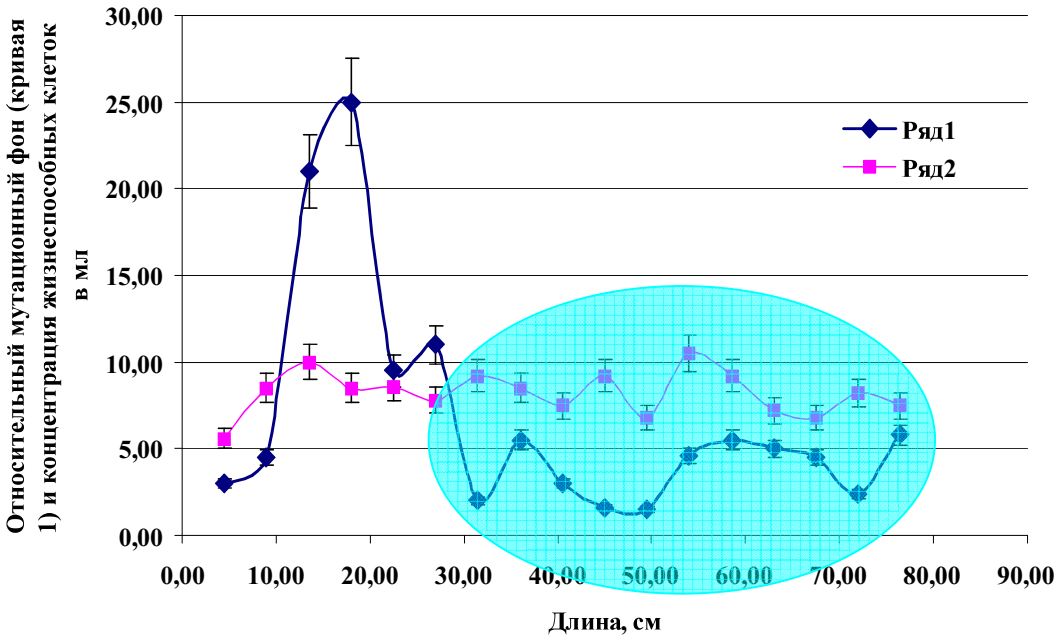


Рис. 1.4.1. Распределение спонтанных мутантов по длине тефлонового капилляра, содержащего водную суспензию клеток *E.coli*. По оси ординат нормированные значения величин: кривая 1 – относительный мутационный фон клеток с Rif^+ фенотипом (коэффициент нормировки 10^{-9}), кривая 2 – общая концентрация клеток (коэффициент нормировки 10^9). Теневая часть рисунка символизирует металлический экран

Следующая серия экспериментов ставилась с целью определения эффективности этого мутационного возмущения в сравнении с известными мутационными факторами. На рис. 1.4.2 представлены результаты исследований времен'ного дрейфа мутационного фона в трехмерной популяции, помещенной в колбу с дистиллированной водой объемом 50 мл. В течение 40 мин инкубирования при комнатной температуре в этом эксперименте удалось зафиксировать трехкратное увеличение rif – маркера (при каждом отборе проб суспензия, естественно, тщательно перемешивалась).

Эффективность мутагенного фактора, воздействие которого тестируется в данном эксперименте существенно превышает эффективность известных химических мутагенов (Петренко и др., 1982; Гусев 1985) и УФ-излучения. На рис. 1.4.2 представлены данные сравнительного анализа эффективности «естественного» фонового мутагенеза и мутагенеза под действием ультрафиолета.

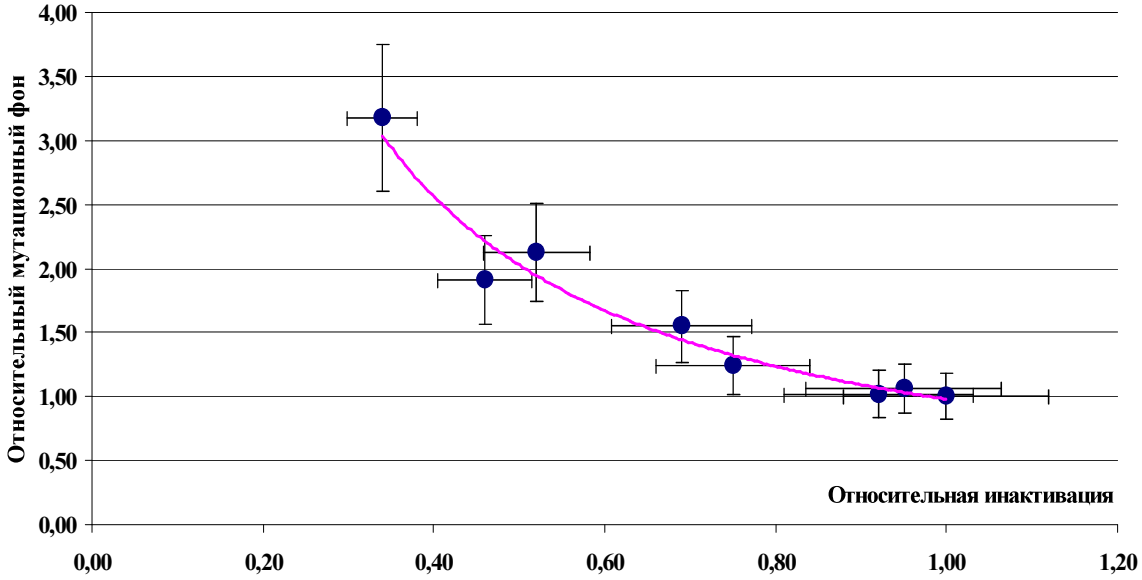


Рис. 1.4.2.Изменение спонтанного мутационного фона Rif^+ фенотипа в популяции клеток *E.coli* с концентрацией 10^{10} $см^{-3}$ в дистиллированной воде в течение 40 минутного интервала инкубирования при комнатной температуре. По оси абсцисс $K(t)/K_o$ – отношение концентрации жизнеспособных клеток в данный момент времени к соответствующему значению в начальный момент времени. По оси ординат нормированный мутационный фон: $(m(t)/K(t))/(m_o/K_o)$, где m – концентрация rif –устойчивых клеток. Уровень спонтанного мутационного фона измеряли путем высева клеток на агаризованную питательную среду, содержащую антибиотики рифампицин или налидиксовую кислоту с концентрациями по 50 мкг/мл. После 18-ти часового инкубирования чашек Петри при 37°С сравнивали отношение числа колоний, выросших на обычных и селективных ростовых средах

В исследованном диапазоне инактивации популяции, то есть отношении числа жизнеспособных клеток в данный момент времени $K(t)$ к исходному количеству K_o, оба массива экспериментальных точек аппроксимируются степенными зависимостями с показателями степени 0.9 и 0.6 соответственно с коэффициентом линейной корреляции r=0.9. Таким образом, эффективность действия «естественного» фонового мутагенного фактора в 1.5 раза выше, чем ультрафиолета.

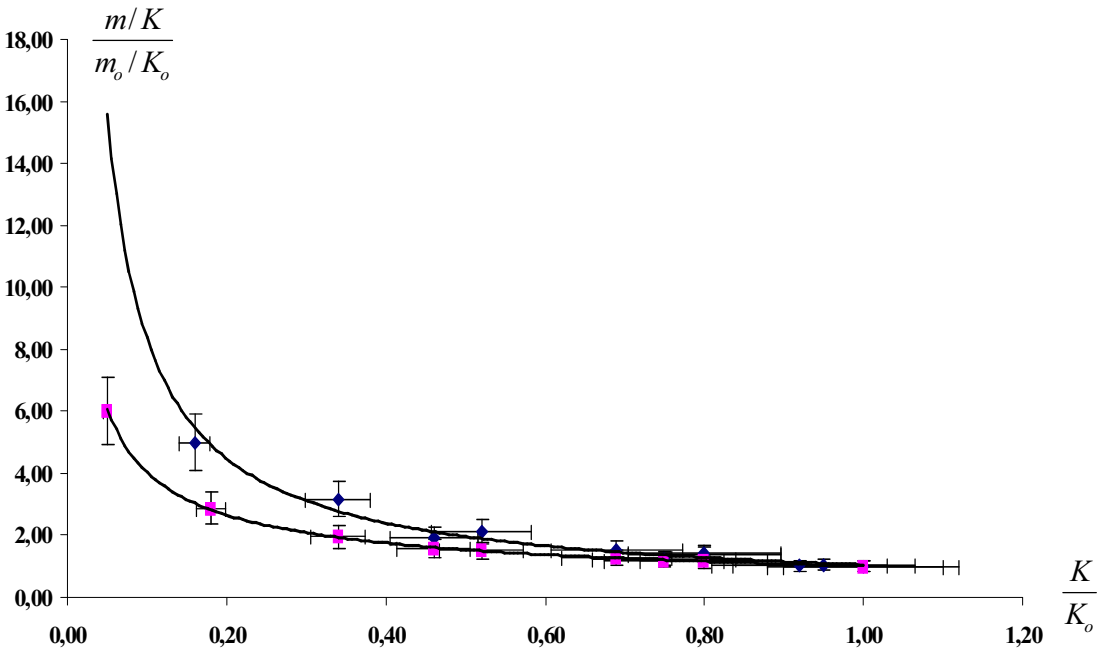


Рис. 1.4.3.Зависимость относительного содержания rif^+ мутантов, нормированного на исходный фон $\frac{m/K}{m_o/K_o}$ от степени инактивации $\frac{K}{K_o}$. Нижняя кривая – под действием ультрафиолета, верхняя кривая – в процессе выдерживания популяции клеток на лабораторном столе. Плавные кривые – степенная аппроксимация вида $y = ax^b$ с кэффициентом b, равным 0.6 и 0.9 соответственно. Для определения эффективности мутагенного воздействия ультрафиолета слой водной суспензии клеток толщиной 0.5мм в условиях интенсивного перемешивания облучали под УФ лампой БУФ-16

Необходимо отметить, что в данном эксперименте говорить об инактивации клеток в общепринятом смысле не совсем корректно. Более правильно было бы использовать термин о квазипериодических колебаниях числа жизнеспособных клеток, так как и ЧЖК, и мутационный фон эпизодически возвращаются к исходному уровню.

Представленные результаты исследований активации роста клеток в дистиллированной воде и мутационного фона в ростовых и неростовых условиях в квазиодномерной и трехмерной популяциях микроорганизмов позволяют сформулировать следующие утверждения:

- **популяция микроорганизмов испытывает локальное возмущающее воздействие экзогенного фактора,**

- **мутационное воздействие фактора в неростовых условиях носит обратимый характер,**
- **область локализации в объеме популяции, момент начала воздействия, интервал времени воздействия и интенсивность фактора в общем случае не предсказуемы.**

1.5 Статистические закономерности в динамике популяций клеток *E.coli*

В разделе 1.3.1 на рис. 1.3.1-1.3.3 были представлены разнообразные зависимости от времени $\bar{k}$ - среднего значения ЧЖК (количество клеток, формирующих колонии на твердой агаризованной среде) при инкубировании популяций в дистиллированной воде. Там же было отмечено, что вариации ЧЖК наблюдаются фактически в любом экспериментально исследованном диапазоне времени от нескольких секунд до многих суток. При исследовании динамики популяций, находящихся в стационарном состоянии, формально следует ожидать, что такая статистическая характеристика, как отношение дисперсии к среднему значению $\sigma^2/\bar{k}$ (где $\sigma^2 = \bar{k^2} - \bar{k}^2$) должна быть константой. Соответствующие средние значения определяются по формулам:

$$\bar{k} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{i=N} k_i, \quad \bar{k^2} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{i=N} k_i^2, \qquad (1.5.1)$$

где k_i- число жизнеспособных клеток в i-ой пробе, N объем выборки. Однако, эксперимент показывает обратное (см. рис. 1.5.1).[2]

Как видно из рис. 1.5.1, вариации претерпевает не только число жизнеспособных клеток, но и производные статистические величины варьируют со своими характерными временами. Обращает на себя внимание тот факт, что усредненная по времени за весь период T= 180 минут наблюдения величина $\sigma^2/\bar{k}$ в пределах ошибки равна единице:

$$\frac{1}{T}\int_0^T \frac{\sigma^2}{\bar{k}}(t)dt = 1. \qquad (1.5.2)$$

[2] Массивы данных в этой серии экспериментов получали путем отбора проб из клеточных суспензий с концентрацией 10^2 - 10^3 см$^{-3}$, находящихся при температуре 0^{o}C. Возможность амплификации клеток в этих условиях блокирована.

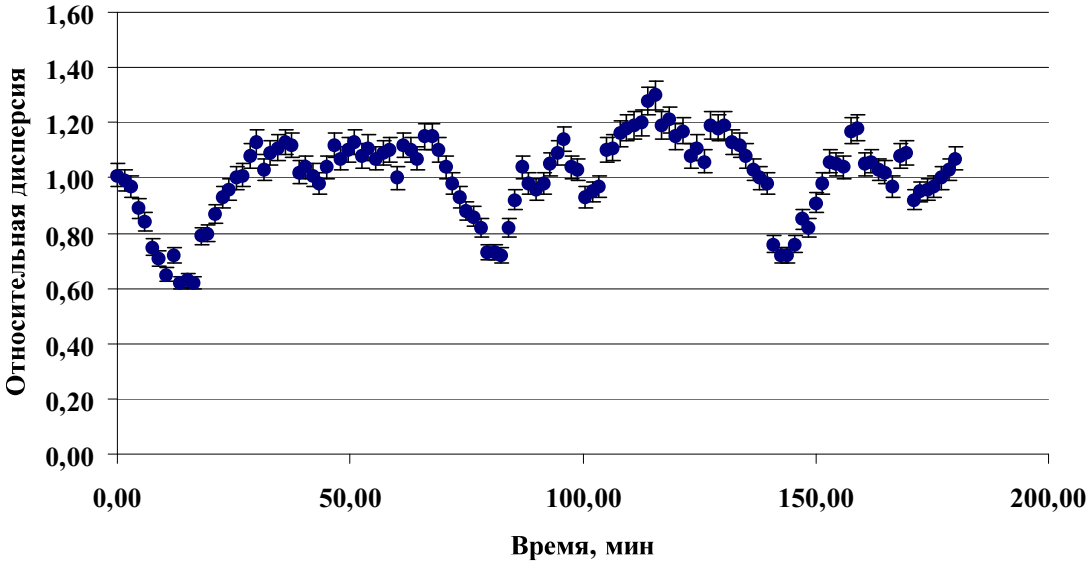


Рис. 1.5.1. Временная эволюция относительной дисперсии. Среднее число жизнеспособных клеток в пробе $\bar{k}$ =9.4±0.3, соответствующая концентрация жизнеспособных клеток K=940±30 см$^{-3}$

Аналогичные данные представлены на рис. 1.5.2. Величина $\sigma^2/\bar{k}$ также варьирует вокруг единицы и даже с большей амплитудой. Многочисленные эксперименты, проведенные нами, показали, что этот процесс колебаний ЧЖК и относительной дисперсии не затухает во всем исследованном интервале времен от нескольких секунд до нескольких суток (Гусев 1993). При этом никакой корреляции между колебаниями ЧЖК и относительной дисперсией обнаружить не удалось. В качестве примера на рис. 1.5.3 представлена «зависимость» предыдущих данных друг от друга.

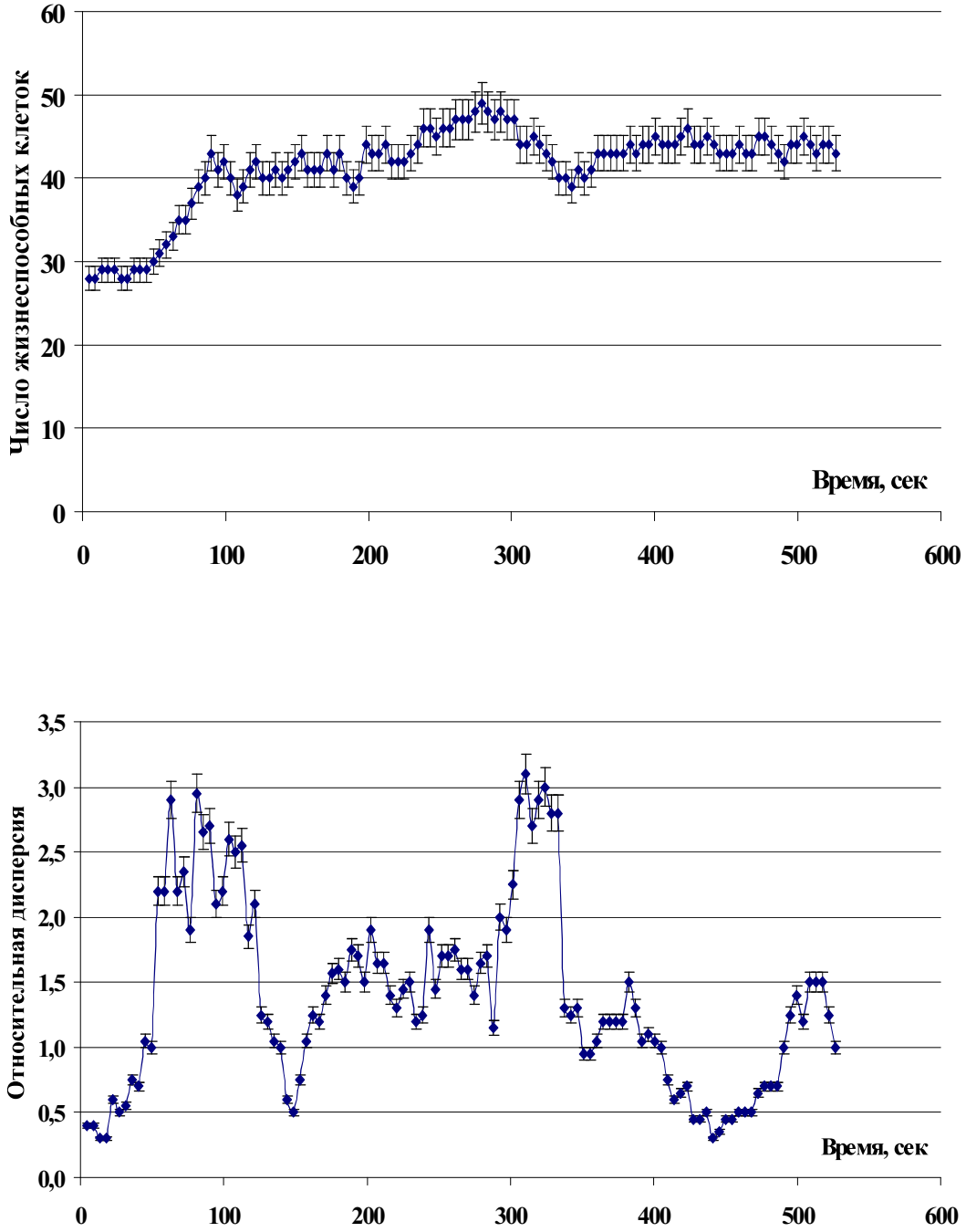


Рис. 1.5.2. Вариации ЧЖК и относительной дисперсии на малых времен'ных интервалах. Пробы из исходного объема популяции с концентрацией $\approx 4\times10^3$ $см^{-3}$ отбирались с интервалом 0.5 сек. Точки на обеих кривых получены усреднением по времен'ному интервалу 4 сек

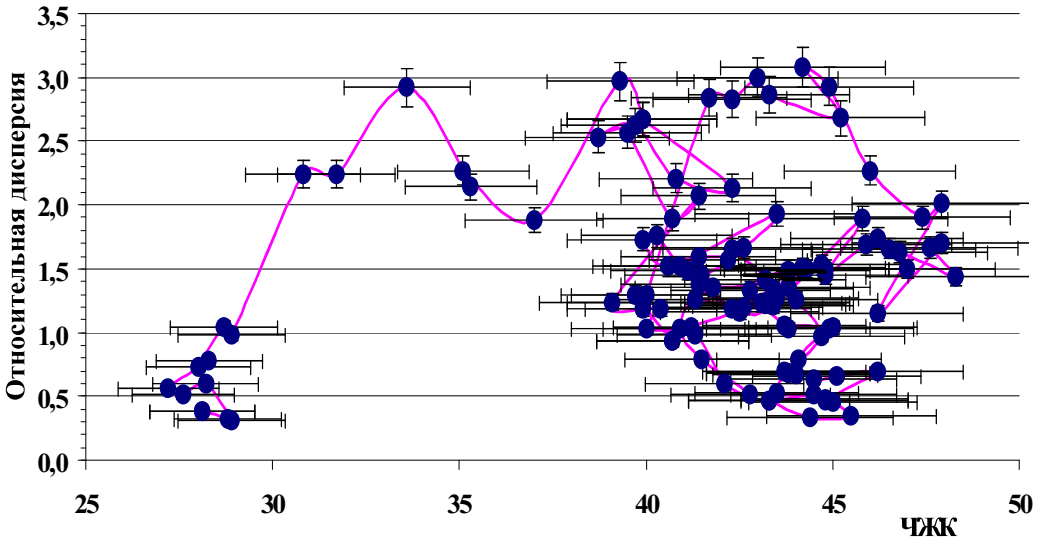


Рис. 1.5.3. Дрейф относительной дисперсии при концентрации клеток $\approx 4\times10^3$ см$^{-3}$. Каждая точка на графике получена после усреднения массива из 8-ми точек

Обращает на себя внимание тот факт, что дрейф относительной дисперсии происходит в данном случае не вблизи единицы, а вблизи $\sigma^2/\bar{k} \approx 1.5$.

Иначе, с каким бы периодом ни отбирались пробы, не удалось констатировать наличия стационарного состояния ЧЖК, для которого $\sigma^2/\bar{k}=1$. Отмеченные периоды колебаний не имеют строгой воспроизводимости от эксперимента к эксперименту, хотя внутри одной серии измерений достоверно фиксируются. На рис. 1.5.4 представлены результаты аналогичного анализа для предельно низкой концентрации клеток.

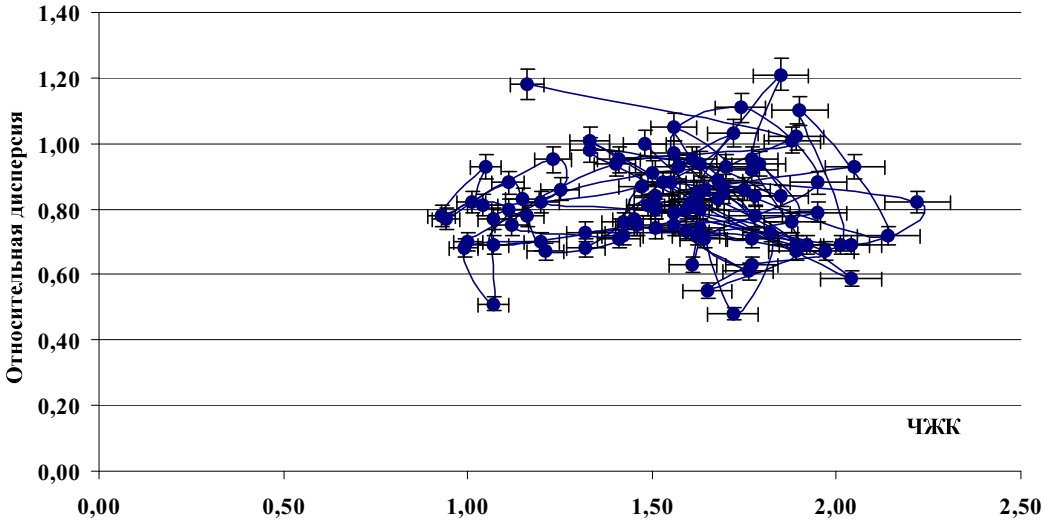


Рис. 1.5.4. Относительная дисперсия при малых концентрациях 100-200 см$^{-3}$ микроорганизмов в воде. Условия проведения эксперимента: температура +4^{o}C, объем выборки для каждой точки графика 96 проб

Все точки в данном эксперименте получены на одной и той же популяции клеток в условиях низкой температуры (+4^{o}C), поэтому наблюдаемый разброс ЧЖК не может быть связан с амплификацией клеток. Необходимо отметить, что каждая точка на рис.1.5.4 получена после усреднения данных по массивам, содержащим 96 дискретных проб. Ошибка определения ЧЖК и относительной дисперсии не превышают в этом случае 4%. Таким образом, наблюдаемые разбросы $\sigma^2/\bar{k}$ и $\bar{k}$ обусловлены не ошибкой измерения, а нестационарностью исследуемого явления. Эти наблюдения послужили основанием для постановки серии экспериментов с целью выяснения зависимости среднего значения $\sigma^2/\bar{k}$ от концентрации клеточной суспензии.

На рис. 1.5.5 представлена зависимость усредненного по времени значения относительной дисперсии $\langle \sigma^2/\bar{k} \rangle_T$ при различной концентрации клеток (среднее значение ЧЖК в пробе $\bar{k}$ пропорционально средней концентрации клеток $\bar{K}$, так как отбор проб производился строго фиксированным объемом). Времен'ные интервалы усреднения изменялись случайным образом от точки к точке в пределах 1 - 4 часов. Данный метод обработки выбран для того, чтобы

нивелировать систематическую ошибку, неизбежно вносимую при подсчете

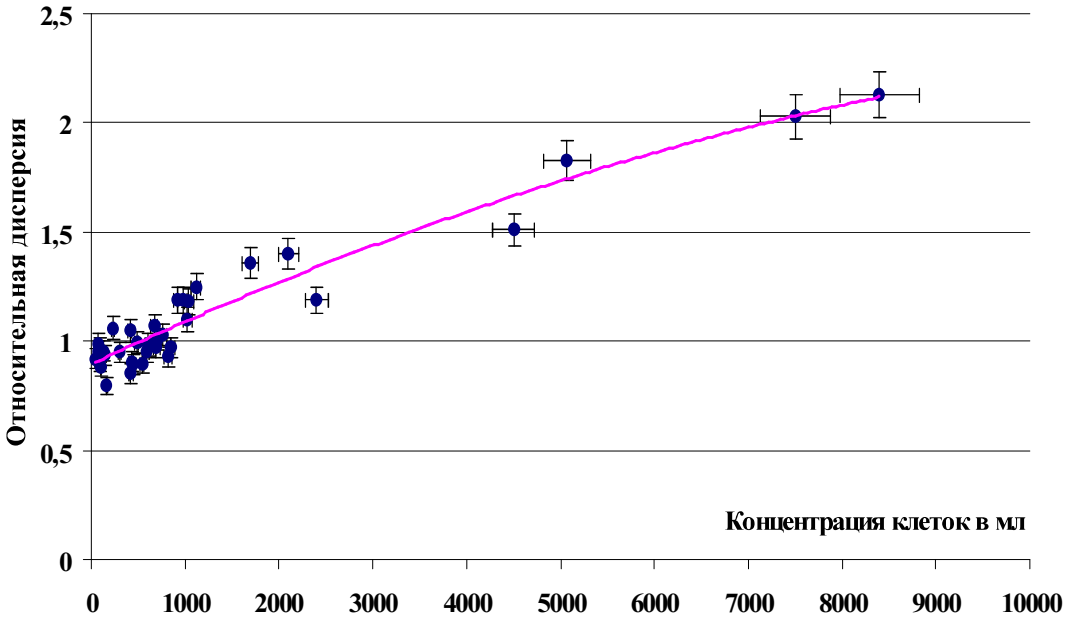


Рис. 1.5.5 Зависимость относительной дисперсии от концентрации клеток

среднего значения интеграла по времени:

$$\frac{1}{T}\int_0^T \frac{\sigma^2}{\bar{k}}(t,\bar{K})dt = \langle \sigma^2/\bar{k} \rangle_T(\bar{K}), \qquad (1.5.3)$$

который экспериментально подсчитывается в виде суммы:

$$\langle \sigma^2/\bar{k} \rangle_T(\bar{K}) = \frac{1}{T}\sum_{t=1}^{t=T}\left(\sigma^2/\bar{k}\right)_t . \qquad (1.5.4)$$

Здесь $\sigma^2/\bar{k}\,(t,\bar{K})$ является функцией двух переменных: времени t и концентрации клеток $\bar{K}$, а после усреднения по времени – только от $\bar{K}$. Поскольку зависимость от времени $\sigma^2/\bar{k}\,(t,\bar{K})$ неизвестна, следовательно, точное значение суммы (1.5.4) можно вычислить лишь при $T\to\infty$, что экспериментально невозможно. Обрывая случайным образом предел суммирования, мы сознательно увеличиваем разброс между точками $\langle \sigma^2/\bar{k} \rangle_T$, но зато достоверно выявляем тенденцию изменения относительной дисперсии от

концентрации клеток.

Как видно из рис. 1.5.5, Пуассоновской статистике, для которой $\sigma^2/\bar{k}$ =1, подчиняются популяции, концентрация микроорганизмов в которых K_b ≅ 800 см$^{-3}$. При концентрациях меньших 800 клеток в см$^{-3}$ достоверно $\sigma^2/\bar{k}$ <1, а по мере увеличения концентрации наблюдается перманентный рост $\sigma^2/\bar{k}$.

Отклонение $\sigma^2/\bar{k}$ от единицы можно формально интерпретировать как изменение пространственного распределения жизнеспособных клеток в объеме образца от чисто случайного с $\sigma^2/\bar{k}$ =1, к регулярному с $\sigma^2/\bar{k}$ <1 и к образованию неоднородных в пространстве концентрационных сгустков клеток, в этом случае $\sigma^2/\bar{k}$ >1. Принципиальная возможность образования скопления клеток существует – клетки *E.coli* обладают собственной подвижностью и могут перемещаться в воде со скоростью v = 20-25мкм/сек (Каппуччинелли 1982). Это пространственное перемещение клеток легко блокировать в вязкой среде. Как было показано в нашей работе (Гусев 1993), характер вариаций ЧЖК не изменяется в агаризованных (гелеобразных) средах, в которых клетки не способны перемещаться и, следовательно, создавать локальные изменения концентрации. Кроме того, в этой же работе показано, что в популяции мутантных клеток *E.coli*, лишенных подвижности также наблюдаются квазипериодические изменения ЧЖК.

Таким образом, рассмотренные в этом разделе вариации величин $\sigma^2/\bar{k}$ и k не могут быть однозначно связаны с соответствующими изменениями плотности клеток в объеме образца при их хаотическом или направленном перемещении в пространстве. Другими словами, вариации ЧЖК, а также их статистических производных величин - среднего значения $\bar{k}$ и отношения дисперсии к среднему $\sigma^2/\bar{k}$ - не являются результатом неоднородного распределения клеток как молекулярных объектов в объеме суспензии или их амплификации. Подробный анализ этого явления будет проведен в следующих главах.

1.6 Фрактальные свойства популяции клеток *E.coli*

Мы уже отмечали, что вариации ЧЖК присутствуют на временных масштабах от нескольких секунд до многих суток. Таким образом, есть основания проанализировать временные ряды ЧЖК на наличие фрактальных свойств.

По определению пространственным фрактальным объектом является такой объект, пространственная структура которого инвариантна по отношению к изменению масштабов. Классическими примерами природных фрактальных объектов являются береговые линии, облака, системы нейронов и кровеносных сосудов человека. В качестве примера аналитического фрактального объекта обычно используется кривая Кох (Федер 1991; Олемской, Флат 1993), алгоритм формирования которой заключается в следующем: исходным является отрезок единичной длины далее отрезок делится на три части, средняя часть выбрасывается и ее место заполняют два отрезка длиной 1/3 как показано ниже.

Эта процедура повторяется при каждой итерации для всех линейных фрагментов. В пределе при бесконечном числе итераций будет сформирован объект, пространственная размерность которого $1<D_R<2$. В общем случае для аналитических объектов фрактальная размерность определяется как $D_R=-\ln n/\ln\varsigma$, где n - число элементарных единиц, из которых формируется объект, ς – масштабный фактор при каждой итерации. Для кривой Кох $n=4$, $\varsigma=1/3$ и $D_R=1.2628$.

Для непериодических времен'ных рядов также можно ввести понятие времен'ной фрактальной размерности. В нашем случае такими времен'ными рядами являются зависимости число жизнеспособных клеток при фиксированной концентрации. Для того, чтобы вычислить времен'ную фрактальную размерность водного объема образца с клетками воспользуемся методом, описанным в монографии (Федер 1991, с. 178). Речь идет о вычислении константы Херста H, значение которой определяется по формуле:

$$H = \frac{\ln\{(K_{\max} - K_{\min})/\sigma\}}{\ln(N/2)}, \qquad (1.6.1)$$

где K_{max} и K_{min} - максимальное и минимальное значение ЧЖК в пробах на всем массиве данных, σ - дисперсия, $N = \frac{t}{\tau}$ - число точек в массиве, полученное в течение времени t с периодичностью отбора проб τ. Величина H зависит от объема массива, поэтому необходимо было экспериментально определить его минимальное значение, чтобы избежать некорректных оценок. На рис. 1.6.1 показано, что H асимптотически стремится к постоянной величине при $N > 600$. В представленных здесь экспериментальных данных использованы объемы массивов из 800-900 точек, для которых асимптотическое значение константы Херста определяется с точностью не хуже 2%.. Соответствующие асимптотическое значения H представлены на рис. 1.6.2 в зависимости от среднего ЧЖК в пробе. Поскольку во всех экспериментах данной серии объем отбираемой пробы составлял 10 мкл, то фактически представленная зависимость константы Херста является функцией от концентрации клеток, то есть $H(K)$.

Как видим, значение H достигает минимума, равного H_{min}= 0.26±0.01 (усреднение проводилось по 12–ти точкам вблизи минимума), для концентрации микроорганизмов в пробе $K_{min} \approx$ (70 – 100) см$^{-3}$. При $K \to 0$ H достоверно возрастает, но определить точное предельное значение не представляется возможным, так как объем выборки возрастает экспоненциально по мере убывания K. При $1200 > K > 300$ константа Херста практически остается постоянной $H(K_{st})$ = 0.309±0.004 (усреднение проводилось по 9-ти последним точкам).

В работе (Федер 1991) показано, что константа Херста равна H = 0.5 для временного массива данных с Гауссовым характером вариаций измеряемой величины. Значения H < 0.5 характерны для так называемого антиперсистентного стохастического процесса, при котором уровень шума по порядку величины совпадает с глобальными отклонениями сигнала. Наоборот, при $1.0 > H > 0.5$ реализуется самоподдерживающийся или персистентный стохастический процесс, для которого характерно наличие довольно четко выраженной тенденции изменения измеряемой величины на фоне относительно

малого шума. В общем случае, как отмечено в работе (Федер 1991, с. 182), *«когда приходится сталкиваться с проявлениями персистентных стохастических процессов, возникает соблазн поиска периодичностей»*.[3]

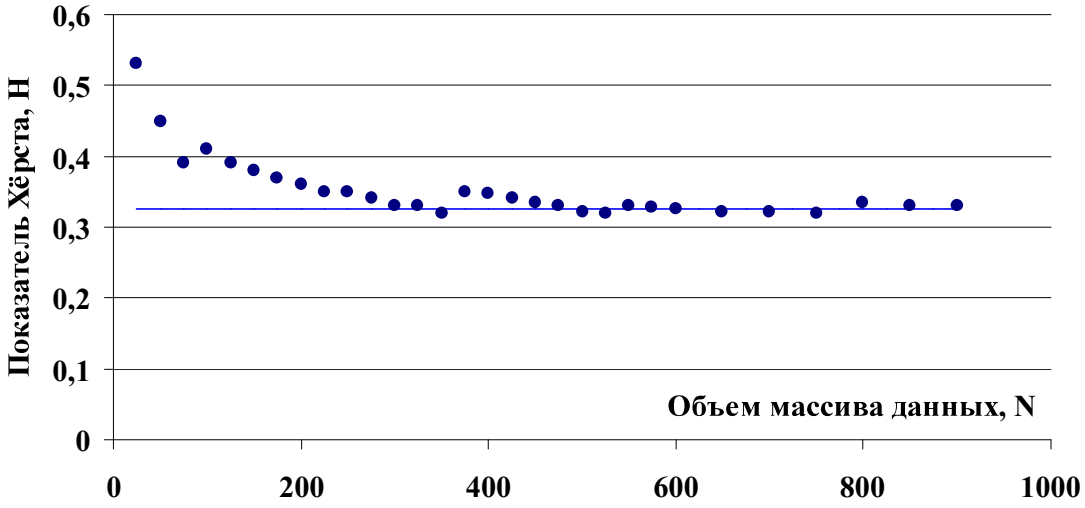


Рис. 1.6.1. Определение константы Хёрста по асимптоте H(N). Условия проведения эксперимента: температура 0°C, концентрация клеток K=531±8 см$^{-3}$. Асимптотическое значение H_{lim}=0.325±0.005

Таким образом, в неростовом режиме при концентрации клеток ниже $K_{min} \approx$ 100см$^{-3}$ временная динамика популяции носит персистентный характер. В чистом виде полностью хаотическая Гауссова динамика проявляется при концентрациях, близких к 10см$^{-3}$. Только вблизи этой концентрации жизнеспособные бактерии проявляют независимый характер. В ростовом же диапазоне концентраций $K_{st}>K>K_{min}$ поддерживается антиперсистентная стохастическая динамика с $H < 0.5$, когда наблюдаются кооперативные явления. Подробный анализ этих явлений будет проведен в Главе 3.

[3]Касаясь истории вопроса исследования динамики популяций в бессубстратных условиях, нужно отметить, что этот «соблазн» длительное время преследовал нас. Как показано в работе (Гусев 1993), в стационарных популяциях при концентрации клеток $K_{st} \approx 3\times10^6$ см$^{-3}$ можно наблюдать периоды колебаний числа жизнеспособных клеток в широком диапазоне времен. Тщетные попытки выявить какую-либо закономерность в чередовании этих периодов или связать их с внешними периодически действующими факторами не увенчались успехами.

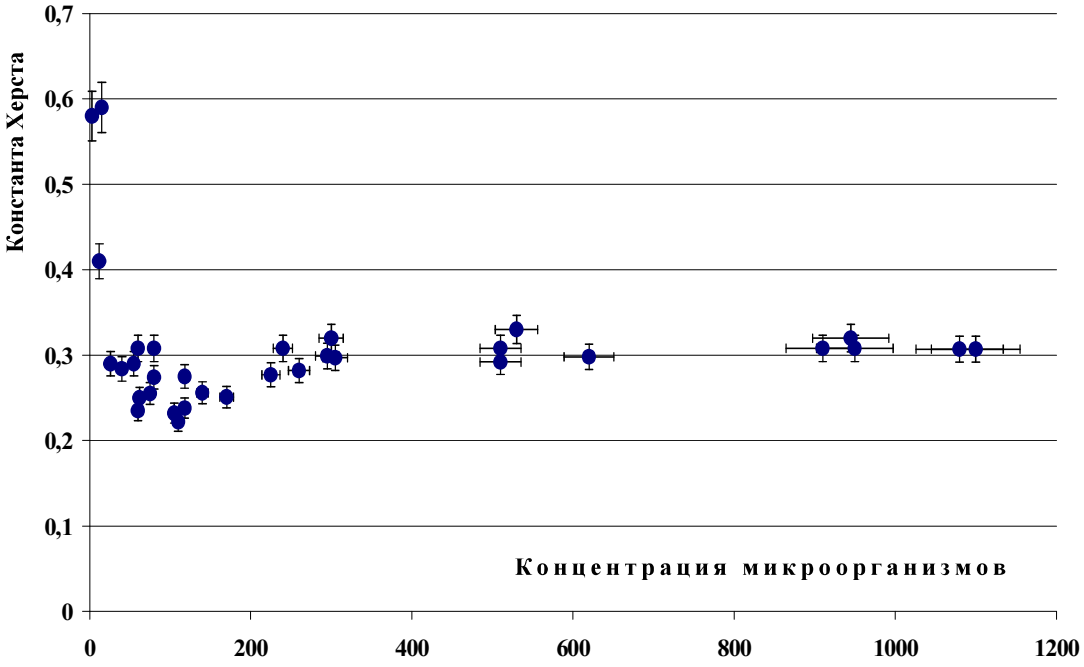


Рис. 1.6.2. Зависимость константы Херста от концентрации клеток. По оси абсцисс концентрация клеток в $см^3$, все точки получены в идентичных экспериментах

1.7. Дискретная структура гистограмм, описывающих распределение жизнеспособных клеток в объеме популяции

На рис. 1.7.1 представлена гистограмма распределения ЧЖК, полученная на массиве из 343 идентичных проб, отбираемых из исходного объема популяции[4]. Характерной особенностью этой гистограммы является полимодальность. Множество аналогичных гистограмм представлено в работе (Гусев 1993), все они также имеют полимодальную структуру. Каждое значение максимума на рис. 1.7.1 следует интерпретировать так, что при отборе проб из данной популяции

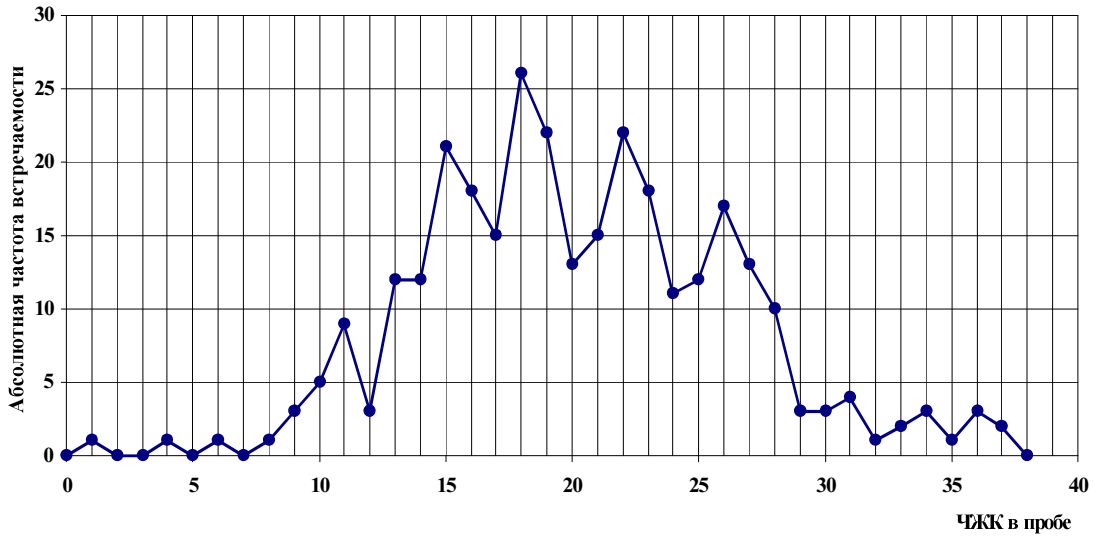


Рис. 1.7.1 Гистограмма распределения ЧЖК в массиве из 343 точек, отобранных с интервалом 0.5 сек, концентрация клеток $(2\pm0.03)10^3$ см$^{-3}$

[4] Как правило, в экспериментах, аналогичных данному, соотношение величин исходного и отбираемых объемов разнились на четыре – пять порядков, поэтому исходный объем популяции практически не изменялся в процессе эксперимента.

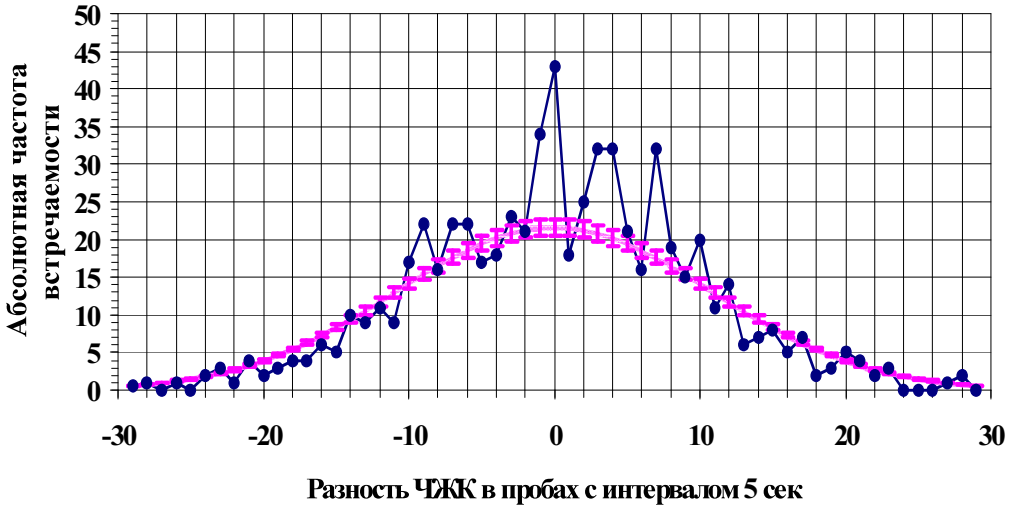
Рис. 1.7.2 Распределение частот встречаемости разности ЧЖК между ближайшими пиками на гистограммах типа рис. 1.7.1

наиболее часто встречаются пробы с ЧЖК 18 и далее по мере убывания частоты встречаемости 22, 15, 26, 13 и 11. А пробы с числом живых клеток 17, 20, 24 и 12 менее предпочтительны. При анализе большого набора гистограмм не удалось выявить какого – либо предпочтения чисел в указанных рядах. Однако дистанция между максимумами в разных массивах имеет одну общую закономерность. На рис. 1.7.2 представлено распределение частоты встречаемости расстояний Δk между двумя соседними пиками, выраженное в числе жизнеспособных клеток. В качестве критерия достоверности различия двух близлежащих максимумов использовали следующее условие: два соседних максимума с Δk = 2, 3, 4... считались различимыми, если отношение частоты встречаемости проб с ЧЖК в промежутке между пиками к частоте встречаемости ЧЖК в каждом из максимумов было меньше стандартного отклонения 0.75. Два соседних пика считались отстоящими на Δk=1, если отношение их высот было больше 0.75. Всего проанализировано 20 гистограмм, аналогичных представленной на рис. 1.7.1. В каждой из них отобрано от 3-х до 5-ти пар пиков, отвечающих указанным критериям. Как видно из рис. 1.7.2 предпочтительные значения Δk между максимумами принимают четные значения 2, 4 (и, по-видимому, 8).

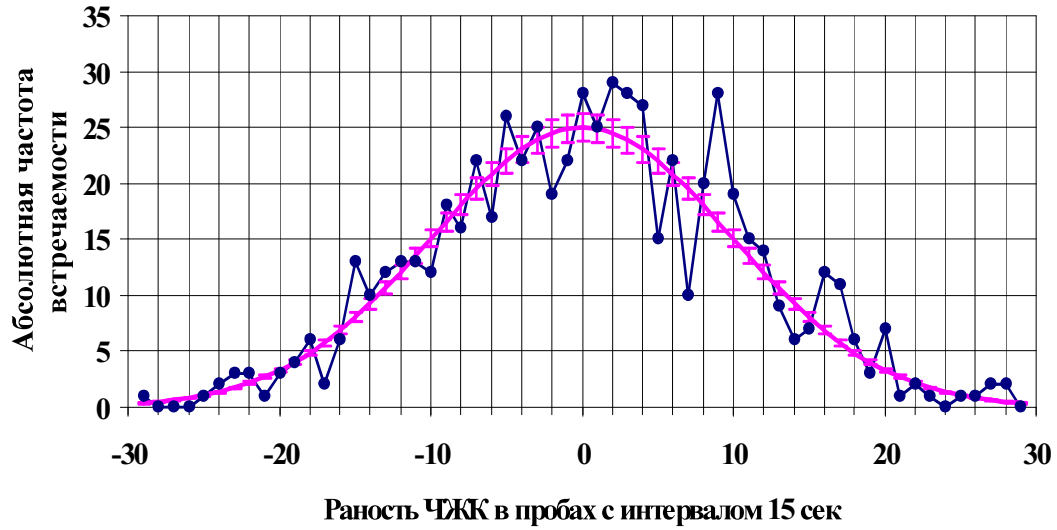
Поскольку среднее значение ЧЖК не остается постоянным – на фоне медленного дрейфа возникают кратковременные колебания – следствием этого и является полимодальность гистограмм. С другой стороны, наличие дрейфа ЧЖК должно было бы привести к тому, что частота встречаемости проб во временном ряду, содержащих одно и тоже ЧЖК должна быть ниже статистического предела. В эксперименте же наблюдается обратное явление. На рис. 1.7.3 представлена серия гистограмм распределения разницы между двумя пробами $\Delta k(t) = k_2 - k_1$, отстоящих друг от друга по времени на 5, 10, 15, 25 сек. Здесь 5 сек средний минимальный интервал между двумя пробами во временном ряду. Гистограммы симметричны относительно $\Delta k = 0$, плавные кривые - их аппроксимация нормальным распределением:

$$f(\Delta k) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{\Delta k^2}{2\sigma^2}}. \qquad (1.7.1)$$

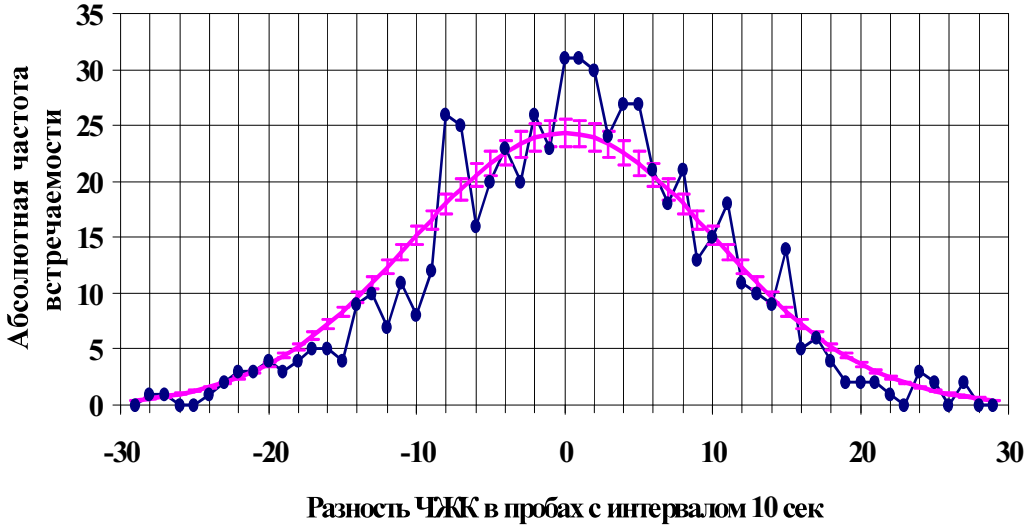
Как видно из рис. 1.7.3, при t = 5 сек частота встречаемости проб, содержащих



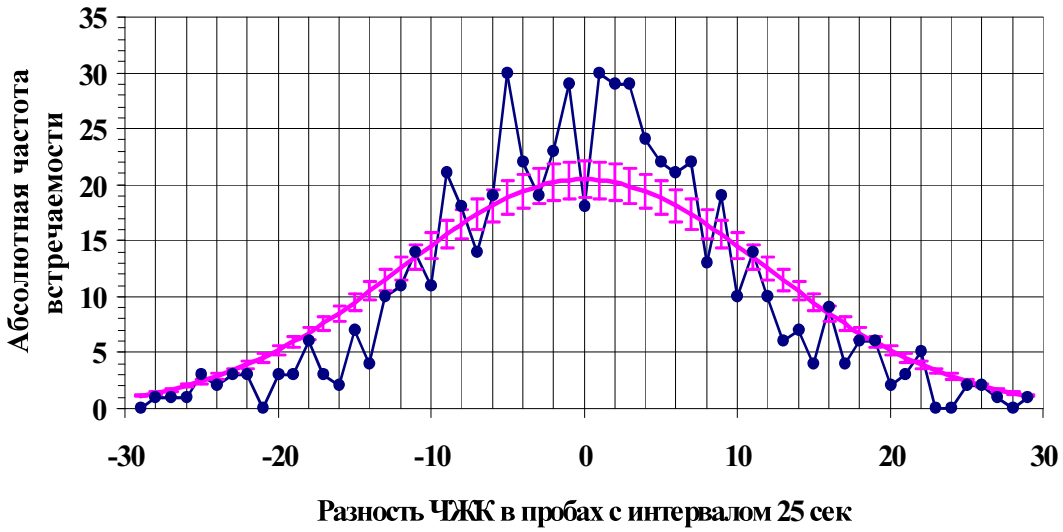
Апроксимационное уравнение $f(\Delta K)$=21.67exp-(ΔK^2/235.3), где массив точек N=647 и дисперсия σ=11.4±0.54, коэффициент корреляции R=0.93



Апроксимационное уравнение $f(\Delta K)$=17.0exp-$(\Delta K^2/435.1)$, где массив точек N=629 и дисперсия σ=14.75±1.3, коэффициент корреляции R=0.87



Апроксимационное уравнение $f(\Delta K)$=25.0exp-$(\Delta K^2/197.6)$, где массив точек N=623 и дисперсия σ=9.9±0.2, коэффициент корреляции R=0.93



Апроксимационное уравнение $f(\Delta K)=20.5exp\text{-}(\Delta K^2/292)$, где массив точек $N=620$ и дисперсия $\sigma=12\pm1$, коэффициент корреляции $R=0.89$

Рис. 1.7.3. Серия гистограмм распределения разницы ЧЖК между двумя пробами, отстоящими друг от друга на 5, 10, 15 и 25 сек. Условия эксперимента: температура комнатная, концентрация клеток 4×10^3 см$^{-3}$

одно и тоже ЧЖК в два раза превышает статистически значимое, рассчитанное по формуле (1.7.1). В пробах, отстоящих друг от друга по времени на величину > 5 сек, эта разница постепенно нивелируется. Предполагая, что релаксация центрального пика к среднестатистическому значению происходит по экспоненте можно оценить характерное время релаксации и значение максимума в произвольный начальный момент времени. Соответствующие величины равны $\tau \approx 4.7$ сек и $n \approx 75$ (сумма статистического значения в максимуме 22 и превышение над ним 53), то есть в 75/22=3.5 раза больше статистически допустимого значения.

Таким образом, в дополнении к тому, что число жизнеспособных клеток в отбираемых пробах имеет тенденцию изменятся кратно 2-м, оно также стремиться оставаться одинаковым при условии достаточно малого интервала времени между пробами.

Из представленных данных можно сделать заключение о том, что на малых временах (менее 5 сек) распределение жизнеспособных клеток имеет

тенденцию к упорядочиванию в пространстве. В противном случае невозможно объяснить заведомое превышение частоты встречаемости проб, содержащих равное число жизнеспособных клеток над статистическим пределом. Об этом же свидетельствуют данные, представленные в разделе 1.5, где показано, что относительная дисперсия $\sigma^2/\bar{k}$ может эпизодически принимать значения существенно меньше единицы.

Заключение к Главе 1

В данной главе представлен основной пул экспериментальных данных, полученных автором со своими коллегами в течение более 10-ти лет. Достаточно беглого взгляда профессионала экспериментатора, чтобы увидеть, что большая часть экспериментов, ставилась по принципу «что будет если …». Действительно, после первых экспериментов, поставленных в 1986 году, когда было обнаружено явление амплификации органотрофов в среде без органического субстрата, автор много времени потратил на то, чтобы доказать артефактность данного феномена – слишком он противоречил «очевидным истинам». После анализа литературы, когда выяснилось, что с аналогичным феноменом сталкивались и другие группы исследователей, но так и не продвинулись в построении моделей, объясняющих его, постановка наших экспериментов приобрела уже системный характер с позитивным началом. В следующих главах представлен экспериментальный материал, выполненный в целевом режиме, то есть в режиме отладки модели явления, описанной в Гл.2.

Гава 2 Построение моделей

2.1 Математическое моделирование

2.1.1 Описание кривых роста и стационарного состояния популяций

Построение математических моделей начнем с описания хорошо воспроизводимого экспериментального результата – стационарной концентрации клеток $K_{max} \approx 10^6$ см$^{-3}$, к которой асимптотически стремятся все популяции независимо от их начальной концентрации (рис. 1.1.2). Убедимся в начале, что наличие пороговой концентрации не обусловлено лимитом по углероду, азоту и т.д.[1] Действительно, последние, являясь атмосферными компонентами, присутствуют в воде всегда в равновесной концентрации независимо от концентрации клеток и их жизнедеятельности. В этом случае следует ожидать лишь постепенного замедления скорости роста размножающихся популяций по мере увеличения концентрации клеток с переходом от экспоненциального размножения к линейному. Составим формальное описание кинетики размножения клеток.

В отсутствие каких-либо лимитов прирост числа клеток описывается следующим уравнением:

$$\frac{dK}{dt} = \frac{K}{\tau}, \qquad (2.1.1)$$

где τ – характерное время амплификации клеток. Решение его при начальной концентрации клеток K_o:

$$K = K_o \exp\frac{t}{\tau} \quad \text{или} \quad \ln\frac{K}{K_o} = \frac{t}{\tau}. \qquad (2.1.2)$$

Такая зависимость наблюдается на рис. 1.1.1 между 10 и 20 часам инкубирования с характерным временем по усредненным данным $\tau \cong 90$ мин, что соответствует среднему времени удвоения клеток $\tau_2 \cong 60$ мин.

Как показано в разделе 1.1 равновесная концентрация углерода в воде (в виде CO_2) приблизительно равна концентрации биомассы клеток в стационарном состоянии $K_{max} \approx 10^6$ см$^{-3}$. Тогда формальное описание дальнейшего прироста числа клеток при условии $[CO_2] = K_{max} = \text{const}$ соответствует уравнению:

[1]Отметим сразу, что здесь рассматриваются условия материального баланса. Вопрос об утилизации неорганического углерода, азота и др. будет обсуждаться в разделе 2.2.1.

$$\frac{dK}{dt} = \frac{K_{\max}}{\tau}. \qquad (2.1.3)$$

Его решение имеет вид линейного по времени уравнения:

$$K = K_{\max}\left(\frac{t}{\tau}+1\right) \text{ или } \ln\frac{K}{K_{\max}} = \ln\left(\frac{t}{\tau}+1\right) \qquad (2.1.4)$$

Из представленных экспериментальных данных следует, что после перехода в линейный режим размножения можно было ожидать ежесуточного прироста концентрации клеток на $\Delta K = 1.7\times10^7$ см$^{-3}$ (здесь $K_{max}= 10^6$ см$^{-3}$, t=24 час, τ=1.5 час). Как видим, экспериментально это не наблюдается. Многомесячные наблюдения за популяциями не выявляет тенденции к увеличению концентрации клеток после достижения стационарного значения $K_{max}\approx 10^6$ см$^{-3}$. Следовательно, в рамках рассматриваемой кинетической модели можно сделать вывод о том, что не субстратное лимитирование является фактором, ограничивающим рост популяции.

С другой стороны асимптотическое приближение к этому же пределу $K_{max} \approx 10^6$ см$^{-3}$ популяций, начальная концентрация которых превышает указанное значение (рис. 1.1.3) свидетельствует о том, что лимитирующим фактором в этих условиях может быть энергетическая ёмкость среды, которая обеспечивает поддержание жизнеспособности только такой концентрации клеток.

Таким образом, предполагая, что наиболее часто встречаемая концентрация клеток $K_{max} \approx 10^6$ см$^{-3}$ обусловлена средней энергоёмкостью экзогенного источника, мы можем описать в первом приближении весь представленный набор экспериментальных данных одним уравнением типа уравнения Ферхюльста (Шустер 1988):

$$\frac{dW}{dt} = \mu_1 W\left(W_{\max} - W\right), \qquad (2.1.5)$$

где t – время, W – энергетическая ёмкость популяции, W_{max} – максимальная энергоёмкость среды, μ_1 – кинетический коэффициент. Энергетическую ёмкость популяции клеток определим как $W=Kw_o$, где K концентрация клеток, w_o – энергия, необходимая для синтеза бактериальной биомассы из полностью окисленных соединений углерода CO_2, водорода H_2O и других необходимых элементов. С учетом этих замечаний можно переписать уравнение (2.1.5) в виде:

$$\frac{dK}{dt} = \mu K\left(K_{\max} - K\right), \tag{2.1.6}$$

где $\mu = \mu_1 w_o$.

Уравнения (2.1.5) и (2.1.6) полностью эквивалентны друг другу, но первое определено в энергетических терминах, численные значения которых труднодоступны для непосредственного измерения. Во втором уравнении присутствуют величины, численное значение которых легко получить из представленных экспериментов. Решение уравнения (2.1.6) выглядит следующим образом:

$$K = \frac{K_{\max}}{1 + \left(\frac{K_{\max}}{K_o} - 1\right)\exp(-\frac{t}{\tau})}, \tag{2.1.7}$$

где K_o – начальная концентрация клеток, K_{max} – максимальная стационарная концентрация, $\tau = 1/\mu K_{max}$. Графическое изображение этого уравнения при различных начальных данных представлено на рис.2.1.1, что соответствует характеру кривых, представленных на рис. 1.1.3.

Если параметр $K_{max} = W_{max}/w_o$ в уравнении (2.1.7) не является константой, а дрейфует или варьирует со временем как $K_{max}(t) = W_{max}(t)/w_o$ это соответственно отразится на экспериментальных кривых в виде дрейфа или вариаций числа жизнеспособных клеток. Последнее является непременным атрибутом всех экспериментов, представленных в первой главе. Конкретный вид функции $W_{max}(t)$ неизвестен, следовательно, неконтролируем в данных условиях эксперимента. Мы можем лишь *post factum* констатировать зависимость $K_{max}(t)$ анализируя вариации числа жизнеспособных клеток.

Таким образом, уравнение Ферхюльста, содержащее два свободных параметра описывает весь набор экспериментальных кривых в диапазоне начальных концентраций $K_o \geq K_{min}$ (см. раздел 1.1). Параметры, входящие в уравнение (2.1.7) легко определяются из эксперимента.

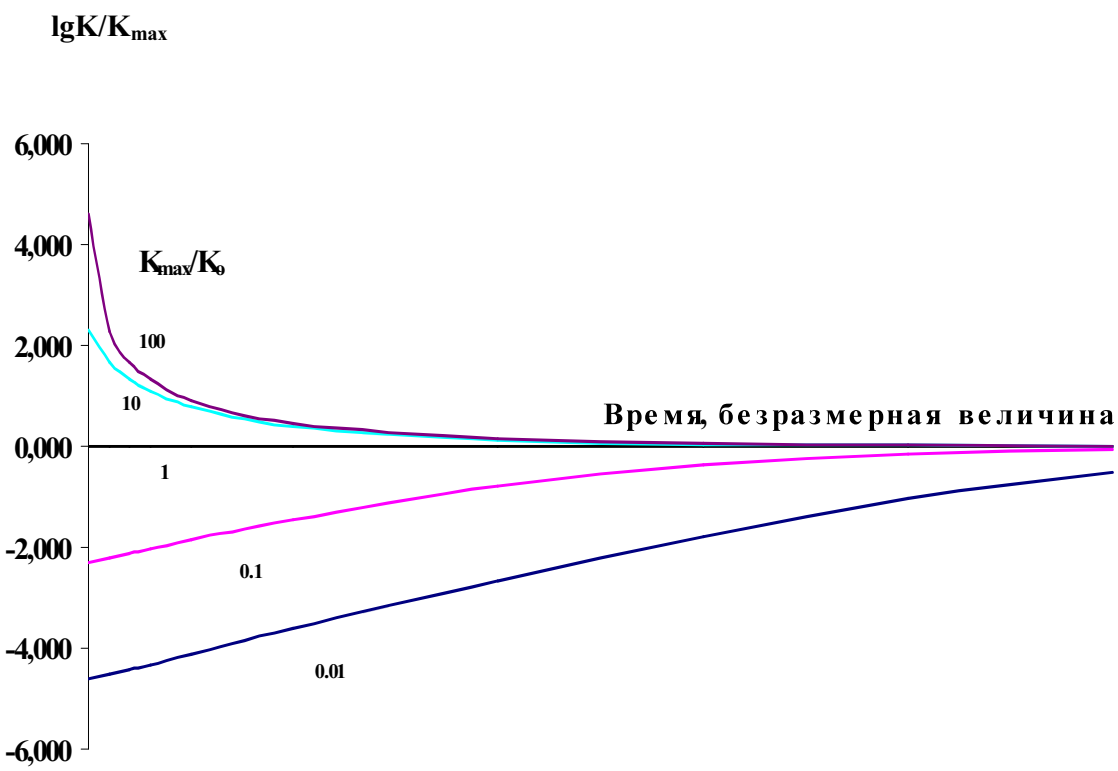


Рис. 2.1.1. Графики уравнения Ферхюльста. Цифры возле кривых соответствуют начальным данным K_{max}/K_o

2.2 Физическое моделирование

В этом разделе мы переходим к построению физической модели, на основе которой можно проинтерпретировать экспериментальный материал, представленный в данной работе, без привлечения «излишних сущностей», согласно принципу Оккама. Для того, чтобы построить физическую модель живой популяции воспользуемся «*методом исключения невозможного, а то, что после этой процедуры останется примем за суть, какой бы неправдоподобной она ни казалась*».[2] Проанализируем эксперименты, представленные в данной работе на предмет их противоречивости:

1. Источники свободной энергии в виде химических соединений отсутствуют, а число жизнеспособных клеток менее чем за сутки может

[2] Метод заимствован у П.А.М. Дирака, который, в свою очередь, воспользовался рекомендацией Конан Дойля (Дирак 1990, с. 12). “Очень хороший рецепт, если только еще знать, как отличить невозможное от неправдоподобного».

увеличиться на три – четыре порядка. В условиях дополнительной электромагнитной изоляции от всех возмущающих факторов популяция теряет стабильность и необратимо вымирает.

2. **Методика экспериментов исключает возможность формирования клетками неоднородностей в пространстве, как упорядоченных структур, так и неупорядоченных сгустков. Тем не менее, вариации $\sigma^2/\bar{k}$ достоверно наблюдаются, что формально свидетельствует об обратном.**
3. **Исключен внутрипопуляционный обмен химическими сигналами, но поведение изолированных друг от друга популяций скоррелированно.**
4. **Активное воздействие известными химическими или физическими факторами на клетки исключено. Тем не менее, мутационный фон претерпевает сложную эволюцию.**

Попытаемся построить самосогласованную физическую модель, с помощью которой можно было бы разрешить все указанные противоречия.

2.2.1 Разрешение первых двух противоречий

Анализ свойств энергоисточника, обеспечивающего выживаемость и амплификацию клеток *E.coli* в дистиллированной воде, вплотную подводит нас к мысли о том, что этим источником является электромагнитное поле. Примем это положение и попытаемся определить параметры поля на основе имеющегося экспериментального материала.

Среднюю интенсивность поля можно оценить, исходя из того, что за время τ_2 происходит удвоение клеток в водной среде. Количество энергии, необходимое для этого процесса оценим из следующих соображений. Основные элементы живой клетки углерод и водород имеют в среднем степень окисления соответствующую степени окисления их в молекуле глюкозы $C_6H_{12}O_6$ (Мецлер 1980). Брутто формула органического вещества одной клетки *E.coli* массой $m \approx 2\times10^{-13}$г выглядит как $(C_6H_{12}O_6)\times n$, где $n \approx 10^9$. При сгорании такого количества глюкозы до CO_2 и H_2O в стандартных условиях выделится энергия в количестве 3×10^{-9}дж.

Очевидно, что при биохимическом синтезе клетки массой m необходимо

затратить больше энергии из-за тепловых потерь (Кальве, Прат 1963, с. 321-333). Численное значение к.п.д. «биохимической машины» оценим из данных по окислению глюкозы в цепи гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования. На одну молекулу глюкозы в этой цепи выделяется 38 молекул АТФ (Эллиот, Эллиот 1999), свободная энергия которых составляет около 2×10^6дж/моль, полная же энергия сгорания глюкозы 2.8×10^6дж/моль (Кратк. справ. Физ.-хим. вел. 1965). Таким образом, максимальное значение к.п.д. биосинтеза $\eta \le 0.7$. С учетом тепловых потерь количество энергии необходимое для синтеза клетки из неорганического вещества составляет $w_o \ge 4.3\times10^{-9}$дж/клетку.

Аккумулятором энергии электромагнитной волны может быть эндоплазматическая мембрана, выступающая в данном случае как электрическая емкость. Запишем уравнение баланса, считая, что только α – часть энергии электромагнитного поля поглощается и используется на синтез клеточной биомассы:

$$\frac{\partial W}{\partial t} = \alpha \oint_s \vec{P} d\vec{S}, \qquad (2.2.1)$$

где $\vec{P} = \vec{E} \times \vec{H}$ - вектор Пойтинга, t- время, s- поверхность клетки, по которой проводится интегрирование. Проведем численную оценку считая, что клетка находится в поле плоской электромагнитной волны амплитудой E_o и частотой ω. Среднее по времени значение вектора Пойтинга $P = \frac{\sqrt{\varepsilon_m}\varepsilon_o c}{2} E_o^2$, где ε_m и ε_o – диэлектрические проницаемости клеточной мембраны и вакуума соответственно, c – скорость света. Предполагая в данной модели без особого ущерба для оценок клетку сферической формы радиуса r, из (2.2.1) получим для амплитуды поля величину:

$$E_o = \frac{1}{r}\sqrt{\frac{2w_o}{\alpha\pi\varepsilon_o c\tau_2\sqrt{\varepsilon_m}}}. \qquad (2.2.2)$$

Подставив численные значения известных величин: $\varepsilon_o = 8.85\times10^{-12}$ (СИ), $c = 3\times10^8$ м/сек, $r \approx 2.5\times10^{-7}$ м – радиус клетки, $\varepsilon_m \approx 3$ (Березовский, Колотилов 1990), $\tau \approx 4\times10^3$ сек (см. рис. 1.1.1) получим оценку $E_o \approx \alpha^{-0.5}\times 50$в/м. Для единственной неопределенной величины коэффициента поглощения можно задать диапазон разумных значений в пределах $0.1 \le \alpha \le 1.0$, тогда $160 \ge E_o \ge 50$ в/м.

В данный диапазон укладывается амплитуда напряженности электрического поля вблизи поверхности Земли, которая соответствует величине около 100 в/м по данным (Фейнман и др. 1966, с. 192) и 130 в/м по данным (Дятлов 1998).[3] Таким образом, есть основания утверждать, что предполагаемая модель источника энергии для амплификации микроорганизмов в дистиллированной воде имеет под собой реальную физическую основу. Необходимо отметить что, микробная клетка не может использовать непосредственно энергию электромагнитных волн. Поэтому приведенные рассуждения следует рассматривать скорее как «строительные леса», на базе которых будет строиться конкретная модель. Численные оценки амплитуды поля, приведенные выше, послужили для нас лишь иллюстрацией того, что мы не выходим за рамки реально наблюдаемых величин.

Определив источник свободной энергии в виде электромагнитного поля, необходимо определить и механизм его рецепции клетками. Естественным претендентом на роль приемника энергии электромагнитного поля в клетках, может быть бислойная липидная мембрана, которая способна аккумулировать энергию поля в виде электрического заряда. При обратном процессе разрядки мембраны, сопряженном с ферментативным синтезом АТФ за счет этой энергии, клетка получает свой универсальный энергоисточник. Известно, что синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата осуществляется, в том числе ферментативным аппаратом, использующим энергию протонного трансмембранного потенциала (Скулачев 1989).

Рассмотрим стационарное состояние клетки, при котором скорости сопряженных энергетических процессов синтеза АТФ за счет энергии мембраны и зарядка мембраны протонами за счет энергии внешнего поля равны друг другу. В стационарном состоянии клеточная мембрана имеет постоянный потенциал $\varphi \approx 0.1$ - 0.2в (Кагава 1985; Скулачев 1989) [4] преодолеть его могут только те протоны, кинетическая энергия которых превышает порог:

---

[3]Следует помнить, что указанная напряженность поля измерена для постоянной составляющей и формально не имеет отношения к плоским электромагнитным волнам. Однако, для удобства и унификации дальнейших оценок мы будем использовать величину 130 в/м. Как будет показано ниже, при меньших значениях амплитуды будет возрастать время раскачки протона до необходимого значения энергии, принципиально же механизм энергетического обеспечения клеток не изменится.

[4]В дальнейшем для расчетов примем, что $\varphi = 0.1$в.

$$W_k \geq \varphi q = 1.6\times10^{-20} \text{ дж.} \qquad (2.2.3)$$

Для сравнения тепловая энергия, приходящаяся на одну степень свободы движения протона при 300°К равна 0.4×10^{-20} дж.

Водную среду можно рассматривать как ионную плазму в конденсированной среде, в которой присутствуют при нормальном pH=7.0 ионы H^+ и OH^- в равной концентрации $n_H = [H^+] = [OH^-] = 6\times10^{13}$ см$^{-3}$. В отличие от твердотельной плазмы в металлах и полупроводниках, в которых свободными носителями заряда являются электроны, в воде эту роль выполняют ионы водорода, способные свободно перемещаться по трехмерной сети водородных связей. Радиус Дебая или размер зоны экранирования электрического поля иона водорода в воде оценим по (Физическая энц. 1990):

$$r_D = \left(\frac{\varepsilon kT}{4\pi n_H q^2}\right)^{\frac{1}{2}} \qquad (2.2.4)$$

где k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура, q – заряд иона, ε – диэлектрическая постоянная воды. Расчет численных значений радиуса Дебая протона при $T = 300$°К для нейтрального pH = 7.0 дает величину 1.4×10^{-4}см. Это значение много больше толщины цитоплазматической мембраны клетки $h \approx 8\times10^{-7}$см, следовательно, на этом масштабе неизбежно будут возникать зоны нескомпенсированного электрического заряда. Время существования таких зон в дистиллированной воде при pH=7.0 в отсутствие внешнего поля оценим по (Арцимович, Сагдеев 1979):

$$\Delta t \approx \frac{r_D}{\upsilon_T} \approx \left(\frac{m}{kT}\right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\varepsilon kT}{4\pi n_H q^2}\right)^{\frac{1}{2}} = \left(\frac{\varepsilon m}{4\pi n_H q^2}\right)^{\frac{1}{2}} \approx 10^{-9} \text{ сек,} \qquad (2.2.5)$$

здесь m – масса протона, n_H – концентрация протонов.

Как будет показано ниже, длина свободного пробега протона в дистиллированной воде может достигать 7×10^{-4}см (численная оценка получена на основании формулы 2.2.12), что по порядку величины соответствует радиусу Дебая и намного превышает молекулярные масштабы. Выполнение этих условий позволяет использовать модель твердотельной плазмы, в которой ионы

водорода, могут свободно перемещаться по сети водородных связей. Кроме того, такая трактовка не противоречит известному эмпирическому факту - необычайно высокой подвижности протона, величина которой как минимум в пять раз превышает теоретически возможную подвижность, если считать, что протон связан только с одной молекулой воды в виде иона гидроксония H_3O^+ (Stillinger 1980).

Одной из характерных особенностей движения ионов в нейтральной плазме является возможность возбуждения так называемых собственных колебаний на круговой частоте:

$$\omega_o = q(4\pi n_H/m\varepsilon)^{1/2}. \qquad (2.2.6)$$

Поскольку ион водорода является самым легким и подвижным ионом в воде, поэтому в первом приближении возбуждением ионов типа OH^-, а в солевых буферах еще Na^+, K^+, Cl^- и т.д. можно пренебречь. Уравнение его движения в электрическом поле плоской волны амплитудой E_o и круговой частотой ω:

$$x'' + px' + \omega_o{}^2 x = a\,exp(i\omega t) \qquad (2.2.7)$$

где переменные x и t – координата и время соответственно, параметры $a=qE_o/m\varepsilon$, m – масса протона, ε – диэлектрическая проницаемость среды, $\boldsymbol{i}$ – мнимая единица, коэффициент p характеризует вязкое трение среды при движении в ней иона. Решение уравнения (2.2.7) при условии, что частота поля совпадает с собственной частотой колебаний протона, т.е. $\omega = \omega_o$ имеет вид:

$$x = \frac{a}{i\omega_o p}\exp(i\varpi_o t) + B\exp(-\frac{pt}{2})\exp(i\Omega t) \qquad (2.2.8)$$

где $a/\omega_o p = qE_o/m\varepsilon\omega_o p = x_o$ – амплитуда колебаний протона, $\Omega=(\omega_0{}^2 - p^2/4)^{1/2}$, B – константа, определяемая из начальных данных. Через время $t \approx 2/p$ в уравнении (2.2.8) останется только первый член, определяющий колебания протона в поле волны на частоте ω_o.

Для того, чтобы проникнуть через цитоплазматическую мембрану протону необходимо накопить энергию, достаточную для преодоления

трансмембранного потенциала, величина которого $\varphi \approx 0.1$в. Из уравнения (2.2.8) следует, что среднее значение кинетической энергии протона:

$$W_k = ma^2/2p^2. \qquad (2.2.9)$$

Тогда условие преодоления протоном энергетического барьера мембраны (2.2.3) будет выполняться при значении вязкого трения:

$$p_{нес} \le \frac{E_o}{\varepsilon}\sqrt{\frac{q}{2\phi m}}. \qquad (2.2.10)$$

Мы вывели аналитическое выражение для коэффициента затухания с точки зрения условия, необходимости достижения нужной энергии, однако это еще не значит, что именно оно может быть реализовано в воде. Оценку условий достаточности проведем из следующих соображений. Протоны в среде не являются самостоятельными частицами наподобие ионов, движущихся в вакууме. В жидкой среде они всегда связаны с электронным окружением и перемещаются в воде по трехмерной сети водородных связей (Пиментел, Мак-Клеллан 1964; Пономарев, Фесенко 2000). Область беспрепятственного перемещения ограничена узлами разрыва водородных связей, попадая в которые протон будет терять накопленную в электрическом поле энергию. Оценим длину свободного пробега протона до столкновения с таким разрывом. Концентрация n разорванных водородных связей определяется по Больцману как:

$$n = \frac{N_o}{V_o} e^{-\frac{U_H}{kT}}, \qquad (2.2.11)$$

где N_o - число Авогадро, V_o –объем одного моля вещества (в данном случае воды), k - константа Больцмана, T – абсолютная температура, U_H - энергия водородной связи. Средняя длина свободного пробега L, молекулярное сечение протона $\sigma=\pi r_H^2$ радиуса r_H и концентрация разрывов водородных связей при условиях $n << N_o/V_o$ (в данном случае это условие выполнено, так как $\exp(-U_H/kT) \approx 4\times10^{-5} << 1$) определяется соотношением:

$$L = \frac{1}{\pi r_H^2 n} \text{ или } L = \frac{V_o e^{\frac{U_H}{kT}}}{\pi r_H^2 N_o}. \qquad (2.2.12)$$

Здесь предполагается, что одного соударения с разрывом водородной связи достаточно, чтобы протон потерял всю накопленную в поле энергию. Воспользовавшись уравнениями (2.2.6, 2.2.8, 2.2.11, 2.2.12), условиями, что $x_o = L/2$ и уравнением для определения концентрации протонов через величину водородного показателя $n_H = N_o 10^{-pH}$ молекул/литр или $n_H = N_o 10^{-pH}/1000$ см$^{-3}$ получим выражение для коэффициента затухания:

$$p_{suf} = \frac{10^3 E_o r_H^2 N_o}{V_o}\left(\frac{\pi}{\varepsilon}\right)^{\frac{1}{2}} \exp(-\frac{U_H}{kT} + 2.3pH).$$

Необходимые и достаточные условия поступления энергии в клетку будут выполнены, если $p_{suf} \le p_{nec}$. Это соотношение можно переписать следующим образом:

$$n_H \ge \frac{r_H \varphi\varepsilon}{q v_o}\left(\frac{3v_H}{2v_o}\right)\exp(-\frac{2U_H}{kT}). \qquad (2.2.13)$$

Здесь $v_H = 4\pi r_H^3/3$ и $v_o = V_o/N_o$. Подставив в эту формулу числовые значения (Кратк. спр. физ.-хим. вел. 1965): r_H = 1.81×10^{-8} см, (взято среднее значение из данных Полинга 2.08×10^{-8} см и Гольдшмдта 1.54×10^{-8} см), T =300^{o}К, V_o=18см^3, U_H=4.2×10^{-20}дж, N_o=6×10^{23}, ε=80, φ=0.1в=3.3×10^{-4}(CGSE), q=4.8×10^{-10}(CGSE) получим, что необходимые и достаточные условия обеспечения клетки энергией будут выполнены при концентрации протонов $n_H \ge$ 8.5×10^{13} то есть при pH ≤ 6.8 ± 0.3 (ошибка обусловлена неточностью определения r_H).

Учитывая то, что в формуле (2.2.13) и pH и U_H стоят в экспоненте, полученное числовое соответствие pH реальному значению для дистиллированной воды можно считать идеальным. Таким образом, необходимые и достаточные условия для энергетической накачки протона в воде и переноса его энергии в клетку выполнены.[5]

[5]В формулах (2.2.11) - (2.2.13) фигурируют два, казалось бы, независимых энергетических параметра – трансмембранный потенциал микроорганизмов φ и энергия водородной связи в воде U_H. Они относятся к разного класса объектам, однако, такое тонкое почти ювелирное соответствие их числовых значений, результатом которого является выполнение необходимых и достаточных условий существования микроорганизмов в воде в отсутствие каких-либо источников органического субстрата, наводит на мысль о том, что φ есть производная функция от U_H, поскольку считается, что микроорганизмы произошли уже после того, как сформировалась Земля и ее водная оболочка.

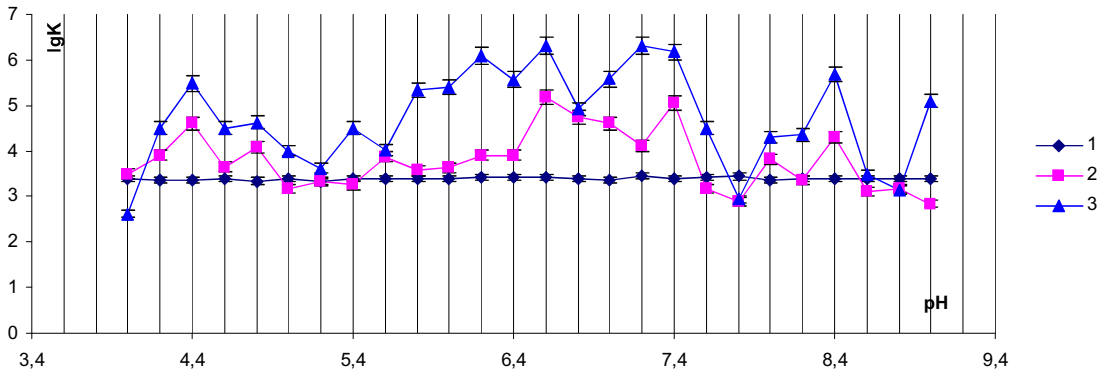


Рис. 2.2.1. Эффективность амплификации клеток *E.coli* в водной среде при различных значениях pH через двое (2) и трое (3) суток; 1- исходная концентрация клеток

Частота собственных колебаний протонов или что тоже продольных ленгмюровских волн в воде зависит от концентрации протонов (см. 2.2.6). Следовательно, меняя концентрацию протонов путем изменения pH можно изменять собственные частоты и таким образом регулировать поступление энергии в клетку.

На рис.2.2.1 представлена зависимость эффективности амплификации микроорганизмов *E.coli* в воде при различных pH. Необходимое значение pH создавалось титрованием NaOH либо HCl. Число жизнеспособных клеток в процессе инкубирования возрастает, но нет монотонных зависимостей скорости размножения от pH с максимумом вблизи pH=7.2, что *a priori* казалось бы должно быть. Именно это значение pH считается оптимальным для размножения данного вида микроорганизмов (Герхард 1983). Через трое суток достигают стационарного значения $K_{max} \approx 10^6$ см$^{-3}$ популяции, которые инкубировались при pH=6.2, pH=6.6 и при стандартном оптимальном значении вблизи pH=7.2.

Следует обратить внимание на тот факт, что «пики роста» на рис.2.2.1 приходятся на значения pH, при которых собственные частоты колебаний протонов, рассчитанные по формуле (2.2.6) находятся в отношениях весьма близких к отношению целых чисел. В табл. 2.2.1 представлены соответствующие отношения для основных экстремумов.

Таблица 2.2.1 Частоты собственных колебаний протонов в «пиковых» значениях pH (см. рис. 2.2.1) и их отношения к частоте при pH=7.2

PH	4.4	6.2	6.6	7.2	8.4
[H], $см^{-3}$	2.39×10^{16}	3.78×10^{14}	1.51×10^{14}	3.78×10^{13}	2.39×10^{12}
Частота ν, $сек^{-1}$	3.63×10^{9}	4.56×10^{8}	2.88×10^{8}	1.44×10^{8}	3.62×10^{7}
Относит. величина $n=\frac{\nu(pH)}{\nu(7.2)}$	25.2±0.3 ≈25	3.17±0.03 ≈3	2.00±0.02 ≈2	1 1	1/(3.98±0.04) ≈1/4

Каков физический смысл целочисленного отношения частот, при которых предпочтительнее размножаются микроорганизмы? Можно предложить трактовку кратности частот основанную на биологических экспериментах, но имеющую под собой физический базис. При анализе результатов, представленных в разделе 1.7 возникает непреодолимое на первый взгляд противоречие: клетки разбросаны по всему объему случайным образом, но если достаточно быстро отбирать пробы из разных мест исходного объема, то частота совпадения количества жизнеспособных клеток в двух последовательных пробах заведомо превышает статистический предел. С аналогичным противоречием мы столкнулись в разделе 1.5 при попытке интерпретировать отклонения относительной дисперсии от единицы.

Разрешить их можно, если предположить, что жизнеспособные клетки и только они могут располагаться в исходном водном объеме квазирегулярным образом, подчиняясь некоторой пространственной симметрии. *Под жизнеспособной мы понимаем молекулярную структуру клетки, целостность которой находится под контролем ферментов репарации, обеспеченных необходимым запасом энергии*. Естественным аккумулятором энергии для клетки в воде, как сказано выше, служит плазматическая мембрана. Логическим следствием этой интерпретации является утверждение о том, что пространственное расположение энергетических источников, обеспечивающих мембрану необходимым электрическим потенциалом, носит черты регулярности (подробнее см. в разделе 2.2.2).

Последнее возможно при регулярном распределении в водном объеме зон, энергия протонов которых превышает порог трансмембранного

потенциала. Только те клетки, которые находятся внутри этих зон, способны использовать энергию протонов. Поскольку раскачка протонов осуществляется на резонансных частотах, нужно признать, что в объеме воды может организовываться регулярная трехмерная интерференционная картина стоячих продольных колебаний ленгмюровских волн. При изменении pH, то есть концентрации протонов, стационарная интерференционная картина будет возникать только при кратных соотношениях между длинами волн и линейными размерами объема водной суспензии. Для дальнейших расчетов нам понадобится численное значение длин лэнгмюровских волн в воде. Характерная длина продольной лэнгмюровской волны λ_L и амплитуда колебаний протона x_o, возбуждаемого поперечной плоской электромагнитной волной (см. уравнение 2.2.8) связаны соотношением $2x_o = \lambda_L$. Для нас представляют интерес только те протоны, энергия и, соответственно, амплитуда которых достаточны для преодоления трансмембранного потенциала. Из уравнений (2.2.6- 2.2.8 и 2.2.10) следует:

$$\lambda_L = \left(\frac{2\phi\varepsilon}{\pi q n_H} \right)^{\frac{1}{2}}.^{6} \qquad (2.2.14)$$

Длины ленгмюровских волн при pH = 8.4, 7.2, 6.6, 6.2, 4.4 (см. табл. 2.2.1) согласно (2.2.14) равны соответственно $\lambda_L \approx$: 40×10^{-4}, 10×10^{-4}, 5×10^{-4}, 3.1×10^{-4}, 0.4×10^{-4} см. Характерные размеры клеток *E.coli* порядка $2r \approx (1.0\text{-}2.0)\times10^{-4}$ см и, поскольку $2r \leq \lambda_L/2$, вся её цитоплазматическая мембрана находится в зоне действия энергоисточника. Таким образом, *можно предположить, что кратность частот в табл.1 соответствует кратности длин ленгмюровских волн при заданных внешних размерах образцов.*

Однако, это предположение не может быть непосредственно доказано на основании приведенных экспериментов, так как характерные линейные размеры

---

[6]При линейном законе дисперсии $\omega(k)$ где k волновой вектор, связанный с длиной волны соотношением $k = 2\pi/\lambda$ фазовая скорость волны определятся как $\upsilon_L = \lambda_L \nu$. Это соотношение хорошо выполняется при не очень большом превышении длины волны радиуса Дебая (Арцимович, Сагдеев 1979,.с.12). Из соотношений (2.2.6 и 2.2.14) получим (2.2.15) $\upsilon_L = \frac{1}{\pi}\left(\frac{2\varphi q}{m}\right)^{\frac{1}{2}}$. Численная оценка для $\upsilon_L \approx 1.4\times10^5$ см/сек. Для примера, тепловая скорость протонов при 300°К $\upsilon_T = (3kT/m)^{1/2} \approx 2.7\times10^5$ см/сек.

используемых нами клеточных популяций $L \approx 1$см, а длины лэнгмюровских волн находятся в отношении $\lambda_L << L$. Тем не менее, можно провести косвенное подтверждение, воспользовавшись данными, представленными в разделе 1.3.4.

При линейных размерах популяции $L << 1$см начинают сказываться капиллярные эффекты. Объем воды в пробирке с гидрофобизированной поверхностью приобретает искривленные границы, а капли объемом менее 10 мкл имеют практически сферическую форму. В таком объеме может стационарно существовать только сферическая стоячая волна вида:

$$\Phi(R,t) = A\frac{\sin(2\pi\frac{R}{\lambda})}{R}\exp(-i\varpi t), \qquad (2.2.16)$$

где λ и ω - длина и частота стоячей волны соответственно, R – радиус сферической поверхности. Амплитуда волны падает по мере удаления от центра как $1/R$ (Ландау, Лифшиц 1988).

Рассмотрим условие возникновения стационарной картины для ленгмюровских волн в сферически симметричной среде. Из симметрии задачи следует, что зоны чередования знака зарядов располагаются в виде сферических слоев. Во-вторых, условие отсутствия токов в объеме требует постоянства плотности зарядов, усредненной по каждому сферическому слою. В-третьих, условие нейтральности среды требует, чтобы суммарные заряды в этих слоях были равны друг другу по модулю. Считая, что объем центральной зоны определяется амплитудой ленгмюровских колебаний, возбуждаемых плоской волной соответствует $V_o = 4\pi x_o^3/3$, а объем сферического слоя толщиной δ на расстоянии R соответствует $V \approx 4\pi R^2\delta$ получим с учетом всех трех условий и уравнений (2.2.6- 2.2.8 и 2.2.10) соотношение:

$$\delta \approx \frac{1}{3R^2}\left(\frac{\varepsilon\varphi}{2\pi n_H q}\right)^{\frac{3}{2}} \approx \frac{6\times10^{-13}}{R^2}. \qquad (2.2.17)$$

Приведенная численная оценка для значения pH =6.0 показывает, что в капле воды на расстоянии $R > 10^{-4}$ см от ее центра толщина сферического слоя δ становиться меньше размеров клетки и далее быстро убывает согласно (2.2.17). Другими словами, в сферической капле воды только ее центральная часть, соизмеримая с размерами бактериальной клетки может служить для нее

источником энергии. Вероятность случайного попадания клетки в эту зону равна отношению объема зоны к объему капли. Так для капли объемом 1 или 10 мкл вероятности попадания $<10^{-9}$ и $<10^{-10}$ соответственно. Очевидно, что ни о каком размножении или даже длительном сохранении жизнеспособности всей популяции в этой капле не может быть и речи.

В рассматриваемой модели получают естественное объяснение экспериментальные данные о том, что в популяциях малого объема (V <10 мкл) происходит быстрое вымирание клеток, даже если их начальная концентрация заведомо превышает минимальный порог (см. раздел 1.3.4). Кроме того, косвенно получает подтверждение модель о квазирегулярном распределении жизнеспособных клеток в водном объеме, линейные размеры которого $L>$ 1 см.

В разделе 2.1.1 было показано, что верхний порог концентрации клеток, при котором достигается стационарное состояние популяции $\approx 10^6$ см$^{-3}$ можно объяснить ограниченной энергоемкостью водной среды. В рамках рассматриваемой модели это предположение также получает простую и наглядную интерпретацию.

Прежде, чем проводить теоретическую оценку максимального значения концентрации микроорганизмов сделаем одно важное замечание. Все рассуждения о движении протона в воде строились на молчаливом предположении об однородности среды. Однако, раскачка протона до необходимой энергии происходит в воде, а передача его энергии клетке происходит в клеточной липидной мембране, физико-химические свойства которой существенно иные. Водная среда это трехмерная полимерная сеть, организованная водородными связями. Протон перемещается по этой сети не как автономная частица, а всегда в паре с электроном. На поверхности гидрофобной мембраны цепочка водородных связей обрывается, и попасть в клетку протон может только в результате разрыва связи с электронным водным окружением.

Сопоставляя энергию разрыва водородной связи, равную 4.2×10^{-20}дж, и кинетическую энергию протона, накопленную в электромагнитном поле 1.6×10^{-20} дж мы приходим к выводу, что передать ее клетке он не может. Однако, если организовать специальный канал переноса протона по сети водородных связей внутри липидного слоя мембраны – эта проблема снимается.

Функцию переноса естественно следует приписать протонным каналам. Вероятность p попадания протона в канал равна отношению площади последнего s_H ко всей поверхности клетки S, то есть $p=s_H/S$. Если полное число каналов равно N и $n_s \approx n_H^{2/3}$– число протонов на единицу поверхности клетки (n_H – объемная плотность протонов в воде), то уравнение энергетического баланса для одной клетки выглядит следующим образом:

$$s_H N n_H^{2/3} w_p \tau_2 \omega_o / 2\pi = w_o, \qquad (2.2.18)$$

где w_p - энергия протона, τ_2 – время удвоения клетки, $\omega_o = q(4\pi n_H/m\varepsilon)^{1/2}$ – лэнгмюровская частота, w_o – энергия, необходимая для синтеза клеточной биомассы. Тогда число водородных каналов N на поверхности клетки равно:

$$N = (\pi\varepsilon m)^{1/2} w_o / (s_H w_p \tau_2 q n_H^{7/6}). \qquad (2.2.19)$$

Поскольку $\tau_2 \approx 4000$сек время удвоения клеток было измерено в дистиллированной воде при pH ≈ 6, необходимо в расчетах использовать соответствующую концентрацию протонов $n_H = 6\times10^{14}$ см$^{-3}$, численные значения других параметров: $s_H = \pi r_H^2$, где $r_H = 1.8\times10^{-8}$ см, $w_o = 4.3\times10^{-2}$ эрг/клетку, энергия протона принимается равной $w_p = \varphi q = 1.6\times10^{-13}$ эрг, где φ = 0.1в (SI) = 3.3×10^{-4} (CGSE). Подставив эти значения в формулу (2.2.19) получим $N \approx 1.6\times10^4$.

Для количественной привязки данной оценки числа протонных каналов воспользуемся современными представлениями о молекулярном механизме синтеза АТФ мембранными АТФ-синтазами: этот фермент представляет собой миниатюрный электромотор, встроенный в мембрану, вращение которому придает протонный ток (Тихонов 1999). В литературе описаны пока структурные детали мотора, но не представлены в полном объеме количественные характеристики этого процесса. Строение АТФ-синтазных моторов и флагеллярных бактериальных электродвигателей имеют много общих деталей: субъединичную структуру, наличие вращающегося ротора и статора, кроме того, вращение обоих типов моторов осуществляется при движении через них протонов. Общность структуры позволяет предполагать и наличие общности динамических характеристик. Последние же подробно исследованы на флагеллярных двигателях. Для оценки N – числа протонных каналов этого

вполне достаточно. По данным работ (Скулачев 1989, с. 287; Berg 1995) за один оборот вращающегося со скорость 150 Гц флагеллярного мотора переноситься около 200 протонов. Субъединичный ротор электродвигателя имеет по разным оценкам 16 (Скулачев 1989, с. 287 и далее) или 8 (Berg 1995) протонных каналов. Таким образом, при вращении ротора через один канал протекает приблизительно $v \approx 2500$ протонов в секунду. За это же время через все $N \approx 1.6 \times 10^4$ каналов в клетку втекает энергия: $w_p v N \approx 0.6 \times 10^{-5}$ эрг/сек. Требуемый поток энергии для амплификации клеток в воде $w_o/\tau_2 \approx 1 \times 10^{-5}$ эрг/сек. Учитывая, что при вычислении теоретического значения потока энергии были использованы весьма общие соображения можно считать, что столь близкие числовые соответствия свидетельствуют об адекватности как исходной модели, так и предположения об общности устройства обоих типов электромоторов.

После этих замечаний можно приступить к теоретической оценке K_{max}. Энергия, приобретаемая протонами за характерное время раскачки τ_{st}, полностью расходуется всей популяцией клеток за это же время. Условие интегрального баланса запишем в виде, аналогичном уравнению (2.2.18):

$$n_H s_H N n_H^{2/3} \omega_o \tau_{st} w_p / 2\pi = w_o K_{max}. \qquad (2.2.20)$$

На основании формул (2.2.18) и (2.2.20) легко вывести уравнение, связывающее концентрацию протонов n_H, время удвоения клеток при этой концентрации τ_2, время раскачки протонов τ_{st} до энергии, достаточной для преодоления трансмембранного потенциала и предельную концентрацию клеток:

$$K_{max}/n_H = \tau_{st}/\tau_2. \qquad (2.2.21)$$

Поскольку левая часть данного уравнения $K_{max}/n_H = const$, тогда и $\tau_{st}/\tau_2 = const$, следовательно, чем меньше время раскачки протона, тем быстрей будут делиться клетки, что вполне логично.

Таким образом, при прохождении электромагнитной волны через жидкую среду, в которой растворены окисленные соединения углерода, азота и водорода, клетки микроорганизмов приобретают все необходимые условия для

своего самовоспроизведения. Проведенные расчеты показывают принципиальную возможность этого процесса. Проблема достаточности этих условий для запуска ферментативного процесса синтеза требует специальных исследований молекулярно-биологических процессов внутри клетки, что выходит за рамки данной работы биофизического профиля. Можно лишь предполагать, что принципиальных запретов для осуществления этих процессов внутри бактериальной клетки нет, хотя бы по тому, что практически все внутриклеточные ферментативные реакции обратимы, следовательно, допускают процесс синтеза из CO_2 и H_2O органических соединений. Единственным возражением с точки зрения биохимии является то, что для микроорганизмов *E.coli* пока неизвестен процесс, аналогичный процессу Кальвина – первой стадии связывания CO_2 и H_2O в реакции фотосинтеза органического субстрата глюкозы (Эллиот, Эллиот 1999). Однако, факт утилизации CO_2 микроорганизмами нефотосинтетиками известен (Бузолева, 2001).

Можно высказать предположение о том, что микроорганизмы *E.coli*, которые относятся к классу гетеротрофов, то есть к микроорганизмам, способным размножаться только в присутствие органических субстратов, по-видимому, могут быть и факультативными автотрофами. В экстремальных условиях субстратного голода, они способны утилизировать неорганический углерод в виде CO_2. Естественно, что источником свободной энергии при этом выступают кванты электромагнитного поля, указанного выше диапазона, а не светового диапазона, каковыми являются фотоны, участвующие в фотосинтезе у растений, сине-зеленых водорослей и фотосинтетических микроорганизмов. Возражения о том, что энергии единичных квантов с частотой порядка 10^8-10^9 $сек^{-1}$ недостаточно для проведения элементарного биохимического акта здесь неприемлемы, так как цитоплазматическая мембрана выступает в данном случае в качестве аккумулятора их энергии.

Следует обратить внимание, что из формул (2.2.10), (2.2.13) и выполнения условий необходимости и достаточности, то есть $p_{suf} \leq p_{nec}$ следует, что трансмембранный потенциал однозначно определяется только физико-химическими свойствами воды:

$$\varphi \le \frac{qn_H \upsilon_o}{\varepsilon r_H}\left(\frac{2\upsilon_o}{3\upsilon_H}\right)e^{\frac{2U_H}{kT}}, \qquad (2.2.22)$$

где $\upsilon_o = V_o/N_o$ – объем одной молекулы воды, $\upsilon_H = 4\pi r_H^3/3$ – объем иона водорода. Равенство в этой формуле достигается при pH=7, тогда φ=0.1в. Численные значения параметров, характеризующих свойства воды, «удивительным» образом оказались близки именно к таким величинам, какие требуются для выполнения необходимых и достаточных условий для сохранения жизнеспособности и размножения микроорганизмов в воде. В формуле (2.2.22) нет свободных параметров, допускающих произвол в численных оценках.

В заключение данного раздела следует сделать ряд комментариев к предположениям и их аналитическим следствиям. Логика, представленных выше рассуждений молчаливо предполагает, что внешняя поверхность цитоплазматической мембраны клетки имеет отрицательный, а внутренняя соответственно положительный заряды. Инверсное состояние зарядов на мембране, казалось бы, противоречит известному экспериментальному факту (Скулачев 1989). Однако следует отметить, что все измерения распределения зарядов на цитоплазматической мембране проводятся после инкубирования клеток в сбалансированной ростовой среде – клетка в данном случае обеспечена органическим субстратом, а в итоге и АТФ. Наличие последней в клетке считается необходимым для создания заряда на мембране. В нашем же случае микроорганизмы длительное время инкубировались в бессубстратной среде, что в отсутствие какого-либо источника свободной энергии должно привести к быстрому истощению АТФ и, следовательно, к разрядке мембраны (см. раздел Введение).

Второе «противоречие» - невозможно представить молекулярный механизм разделения и удержания положительных зарядов на одной из поверхностей мембраны при условии идентичности физико-химических свойств водной среды вне и внутри клетки. К счастью это не так. Цитоплазма, как известно, представляет собой коллоидный раствор макромолекул белковой и нуклеиновой природы, которые содержат заряженные группы молекул. Подвижность ионов в такой среде существенно снижена (Ling 1992). Кроме того, из-за наличия связанной воды движение протонов приобретает черты анизотропии в отличие от их изотропного в среднем движения в свободной

внеклеточной водной среде.

Поскольку поступление протонов в цитоплазму носит периодический характер, то следует ожидать накопления их в объеме клетки в силу того, что частоты лэнгмюровских колебаний внеклеточных протонов и протонов в цитоплазме существенно различаются. Оценим величину протонного заряда цитоплазмы, после того как наступит стационарное состояние. Последнее возможно тогда, когда кинетическая энергия внеклеточных протонов сравняется с их потенциальной энергией взаимодействия с внутриклеточным зарядом. Используя законы электростатики, а также формулы (2.2.6, 2.2.8, 2.2.12) легко показать, что стационарная концентрация протонов в клетке n_{iH} определяется формулой:

$$n_{iH} = n_H \frac{\upsilon_o}{2\pi R^2 r_H}\left(\frac{\upsilon_o}{\upsilon_H}\right) e^{\frac{2U_H}{kT}}. \qquad (2.2.23)$$

Для удобства моделирования клетку представляем в виде шара радиуса R, остальные символы определены выше (см. формулу 2.2.22).

Поскольку клетка в водной среде в сумме должна быть электрически нейтральной, то вблизи внешней поверхности мембраны должен быть сосредоточен такой же отрицательный заряд. Таким образом, на мембране толщиной h с диэлектрической проницаемостью ε_m сформируется потенциал φ_m:

$$\varphi_m = \frac{2qn_H\upsilon_o h}{\varepsilon_m R r_H}\left(\frac{2\upsilon_o}{3\upsilon_H}\right) e^{\frac{2U_H}{kT}}. \qquad (2.2.24)$$

Сопоставим формулы (2.2.22) и (2.2.24):

$$\frac{\varphi_m}{\varphi} = \frac{2h\varepsilon}{R\varepsilon_m} \simeq 1. \qquad (2.2.25)$$

Для численной оценки приняты значения ε=80, ε_m=3, h=10^{-6}см, R=0.5×10^{-4} см.

Следует обратить внимание, что формулы (2.2.22) и (2.2.24) получены независимо и из разных предположений, а значения трансмембранного потенциала, рассчитанные по ним практически совпадают. С учетом того, что обе эти формулы дают оценку абсолютной величины трансмембранного потенциала, близкую к реально измеряемому, можно полагать, что

предположения, положенные в основу их вывода верны. Кроме того, молекулярный механизм формирования в бессубстратной среде инвертированного трансмембранного потенциала (+ внутри, - вне) также можно считать обоснованным.

Размер бактериальных клеток $2R$ соответствует характерному размеру энергетических зон $\lambda_L/2$, формирующихся в объеме дистиллированной воды (pH≈6.0) - оба масштаба порядка 10^{-4} см. С учетом этого, а также замечаний, описанных в сносках № 5 и 7 данной главы, можно полагать, что масштаб и геометрия бактериальных клеток, молекулярная структура их мембран детерминированы физико-химическими свойствами воды.[7]

Итак, тезис №1 также как и тезис №2 переходят из разряда противоречий в разряд интерпретируемых категорий.

2.2.2 Разрешение противоречия №3: исключен внутрипопуляционный обмен химическими сигналами, но поведение изолированных друг от друга популяций скоррелированно

Рассмотрим теперь некоторые эффекты при инкубировании микроорганизмов в водных объемах идеальной кубической формы. Из симметрии граничных условий следует, что в таком объеме стационарная картина лэнгмюровских волн будет представлена периодически чередующимися в пространстве заряженными зонами противоположного знака по типу кристаллической решетки NaCl с той разницей, что знак заряда в каждой из них будет изменяться с частотой ω_o. Наличие пространственной периодичности расположения энергетических зон должно привести к тому, что жизнеспособные клетки также будут иметь тенденцию к симметричному распределению в объеме популяции. *Под жизнеспособной клеткой мы понимаем ее молекулярную структуру, целостность которой находится под контролем ферментов репарации, обеспеченных необходимым запасом энергии.* Таким образом, не каждая молекулярная оболочка структурно соответствующая клетке микроорганизма может считаться в данный момент живой, то есть

[7] Полагая, что первичные микроорганизмы, появившиеся не Земле задолго до фотосинтетиков могли использовать свободную энергию протонов, можно сделать некоторые заключения о свойствах водной среды, способствовавшей их возникновению: для φ≈0.1в и энергии водородной связи U_H ≈ 25кдж/моль оптимальный водный pH≈6.8.

способной размножаться при переносе ее в ростовую среду, но только та, которая обеспечена еще и запасом энергии. Выражаясь аллегорически можно сказать так, что периодическая структура энергетических зон «высвечивает» из всего пула случайно распределенных в объеме клеток только те, которые находятся внутри этих зон.

Следствием квазирегулярного распределения жизнеспособных клеток будет отклонение от нормальной статистики в массивах проб, многократно отбираемых из этого объема. В идеальной ситуации, то есть при заполнении всех энергетических зон микроорганизмами, в каждой идентично отбираемой пробе должно содержаться одно и тоже число жизнеспособных клеток. В реальном эксперименте в объемах не строгой кубической формы, очевидно, появится конечная дисперсия, но указанная тенденция должна сохраниться. Кроме того следует учесть, что из-за нестационарности внешнего электромагнитного поля ожидаемый эффект можно наблюдать на достаточно малых временах.

На рис. 1.7.3 представлено распределение разности ЧЖК между двумя идентичными пробами, отобранными из случайных мест водной суспензии с интервалами 5, 10, 15 и 25 сек. Обращает на себя внимание, прежде всего тот факт, что количество проб с одинаковым ЧЖК ($\Delta k=0$) сначала в два раза больше, допускаемого законом нормального распределения, а по мере увеличения временного интервала между пробами наблюдается его релаксация к нормальному значению с характерным временем $\tau_{rel} \approx 5$ сек. Это значение много больше времени установления стационарной картины $\tau_{st} \approx 5$ мсек (при амплитуде поля ≈1в/м, см. формулу 2.2.10). За время τ_{rel} водный пул протонов может пройти через множество стационарных состояний $Q = \tau_{rel}/\tau_{st} \approx 10^3$. Другими словами, можно считать, что наблюдаемые изменения параметров внешнего поля происходят в адиабатическом режиме, и протон всегда находится в стационарном состоянии.

Основываясь на предположении о квазирегулярном распределении жизнеспособных микроорганизмов в объеме и предполагая наличие адиабатических в указанном смысле вариаций параметров внешнего электромагнитного поля, можно ожидать, что наряду с синхронными вариациями ЧЖК будут изменяться и другие статистические характеристики, в

частности относительная дисперсия.

Согласно статистике Пуассона при случайном отборе проб из исходного объема популяции должно выполняться соотношение $\sigma^2/\bar{k}=1$. При квазирегулярном распределении микроорганизмов в объеме относительная дисперсия $\sigma^2/\bar{k}<1$. Наоборот, при наличии регулярно или нерегулярно расположенных сгустков и рассредоточений клеток в объеме значение $\sigma^2/\bar{k}>1$. Как показано в разделе 1.3.2 на квазидвумерных популяциях зоны активного роста клеток распределены в пространстве неравномерно и перманентно дрейфуют (в нашей модели это соответствует неравномерному распределению и пространственному дрейфу параметров внешнего электромагнитного поля). Суммируя все эти предпосылки можно предположить, что относительная дисперсия $\sigma^2/\bar{k}$ должна претерпевать сложную эволюцию во времени. Соответствующие экспериментальные данные представлены на рис. 1.5.1 и 1.5.2. Как видим, и в этом случае не наблюдается принципиальных расхождений между предсказанием модели и экспериментом.

Отклонение от нормальной статистики исследовано нами также на популяциях с предельно низкой концентрацией клеток порядка 100-200 см$^{-3}$. В этом случае экспериментально удобно организовать ситуацию, когда в отбираемой пробе содержится в среднем не более одной-двух жизнеспособных клеток. Как видно из рис. 1.5.4 относительная дисперсия в среднем достоверно меньше единицы, что можно связать с пространственным упорядоченным распределением жизнеспособных клеток. Однако, установить причинную зависимость между $\sigma^2/\bar{k}$ и $\bar{k}$ при таких концентрациях чрезвычайно сложно. Следует отметить, что среднее расстояние между микроорганизмами в этих условиях $L \approx K^{-1/3} \approx (100)^{-1/3} \approx 2$ мм, что на три порядка больше их собственных размеров, поэтому трудно представить реально действующий физический или химический механизм межклеточного взаимодействия, посредством которого возможна была бы синхронизация поведения всей популяции. Эту роль может с успехом выполнять внешний по отношению к клеткам фактор, то есть электромагнитное поле в процессе адиабатического дрейфа параметров.

Как было отмечено в разделе 1.5 времен'ные вариации $\sigma^2/\bar{k}$

непосредственно не связаны с аналогичными вариациями ЧЖК. Этот вывод следует из анализа данных, представленных на рис. 1.5.3 и 1.5.4: фазовый портрет в координатах ($\bar{k}$,$\sigma^2/\bar{k}$) являет собой чрезвычайно запутанную картину, тем не менее, центрирующуюся вблизи определенных значений указанных координат. Все точки в эксперименте, представленном на рис. 1.5.4 получены на одной и той же популяции клеток в условиях низкой температуры (4^oC), поэтому наблюдаемый разброс ЧЖК не может быть связан с амплификацией клеток. Каждая точка на рис. 1.5.4 получена после усреднения данных по массивам, содержащим 96 дискретных проб. Ошибка определения ЧЖК и относительной дисперсии не превышают в этом случае 4%. Таким образом, наблюдаемые разбросы $\sigma^2/\bar{k}$ и $\bar{k}$ обусловлены не ошибкой измерения, а нестационарностью исследуемого явления.

Как видно из рис. 1.5.5, пуассоновской статистике, для которой $\sigma^2/\bar{k}=1$, подчиняются популяции, концентрация микроорганизмов, в которых $K_b \approx 800$ $см^{-3}$. При концентрациях меньших 800 клеток в $см^{-3}$ достоверно $\sigma^2/\bar{k}<1$, а по мере увеличения концентрации наблюдается перманентный рост $\sigma^2/\bar{k}$. На основании этих данных можно оценить пространственные масштабы квазирегулярной картины внешнего поля. Поскольку среднее расстояние между клетками микроорганизмов $L \approx K^{-1/3}$, зоны регулярности соответствуют линейным масштабам $L > (K_b)^{-1/3} \approx$ 1 мм. На меньших масштабах параметры поля, отвечающие за энергообеспечение микроорганизмов, по-видимому, хаотически флуктуируют. В тоже время характер этих флуктуаций изменяется по мере уменьшения масштаба, в противном случае относительная дисперсия $\langle \sigma^2/\bar{k} \rangle_T$ должна была бы сохранять постоянное значение при увеличении концентрации клеток.

Таким образом, в дополнении к тому, что число жизнеспособных клеток в отбираемых через короткие интервалы пробах имеет тенденцию оставаться постоянным, изменение ЧЖК от пробы к пробе тяготеет к дискретности кратной $\Delta k = 2^{\mathbf{n}}$, где n = 1, 2, 3. Заметим, что указанная дискретность начинает достоверно тестироваться при концентрациях клеток $K \geq 4\times10^3$ $см^{-3}$, что соответствует линейному масштабу $L \approx K^{-1/3} \leq 1$ мм. Последний соизмерим с

диаметром входного отверстия пипетки d≈0.8 мм, с помощью которой отбирались пробы.

Характерное время возмущения популяции при отборе проб составляет порядка секунды. Как отмечено выше, время достижения стационарного состояния протонов в лэнгмюровских волнах зависит от амплитуды внешнего поля, но вряд ли превышает несколько мсек, поэтому без особого ущерба для модели можно считать, что при механическом возмущении популяции, обусловленном процедурой отбора пробы, клетки сохраняют пространственную симметрию, как и в исходном невозмущенном объеме. Другими словами, при заборе пробы в пипетку втягивается цилиндрическая струя, внутри которой *жизнеспособные клетки* располагаются такими же правильными стопками. При условии наличия кубической симметрии в пространственном распределении клеток, а также соизмеримости диаметра входного отверстия пипетки со средним межклеточным расстоянием, кратность Δk двум, четырем и восьми в разных независимых пробах является очевидным следствием. Эта дискретность не должна наблюдаться при малых концентрациях в силу того, что в пипетку будет втягиваться не объемная и даже не плоская, а линейно упорядоченная структура, для которой минимальный шаг Δk может быть только Δk=1. Однако, в силу наличия линейной упорядоченности расстояний между клетками, относительная дисперсия для такого массива должна быть меньше единицы, что подтверждается в эксперименте.[8]

2.2.3 Разрешение противоречия №4: активное воздействие известными химическими или физическими факторами на клетки исключено, тем не менее, мутационный фон претерпевает сложную эволюцию

[8]Нужно отметить, что реальные водные объемы, с которыми обычно имеют дело экспериментаторы, сочетают в себе фрагменты обеих геометрий: сферическую (или цилиндрическую) симметрию по боковой поверхности колбы и плоскопараллельные верхние и нижние границы водного объема, являющиеся одномерной составляющей трехме рного куба. Очевидно, что структура стоячих волн вблизи границ раздела будет весьма сложной, но наличие плоских границ, тем не менее, позволяет использовать модель их идеальной кубической структуры в волновой зоне, отстоящей от сферических и цилиндрических поверхностей среды на расстояние $L>>\lambda_L$, здесь λ_L - длина лэнгмюровской волны. Это условие фактически всегда выполняется так как для pH=6.0, λ_L≈2.4×10^{-4} см.

В классических экспериментах по исследованию спонтанного мутагенеза микробных популяций Лурия и Дельбрюк (Luria, Delbruck 1943) продемонстрировали случайный характер появления в размножающихся популяциях микроорганизмов тех или иных физиологических признаков. Появление нового наследуемого признака обусловлено изменением последовательности нуклеотидов в составе ДНК. Процесс репликации ДНК всегда проходит на фоне тепловых флуктуаций, которым неизбежно подвержены как ферментативный аппарат считывания, так и ДНК-матрица, поэтому даже в отсутствие какого-либо внешнего возмущающего фактора существует верхний предел точности воспроизведения генетического текста ДНК. Так, например, ДНК-полимераза I *E.coli* ошибается в среднем с вероятностью 10^{-4} (Корнберг 1977, с.87; Зенгер 1987, с.175), воспринимая тимин в редкой енольной таутомерной форме как цитозин. Частота спонтанных мутаций, детерминированных заменой одной нуклеотидной пары в составе двуспиральной ДНК, составляет в этом случае величину порядка 10^{-8} (Зенгер 1987).

Мы исследовали динамику спонтанного появления микроорганизмов, устойчивых к двум антибиотикам рифампицину и налидиксовой кислоте.[9] Чувствительность клеток прокариот к рифампицину обусловлена связыванием его с β-субъединицей РНК–полимеразы, в результате чего фермент теряет способность инициировать синтез РНК копий на ДНК- матрице. Ингибирующее действие налидиксовой кислоты обусловлено блокированием синтеза ДНК-матриц в бактериальных клетках на стадии инициации: связываясь с А-субъединицей гиразы молекула налидиксовой кислоты препятствует суперспирализации ДНК (Lewin 1997, с.554). Устойчивость к этим антибиотикам клетка приобретает при условии, что соответствующие полипептидные цепочки претерпевают структурные изменения, обусловленные аминокислотными заменами. Основные функции белков при этом сохраняются, но места связывания с антибиотиками элиминируются.

Однотипные молекулярные механизмы ингибирующего действия обоих

[9]Выбор данных антибиотиков рекомендован В.В.Вельковым. Пользуясь случаем, автор выражает ему искреннюю признательность за конструктивную и квалифицированную консультацию.

антибиотиков, а также приобретения устойчивости к ним во многом упрощает интерпретацию приведенных ниже экспериментальных результатов, так как позволяет не привлекать дополнительных предположений о многочисленных путях репарации предмутационных повреждений ДНК (Гусев 1985). Соизмеримость частот 10^{-8}-10^{-9} спонтанных мутаций, детерминирующих устойчивость к этим антибиотикам, с приведенной выше теоретической оценкой 10^{-8} позволяет считать, что в обоих случаях мутации обусловлены заменой только одной пары оснований.

Функциональная структура внутриклеточных макромолекул обеспечивается и стабилизируется сетью водородных связей. Возбуждение протонов внешним электромагнитным полем будет инициировать конформационные переходы в макромолекулярных комплексах. В среднем электромагнитный фон вблизи поверхности Земли не способен раскачать водные протоны до энергий, соизмеримых с энергией ковалентных связей, поэтому катастрофические явления для живой клетки, такие, например, как двунитевые разрывы ДНК случаются крайне редко. Однако, локальные кратковременные нарушения нормальной уотсон-криковской двуспиральной структуры фрагментов генома могут иметь место. Для этого достаточно возбуждения кето–енольных таутомерных переходов нуклеотидов, формирующих комплементарные пары в составе ДНК. Эти переходы, как известно, обусловлены внутримолекулярным переносом протонов (Минкин и др. 1977). Таким образом, помимо случайных тепловых конфигурационных переходов возможны также индуцированные переходы. Равновесное соотношение между таутомерами будет определяться наличием в спектре электромагнитного поля резонансных частот соответствующей интенсивности.

Предполагая, что возмущающее воздействие внешнего электромагнитного поля локализовано, можно ожидать неравномерного распределения спонтанных мутантов в популяциях, инкубируемых в идентичных условиях, но разнесенных в пространстве. В табл. 2.2.2 представлены данные о распределении спонтанных мутантов, устойчивых к рифампицину или налидиксовой кислоте, по 96-ти идентичным популяциям после 18-ти часового инкубирования их в ростовой среде. Данный эксперимент ставился по классической схеме Лурия-Дельбрюка.

Все ячейки можно разделить на четыре типа:

1. В 72-х ячейках в отбираемом объеме пробы 10 мкл мутантов не обнаружено, что соответствует верхней оценке уровня спонтанного мутагенеза $\leq 10^{-8}$.
2. В семнадцати ячейках наблюдается фон Rif^+ фенотипа с уровнем мутагенеза порядка 3×10^{-8}. Как правило, Nal^+ фенотип спонтанно возникает с частотой в несколько раз меньшей, поэтому данная серия ячеек отражает среднестатистический характер появления спонтанных мутантов.
3. В ячейках A3 и E2 число клеток с Rif^+ фенотипом не менее, чем на порядок превышает число клеток с Nal^+ фенотипом.
4. Наибольший интерес представляют ячейки A4, F4 и F12, так как оба фенотипа представлены в них приблизительно одинаковым числом клеток и на порядок выше среднестатистического фона.

Таблица 2.2.2. Распределение спонтанных мутантов по 96 идентичным ячейкам. Условия инкубирования: 0.2 мл жидкой ростовой LB-среде в ячейке, 37°C, 18 часов, начальная концентрация клеток 10^3см$^{-3}$, конечная 5×10^9см$^{-3}$. Обозначения: первая цифра число rif-, вторая (курсив) число nal-устойчивых микроорганизмов в 10 мкл; в пустых ячейках не зафиксировано мутантов в данном объеме пробы. Цифры соответствуют среднему значению, определенному по нескольким пробам с точностью не хуже 10%

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A			**45 /*1***	**17/*10***				**2 / *0***	**2 / *0***		**1 / *0***	
B	**3 / *0***		**1 / *0***	**2 / *0***					**1 / *0***			
C	**2 / *0***		**0 / *3***						**3 / *0***			
D												
E		**17 /*0***				**4 / *0***		**1 / *0***	**2 / *0***	**1 / *0***		
F				**17/*33***		**2 / *1***						**33/*23***
G			**1 / *0***	**1 / *0***				**1 / *0***				
H											**1 / *0***	

Вероятности «вспышек» Rif^+ и Nal^+ фенотипов в конкретной ячейке равны соответственно 5×10^{-2} и 3×10^{-2}. Произведение их равно вероятности одновременной «вспышки» обоих фенотипов в одной и той же ячейке 1.5×10^{-3}. Экспериментально же мы наблюдаем величину 3×10^{-2}, которая в 20 раз превышает статистически допустимый предел. С учетом того, что общий объем выборки из 96 проб статистически репрезентативен, такую величину выброса нельзя считать случайной. Интерпретировать результаты этого эксперимента

следует так, что указанные ячейки подверглись действию внешнего мутагенного фактора. Фактор этот имеет к тому же тенденцию к локализации в пространстве, так как группа ячеек A3, A4, E2 и F4 с повышенным фоном Rif^+ фенотипа сосредоточены в зоне с линейными размерами 2×3 см, тогда как размеры всей платы из 96-ти ячеек составляют 8×12 см.

Приведенные данные по распределению ячеек, содержащих повышенное число мутантных клеток в квазидвумерной популяции весьма схожи с результатами, представленными в разделе 1.3.2, где также в квазидвумерном варианте исследовалось распределение ячеек с активным ростом микроорганизмов *E.coli* в дистиллированной воде. В обоих случаях наблюдается неравномерность распределения «активных» ячеек по плате и тенденция к их локализации. В разделе 1.3.2 это интерпретировалось как локальное возмущение интенсивности внешнего электромагнитного поля, являющегося исходным источником энергии для размножения клеток в воде.

Экспериментальные данные, представленные на рис. 1.4.1 также не противоречат предположению о том, что активация клеток в неростовой среде и мутагенная вспышка в ростовой имеют общую причину. Первые пять точек на графике соответствуют неэкранированной части квазиодномерной популяции клеток. Мутационный фон (K_{rif}/K – отношение концентрации rif-устойчивых клеток к концентрации жизнеспособных клеток) в максимуме составляет $K_{rif}/K=2.5\times10^{-8}$, что в среднем на порядок превышает соответствующее значение в той части популяции, которая находилась в условиях металлического экрана. Полуширина главного пика составляет около 8 см и по порядку величины близка к характерному линейному размеру зоны скученности «активированных» ячеек (см. рис. 1.3.6), равному приблизительно 4 см.

Продолжая эту же логику исследования, можно предположить, что спонтанный мутационный фон будет также подвержен вариациям, какие наблюдаются для числа жизнеспособных клеток. В табл. 1.4.1 представлены соответствующие результаты исследования трех популяций в разные дни. Из этих данных следует, что мутационный фон K_{rif}/K не является однозначной функцией числа жизнеспособных клеток (см. помеченные ячейки таблицы). Мутационный фон по второму хромосомному маркеру, детерминирующему nal-устойчивость, также варьирует со временем, однако наблюдается корреляция

между вариациями этих маркеров с коэффициентом линейной корреляции r=0.86. Этот вывод следует из результатов сравнительного анализа частот появления rif - и nal -маркеров в популяциях концентрированных суспензий клеток, хранящихся при +4^{o}C (см. табл. 1.4.2).

Из работы Лурия и Дельбрюка (Luria, Delbruck 1943) следует, что частота появления хромосомных мутаций пропорциональна числу генераций при размножении клеток в ростовой среде (Стент, Кэлиндер 1981, с. 139). В концентрированных водных суспензиях размножение клеток абсолютно запрещено, следовательно, появление хромосомных мутаций не может быть результатом ошибок в работе ферментов репликации. Присутствие перманентно действующего мутагенного фактора – радиации будет приводить к накоплению предмутационных повреждений оснований ДНК. В этом случае следует ожидать увеличения мутационного фона в покоящейся (не реплицирующейся) ДНК, но зависимость его от времени должна быть монотонной. В нашем случае дрейф мутационного фона не имеет монотонной зависимости от времени.

По совокупности представленных результатов можно сформулировать следующие условия, которым следует мутационный фон в процессе инкубирования клеток *E.coli* в водной среде, лишенной органического субстрата:

- мутационное воздействие локализовано в пространстве и необязательно охватывает весь объем популяции клеток,
- предмутационные возмущения, захватившие часть клеточной популяции, способны самопроизвольно элиминироваться в процессе инкубирования клеток в бессубстратной среде.

Эти условия будут удовлетворены, если предположить, что внешний по отношению к клеточной популяции фактор вызывает локальные обратимые возмущения нативной структуры ДНК. Последние, как было сказано выше, будут происходить при возбуждении таутомерных переходов, обусловленных внутримолекулярным переносом протонов в комплементарных нуклеотидных парах. Согласно Корнбергу (Корнберг 1977) нормальное соотношение кето-енольных форм тимина составляет величину порядка 10^{-4}. Предполагая, что это соотношение обусловлено энергетическим барьером, отделяющим два конфигурационных состояния тимина можно оценить по Больцману значение

энергии возбуждения протона, необходимой для реализации такого перехода. По порядку величины это соответствует энергии 3.8×10^{-20} дж. Как уже было сказано, энергия протонов в воде, участвующих в возбуждении лэнгмюровских колебаний при воздействии «среднестатистического» внешнего электромагнитного фона составляет 1.6×10^{-20} дж. Поскольку энергия протонов зависит квадратично от амплитуды поля, то достаточно 50%-го локального кратковременного увеличения амплитуды поля для того, чтобы протоны смогли преодолеть указанный выше энергетический барьер.

Нарушение нормального уотсон-криковского спаривания оснований приведет к изменению нативной конформации ДНК. При инициации репликации такой ДНК в ростовой среде следует ожидать увеличение спонтанного мутационного фона. Поскольку в данной модели не предполагается изменение ковалентной структуры оснований, то при исчезновении внешнего возмущения, будет происходить процесс релаксации ДНК к своему нативному состоянию. Все конформационные переходы в ДНК имеют кооперативный характер, поэтому время ее релаксации к нативной форме заведомо превосходит характерные молекулярные времена релаксации таутомерных форм мономеров, что в конечном итоге и позволяет экспериментально наблюдать вариации мутационного фона.

Как было показано в разделе 1.4 (см. рис. 1.4.3) эффективность действия фонового мутагенного фактора в 1.5 раза выше, чем ультрафиолета. Эффективность действия мутагенного фактора, не зависимо от его природы, определяется степенью репарации предмутационных повреждений: чем больше искажается нативная структура оснований ДНК под действием мутагена, тем менее он эффективен (Гусев 1985). Ультрафиолетовые кванты, как известно, образуют ковалентные сшивки тиминовых димеров в составе одной нити ДНК. Последние являются субстратами целой серии ферментов эксцизионной репарации, а также индуцируют SOS репарационную систему (Friedberg et. al. 1995). Наоборот, аналоги оснований менее подвержены действию ферментов репарации, легко проникают через репарационный барьер клетки и поэтому являются более эффективными мутагенами (Петренко, Гусев и др. 1982).

Все сказанное выше о мутагенных факторах позволяет утверждать, что в нашем случае мы имеем дело с предмутационными повреждениями ДНК более напоминающими аналоги оснований, чем их ковалентные модификации. Об

этом свидетельствует относительно высокий уровень мутагенеза. Как показано в работе (Гусев 1985) алкилпроизводные гидроксиламина, модифицирующие цитозин до аналога тимина имеют коэффициент эффективности 0.7.[10] В нашем случае он существенно выше, что подтверждает гипотезу о таутомерных переходах в составе ДНК при раскачке внешним электромагнитным полем протонов, участвующих в водородных связях.

Таким образом, в рамках модели возбуждения лэнгмюровских колебаний водных протонов внешним электромагнитным полем получают естественное непротиворечивое объяснение вариации спонтанного мутационного фона. Все численные оценки сделанные на основе модели возбуждения ленгмюровских волн внешним полем, основаны на стационарной картине, то есть в предположении, что ни спектр, ни напряженность поля отдельных гармоник не изменяются во времени. Эта идеализация позволила согласовать все, казалось бы разрозненные данные биологических экспериментов - в этом ее конструктивность. Совершенно очевидно, что реально внешнее электромагнитное поле далеко не стационарно – существуют суточные вариации как интенсивности поля, так и его спектрального состава, такие же вариации имеют сезонный характер (Физика космоса, 1986). Кроме того, хорошо известно, что электромагнитная обстановка на Земле детерминирована процессами на Солнце и т.д. Естественно при этом возникает вопрос о воспроизводимости экспериментов.

Экспериментальный материал, представленный в монографии, набирался более десяти лет, однако ввиду отсутствия гипотезы, последовательно объясняющей наблюдаемые явления, он был чрезвычайно уязвим для критики. Главным недостатком его является непредсказуемость поведения популяций микроорганизмов: несмотря на то, что в каждом конкретном эксперименте получались данные, отвечающие всем критериям достоверности, воспроизвести их однозначно в последующих сериях оказалось чрезвычайно трудно.

---

[10]В работах (Петренко, Гусев и др. 1982; Гусев 1985).исследовались алкилпроизводные гидроксиламина, мутагенное действие которых обусловлено модификацией цитозиновых звеньев в составе ДНК. Показано, что некоторые производные «мягко» модифицируют цитозин до N^4-гидроксицитозина, который не выщепляется polA – зависимой системой эксцизионной репарации и в процессе репликации опознается ДНК-полимеразой как аналог тимина. После цикла репликации происходит транзиция GC→AT.

Потребовалось много лет, чтобы экспериментально «почувствовать» и сформулировать принцип циклической воспроизводимости экспериментов на живых системах. Действительно, в силу неравновесности живой системы как на уровне одного микроорганизма, так и на популяционном уровне, нельзя организовать одно и тоже начальное состояние объекта исследования в строгом понимании этого термина. Следовательно, общепринятое понятие воспроизводимости экспериментов с живыми объектами приобретает весьма условное значение. В тех экспериментах, для которых задачей исследования является установление качественных закономерностей (например, отнесение исследуемого микроорганизма к классу грамотрицательных или грамположительных), проблема воспроизводимости не стоит. В тоже время попытка точного количественного определения данного признака в пределах хотя бы 10% точности наталкивается на чрезвычайную вариабельность его от эксперимента к эксперименту.

Вторым фактором, способствующим невоспроизводимости экспериментов, является невозможность полного контроля степени чувствительности живой, а в принципе любой неравновесной системы ко всем возмущающим воздействиям внешней среды. Наличие позитивных и негативных обратных связей со свойственными им нелинейными ответами приводит к тому, что формально пренебрежимое внешнее воздействие через вполне конечное время может радикальным образом поменять динамику процесса. Результаты, приведенные в наших работах (Гусев и др., 1989; Гусев В.А., 1993.) служат прекрасной иллюстрацией этого утверждения. Фактически в работе с живыми системами экспериментатор сталкивается не с проблемой воспроизводимости как таковой, а с проблемой устойчивости нелинейных систем к внешним возмущениям. На языке теоретиков это формулируется как проблема устойчивости решений уравнений нелинейной динамики. Для большого класса нелинейных уравнений критерии устойчивости известны (Николис, Пригожин 1979). Однако, при исследовании нового биологического явления, для которого неизвестны ни физическая, ни математическая модели, приходится вслепую нащупывать условия проведения эксперимента, отвечающие критерию устойчивого воспроизведения. Таким путем, например, удалось вычленить влияние внешнего электромагнитного окружения на популяцию водных микроорганизмов.

Количество экспериментов, (в терминах статистики - объем выборки) или иначе длительность периода наблюдений для получения количественных результатов, совпадающих в пределах ошибки используемого инструментария, заранее предсказать невозможно. На сегодняшний день можно лишь утверждать, что в зависимости от исследуемого признака и поставленной задачи, «хорошая» воспроизводимость экспериментов с живыми системами может иметь как суточную, так и годичную периодичность. Анализ многолетних экспериментов, проводимых с популяциями микроорганизмов в условиях абсолютного субстратного голода, позволил сформулировать принцип циклической воспроизводимости: *в серии идентичных экспериментов, поставленных в течение длительного периода времени, обязательно найдутся такие, результаты которых будут совпадать с точностью до инструментальной ошибки.* Исходя из этого принципа необходимым и достаточным условием для построения теоретической модели процесса, является наличие как минимум двух таких совпадающих серий. Экспериментатор имеет право строить модели процесса, даже если остальной массив данных не укладывается непосредственно в заданный разброс экспериментальных данных.

Этот принцип сформулирован нами на основании анализа собственных экспериментальных данных, а также на данных других исследователей, столкнувшихся с проблемой воспроизводимости в неравновесных системах (Шноль и др., 1998). Авторы этих работ проводили однотипные эксперименты с различными неравновесными системами физической, химической и биологической природы в течение нескольких десятков лет, что позволило им достоверно выявить несколько циклов повторяемости измеряемых характеристик процессов во времен'ных масштабах от суток до года.

2.2.4 Эффект Олли и нижняя критическая концентрация клеток в популяции микроорганизмов

Проанализируем теперь эффект критической концентрации клеток микроорганизмов 10^2 $см^{-3}$. Напомним его суть: в популяциях с начальной концентрацией жизнеспособных клеток, близкой к 10^2 $см^{-3}$ наблюдается неустойчивая динамика – существенно увеличивается латентный период за счет того, что в течение суток инкубирования, фазы амплификации и вымирания

многократно чередуются. При начальных концентрациях ниже 10^2 см$^{-3}$ популяции быстро вымирают.[11]

Суммируя данные, представленные в первой главе (см. рис. 1.1.1-1.1.3, 1.3.12), можно выделить две стратегии поведения популяций в бессубстратной среде (рис. 2.2.2 и 2.2.3). Для наглядности графические образы стратегий представлены в идеальном виде – реально стационарная концентрация $K_{01}\approx10^6$ см$^{-3}$ не является константой. Как уже неоднократно подчеркивалось, концентрация жизнеспособных клеток претерпевает вариации на всех временных масштабах от нескольких секунд до нескольких суток в диапазоне $(2\text{-}5)\times10^6$ см$^{-3}$. На основании этого факта можно сделать предположение о том, что данная стационарная точка относится к классу странных аттракторов (Николис, Пригожин 1979). Физический смысл ее подробно рассмотрен и обоснован в данной главе.

Вторая особая точка $K_{02}\approx10^2$ см$^{-3}$ неустойчива и обладает свойствами аналогичными седловой точке (Николис, Пригожин 1979). В популяциях со стратегией II эта особая точка исчезает, или точнее обе точки объединяются в одну, то есть $K_{02} = K_{01}\approx10^6$ см$^{-3}$. Очевидно, что необратимое вымирание популяций, начальные концентрации которых ниже $K_0\approx10^6$ см$^{-3}$, невозможно объяснить дефицитом свободной энергии водной среды – если ее достаточно для популяций с $K_0\approx10^6$см$^{-3}$, то заведомо хватит для поддержания жизнеспособности популяций с $K_0 = 10^2 - 10^5$см$^{-3}$. В этом случае следует предположить, что при малых концентрациях клетки микроорганизмов не способны извлекать ее из среды и использовать для поддержания жизнеспособного состояния популяции.

Здесь следует отметить, что все элементарные ферментативные акты в живой клетке, связанные с затратой энергии, сопряжены с актами ферментативного расщепления АТФ (Эллиот, Эллиот 1999). В этом смысле процессы зарядки мембраны протонами и синтеза АТФ не могут являться исключением. На молекулярном уровне это можно представить так, что протон, преодолевший трансмембранный потенциал попадает в «ловушку» фермента

[11]Этот эффект аналогичен эффекту Олли (Allee 1931), который наблюдается в популяциях, размножающихся половым путем. Однако математические модели популяционной динамики не запрещают проявление этого эффекта при определенных условиях взаимодействия популяция-среда в популяциях, находящихся на любом уровне эволюционного развития (Fowler, Ruxton 2002).

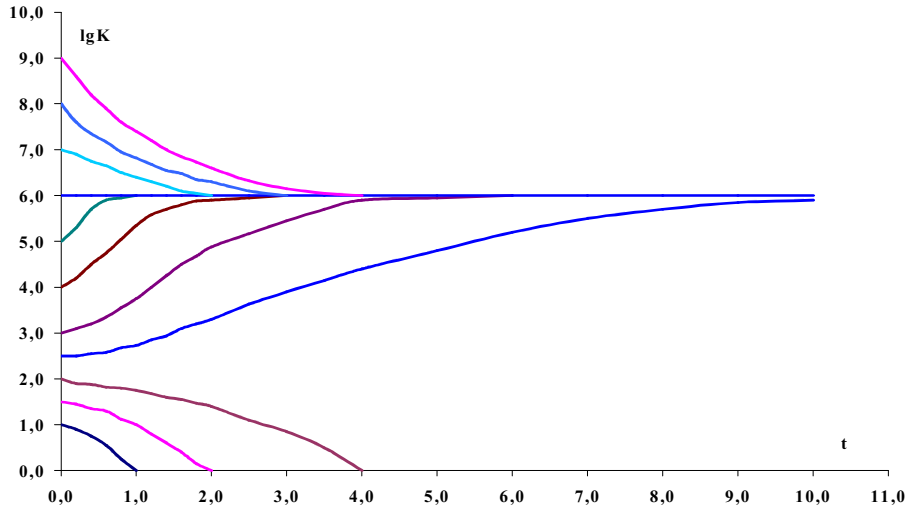


Рис. 2.2.2. Стратегия I. По оси абсцисс время - сутки, по оси ординат десятичный логарифм концентрации клеток в $см^3$

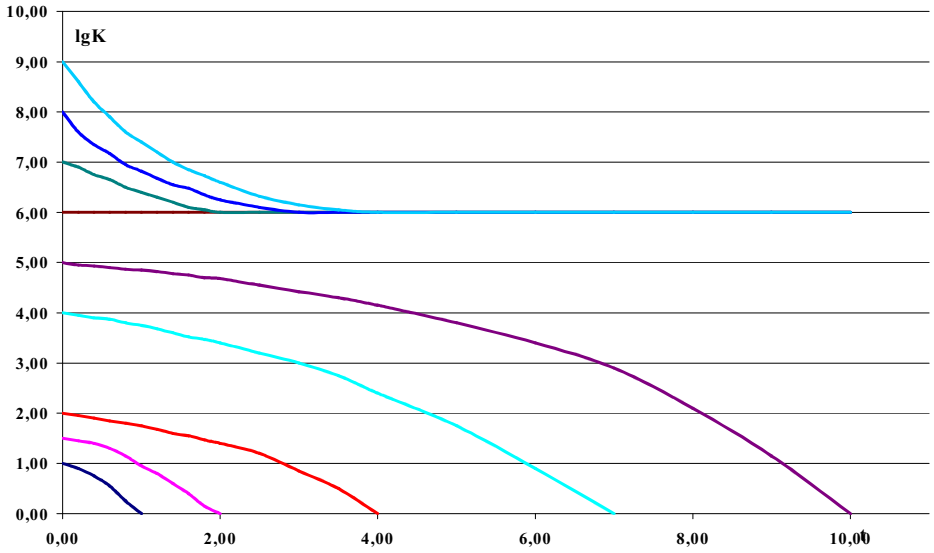


Рис. 2.2.3. Стратегия II. По оси абсцисс время - сутки, по оси ординат - десятичный логарифм концентрации клеток в $см^3$

АТФ-синтазы, которая, используя его энергию, синтезирует молекулы АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Медленные, то есть низкоэнергетичные протоны в этом процессе не участвуют, так как не способны преодолеть трансмембранный потенциал. Протоны, энергия которых во внешней по отношению к клетке микроорганизма среде превышает величину $q\varphi$ (напомним здесь q - заряд протона, φ – трансмембранный потенциал), после прохождения мембраны обладают дополнительной кинетической энергией и будут проскакивать ловушку АТФ-синтазы. Из формулы (2.2.22) следует, что

описанный процесс сопряжения возможен только при нейтральном pH=7, что явно противоречит эксперименту.

Для того, чтобы разрешить это противоречие предположим, что клетки способны синтезировать и выделять во внешнюю среду молекулы, посредством которых возможно замедление быстрых протонов до энергии $q\varphi$. Это предположение основано на экспериментальных данных (Вахитов 1993). Автор исследовал выживаемость популяций *E.coli* в дистиллированной воде и солевых растворах при различных концентрациях клеток. Методами диализа и хроматографии было доказано, что в водных суспензиях с концентрацией клеток в диапазоне 4×10^7-6×10^8 см$^{-3}$ накапливаются низкомолекулярные соединения, увеличивающие время выживаемости популяций в бессубстратных условиях. Эти соединения охарактеризованы авторам только по физиологическому действию на клетки, но структурно и химически не исследованы. Конкретный молекулярный механизм протекторного действия низкомолекулярных соединений, выделяемых клетками, не исследовался.

В рамках рассматриваемой модели и с учетом приведенных выше литературных данных эффект нижней критической концентрации получает достаточно простую интерпретацию. Для того чтобы эффективно использовать энергию водных протонов, клетки выделяют в среду низкомолекулярные соединения, возможно содержащие гидрофобные группы, которые повышают число разорванных водородных связей (подробней об этом см. в Главе 3). Последнее ведет к замедлению протонов, то есть потере энергии до значений, близких к $q\varphi$ - протоны с такой энергией способны эффективно заряжать цитоплазматическую мембрану и тем самым обеспечивать энергией внутриклеточный метаболизм. При концентрациях ниже критической $K_{02}\approx10^2$ см$^{-3}$ клетки не способны обеспечить необходимую концентрацию низкомолекулярных протекторов для замедления протонов и, следовательно, вымирают.

В заключение данной главы отметим, что до сих пор автор не использовал ни одного предположения или гипотезы как с точки зрения физики окружающей среды, так и биологии микроорганизмов, которые отличались бы от уже установленных и общепринятых представлений. Наша модель является лишь оригинальной компиляцией известного.

Глава 3 Структура и свойства воды в динамике популяций микроорганизмов

До сих пор автор строго «исповедовал» принцип Оккама (Фил. энц. словарь 1989, с. 440) и не вводил новых сущностей – все наблюдаемые явления объяснялись в рамках известных законов классической физики и биологии. Заслуга автора лишь в том, что он нашел удачную логически согласованную биофизическую модель, позволяющую понять феномен длительной выживаемости и амплификации микроорганизмов в воде. Как будет показано ниже, введенное понятие о лэнгмюровских колебаниях водных протонов позволяет интерпретировать не только биологические феномены, но и ряд явлений, связанных со окружающей микроорганизмы водной средой. Существенным моментом в развитии модели явилась взаимодополняемость экспериментальных данных, полученных как биологическими, так и физическими методами.

3.1 Конвективная неустойчивость воды

Модель взаимодействия микроорганизмов с внешним электромагнитным полем через посредство водных протонов предполагает, что водная среда относится к категории активных сред. Апеллируя к известному высказыванию классика о том, что Natura ab Horret Vacuum «*природа не терпит пустоты*» (Аристотель 384-322 гг. до н.э.), следует признать, что живые системы научились использовать этот источник энергии. Однако, как видно из расчетов, представленных в разделе 2.2.1 только часть энергии среды используется клетками микроорганизмов для своих нужд. Невозможность полной утилизации свободной энергии среды обусловлена ограниченной пропускной способностью протонных каналов клетки.

Возникают естественные вопросы – куда и каким образом расходуется большая часть свободной энергии водной среды? Очевидно, что, в конце концов, произойдет ее тепловая диссипация, но последовательность молекулярных процессов на этом пути далеко нетривиальна. Действительно, как было показано выше (см. раздел 2.2.1), идеальная стационарная картина лэнгмюровских колебаний протонов представляет собой чередование в объеме

воды зон с положительным и отрицательным зарядами. Схематически это изображено на рис. 3.1.1.

Наличие квазистационарной объемной интерференционной картины ленгмюровских волн соответствует квазирегулярному чередованию зон размером порядка полуволны, имеющих противоположные знаки электрического заряда. Это распределение можно представить в виде кубической решетки типа NaCl с периодической во времени сменой зарядов в ее узлах. В кристалле NaCl заряды жестко закреплены в пространстве, тогда как в жидкости это невозможно.

Заряды молекулярных масштабов с радиусом Дебая много большим средних расстояний между ними не взаимодействуют друг с другом. В нашем же случае масштабы заряженных зон соизмеримы с расстояниями между ними. Средний по времени заряд в каждой такой зоне равен нулю, так как $Q = Q_o \overline{\sin \varpi t} = 0$, но его среднеквадратичное значение не зависит от времени и имеет конечную величину $\overline{Q^2} = Q_o^2 \overline{\sin^2 \omega t} = Q_o^2 / 2$. Поскольку кулоновская сила взаимодействия пропорциональна квадрату заряда, а потенциальных барьеров для пространственного перемещения жидкости не существует – неизбежно активируется движение заряженных зон. Перемещение протонов происходит по водному каркасу из сети водородных связей, что приведет к активации течений во всей массе воды. Характерные скорости течений оценим исходя из предположения, что стационарная скорость перемещения заряженных зон достигается при условии равенства сил кулоновского притяжения и вязкого трения, то есть:

$$\frac{\overline{Q_o^2}}{2\left(\lambda_L / 2\right)^2} = 6\pi\eta\left(\lambda_L / 4\right)v \qquad \text{или} \qquad v = \frac{q^2 n_H}{9\eta}, \tag{3.1.1}$$

η – вязкость воды, v – скорость движения заряженной зоны радиуса $r=\lambda_L/4$. Здесь предполагается, что макроскопические заряженные зоны находятся в непосредственном контакте, и экранизация их зарядов молекулами воды отсутствует. Численной оценки характерной скорости потоков для дистиллированной воды с pH = (6.0 - 6.6) лежат в диапазоне скоростей v = (15 – 4) мкм/сек, что хорошо соответствует среднему экспериментально наблюдаемому значению скоростей (см. рис. 3.1.2). Характерное время

релаксации, то есть время достижения этой скорости оценим из выражения $\tau=2\rho(\lambda_L/4)^2/9\eta\approx0.3$ мксек (здесь ρ – плотность воды).

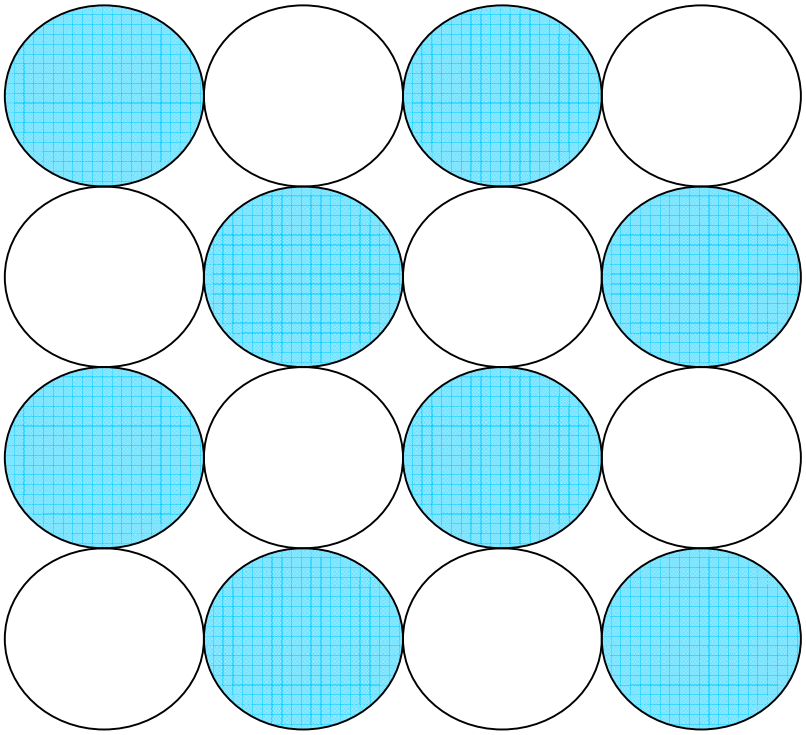


Рис. 3.1.1. Схематическое расположение стоячих лэнгмюровских волн. Разные световые контрасты соответствуют противоположным электрическим зарядам, диаметр сферы равен половине лэнгмюровской волны $D\approx\lambda_L/2$. С частотой ω происходит смена знака заряда (на схеме это соответствует смене световых контрастов)

Здесь следует отклониться от логического стиля, принятого для написания научных монографий и сделать небольшой исторический экскурс. Дело в том, что описанная выше конвективная неустойчивость была обнаружена нами при исследовании динамики собственной подвижности клеток микроорганизмов методом лазерной спектрометрии высокого разрешения (Bagayev, Gusev, et. al. 1996; Bagayev, Gusev, et. al. 1998; Bagayev, Gusev, et. al. 1999). Мы столкнулись с проблемой неустойчивости водных суспензий как живых, так и инактивированных клеток микроорганизмов, по отношению к возбуждению конвективных потоков. Последние чрезвычайно осложняли исследования, так как их скорости были соизмеримы со скоростями собственной подвижности микроорганизмов. В начале своих исследований нам

удавалось гасить «паразитные» течения введением растворимых примесей органической и неорганической природы. Однако, вскоре оказалось, что возможности этого эмпирически найденного приема весьма ограничены. За пять лет исследований с 1996 по 2001 гг. мы убедились, что этот прием срабатывает лишь в короткие временные интервалы, как в разные сезоны года, так и разное время суток. Накопленный эмпирический материал свидетельствовал о том, что данный феномен не имеет прямого отношения к конвекции, возбуждаемой температурным градиентом (Ландау, Лифшиц 1986). В оптической кювете температурный градиент < 0.001 град/см, что заведомо ниже критического 0.01град/см, после достижения которого может возбуждаться термоконвекция в оптической кювете, характерные размеры которой порядка 1 см. Кроме того, молекулярный механизм остановки «паразитных» течений примесями NaCl, этанола и др. оставался непонятен. Во-первых, потому, что гашение «паразитных» течений происходило не всегда. Во-вторых, даже если удавалось их погасить сразу после введения примесей, примерно через 40-60 мин макроскопические потоки снова активировались.

Описанные выше наблюдения потребовали провести специальную серию экспериментов по исследованию самоорганизованных потоков в дистиллированной воде в процессе многосуточного эксперимента методом лазерной спектрометрии высокого разрешения. Методически это было представлено следующим образом. Дважды дистиллированная вода объемом 2.7 $см^3$ помещалась в стандартную оптическую кювету размерами 37×17×5 мм и толщиной стеклянных стенок 2 мм. Кювета закрывалась стеклянной крышкой толщиной 2 мм, в качестве герметика использовался слой пленки «Парафилм». Визуализация потоков осуществлялась частицами латекса диаметром 0.5 мкм с концентрацией 10^8 $см^{-3}$. Кювета с суспензией латекса помещалась в медный кожух с толщиной стенок 2 мм. Для прохождения лазерных пучков на двух торцевых стенках кожуха в центральной части проделаны отверстия длиной 20 мм и шириной 2 мм.

Предварительно было показано, что величина температурного градиента между максимально удаленными точками внутри кюветы, помещенной в такой кожух не превышает 0.001 град/см при выдерживании ее в течение нескольких суток при комнатной температуре. Образец в такой сборке устанавливался в

регистрационную часть лазерного спектрометра, схема которого и принцип измерения малых скоростей описаны в работе (Bagayev, Gusev, et. al. 1996).

На рис. 3.1.2 представлена зависимость скорости потока в центральной зоне кюветы при непрерывном наблюдении образца в течение 2.5 суток. На фоне тренда достоверно просматривается циклическая зависимость от времени. Можно было предполагать, что скорость упорядоченных потоков зависит от суточных вариаций давления и температуры, которые имеют место в лабораторном помещении.

Действительно, при изменении температуры среды происходит нагрев (охлаждение) стенок кюветы, результатом которого будет формирование градиента температур в объеме жидкости. Термоконвекция активируется, если скорость нагрева (охлаждения) превысит порог устойчивости, величина которого зависит от условий эксперимента (геометрии и размеров кюветы, вязкости жидкости). Контрольные замеры температуры с точностью 0.03 градуса, осуществлявшиеся каждые полчаса показали, что скорость нагрева

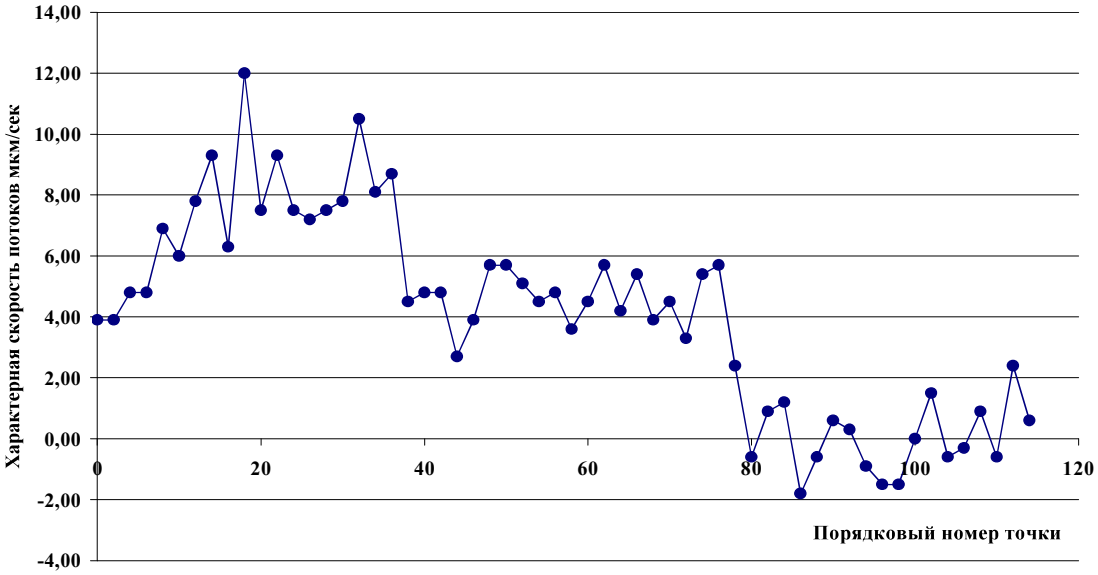


Рис. 3.1.2. Изменение характерной скорости водных потоков

(охлаждения) лабораторного помещения изменялась в течение суток, но не превышала 0.2 град/час, а максимальное изменение температуры в течение 12 часов не превышало одного градуса. На рис. 3.1.3 представлены данные сопоставления скоростей потоков в кювете с производной температуры по

времени. Как видно из рисунка, корреляция между этими параметрами отсутствует. Аналогичный вывод следует и из сопоставления скоростей потоков и дрейфом давления.

Наиболее ярко суточная цикличность выявляется при усреднении точек, полученных в одно и тоже время суток и трехкратном сглаживании этой кривой - максимум скоростей потоков приходится на 12 часов по местному времени, минимум на 0 часов (рис. 3.1.4, верхняя кривая). На этом же рисунке приводятся данные о суточной цикличности горизонтальной составляющей магнитного поля Земли (нижняя кривая, напряженность поля представлена в

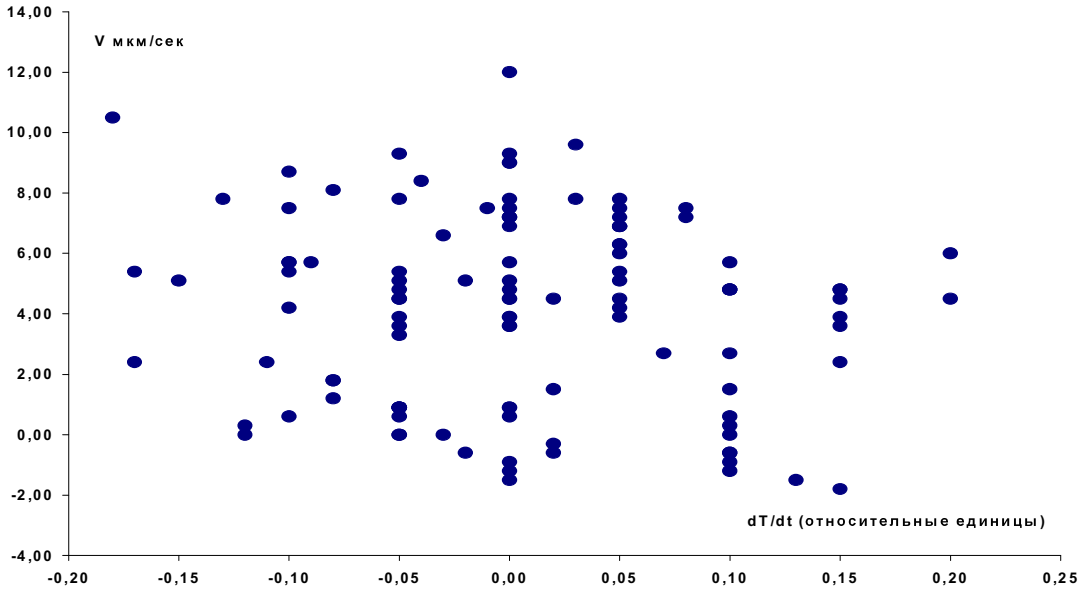


Рис. 3.1.3. Сопоставление скоростей водных потоков со скоростью изменения температуры измерительной кюветы

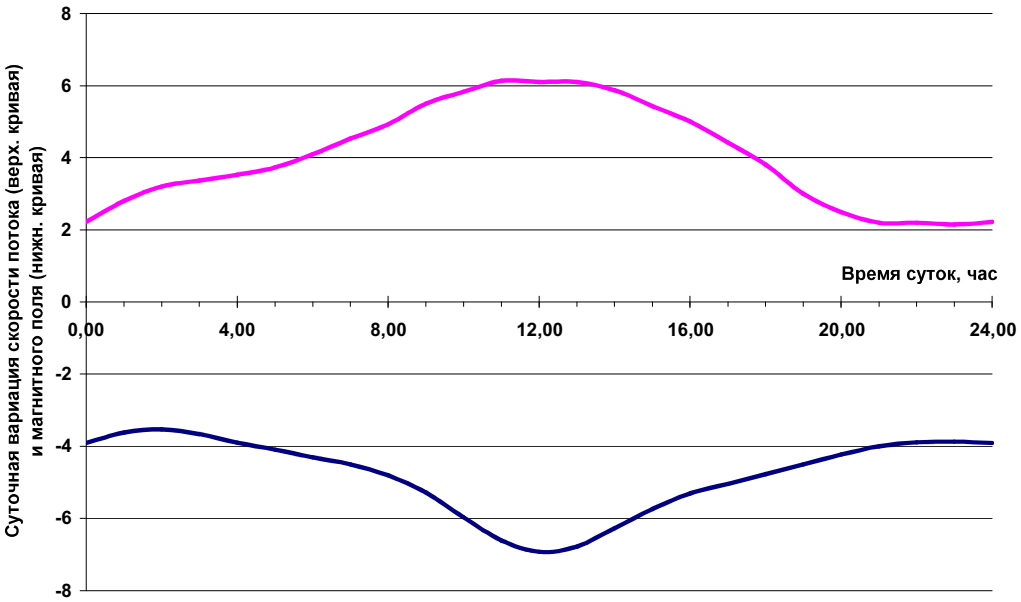


Рис. 3.1.4. Сопоставление суточных вариаций скоростей потоков и горизонтальной составляющей земного магнитного поля

относительных единицах)[1] . Глобальный экстремум на этой кривой также наблюдаются на указанных выше временах. Это позволяет считать, что исходная причина обеих вариаций связана с периодичностью суточного вращения Земли. Однако, отсюда не следует, что существует причинно-следственная связь между вариациями магнитного поля и скоростью потоков. На это указывают данные рис. 3.1.5 - напряженность магнитного поля в пределах ошибки измерений имеет строгую периодичность, тогда как колебания модуля скорости происходят на фоне глобального тренда, а направление потоков даже меняет знак. Другими словами, суточные вариации скорости потоков в оптической кювете не могут быть напрямую связаны с суточными вариациями заряженных частиц солнечной плазмы. Последние, как известно, являются причиной суточных колебаний магнитного поля Земли (Физика космоса 1986).

[1]Пользуясь случаем, автор выражают признательность сотрудникам Ионосферной обсерватории СО РАН г. Новосибирска за предоставленные магнитограммы.

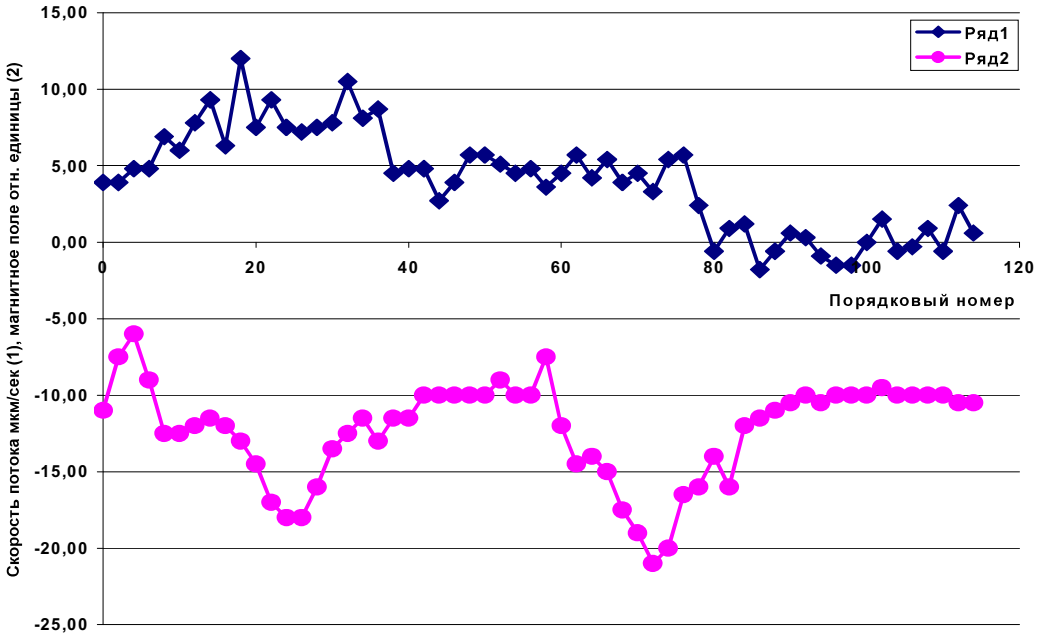


Рис. 3.1.5. Сопоставление дрейфов скоростей потоков (верхняя кривая) и горизонтальной составляющей земного магнитного поля (нижняя кривая) в процессе непрерывного многочасового наблюдения

Гравитационное воздействие Солнца, обусловленное приливными явлениями также не может быть непосредственной причиной вариации скоростей потоков, так как в противном случае должны наблюдаться и лунные приливы, тем более, что последние на порядок больше солнечных.

Таким образом, из известных физических солнечно-земных взаимодействий остается электромагнитный канал. Поскольку измерительная кювета защищена от его оптической части, но не экранирована полностью[2] от электромагнитных волн в радиодиапазоне можно предположить, что возбуждение потоков в воде осуществляется именно этой составляющей солнечного спектра электромагнитного излучения.

Следует обратить внимание на тот факт, что теоретическое значение характерных скоростей потоков, рассчитанное по формуле 3.1.1, хорошо укладывается в экспериментально наблюдаемый диапазон скоростей. Кроме того, максимумы скоростей потоков приходятся на время Солнечного зенита. Эти данные служат убедительным аргументом в пользу того, что источником

[2]Полную изоляцию кюветы от электромагнитного поля невозможно осуществить, так как всегда должны оставаться входное и выходное отверстия для лазерных пучков.

энергии, активирующим макроскопическое движение в воде, являются электромагнитные волны.

Таким образом, данные биологических экспериментов об амплификации микроорганизмов в чистой воде и физических экспериментов об активации водных потоков оказываются взаимосвязанными через энергетический канал – оба набора данных хорошо согласуются не только качественно, но и количественно. Ретроспективный анализ всей серии экспериментов позволяет автору утверждать, что именно биологические эксперименты позволили приблизиться к объяснению некоторых динамических аномалий воды. Напомним, что в разделе 2.2.4 на основании литературных данных о выделении клетками низкомолекулярных протекторов был объяснен механизм возникновения нижнего порога концентраций. Попытаемся использовать эту же логику для ответа на вопросы – какова роль растворимых примесей в подавлении микропотоков и почему их действие ограничено по времени?

В работе (Dixit, Crain 2002) методом дифракции нейтронов на водно-спиртовых растворах показано, что концентрированные смеси метанола и воды с молярным отношением 7/3 представляют собой не идеальные растворы, но формируют два типа кластеров: спиртовые, в которых гидрофобные метильные группы вытеснены из водного окружения и водные, объединенные водородными связями. Только 13% молекул воды «идеально» растворены в спиртовых кластерах, остальные 87% организованы в водные кластеры.

Поскольку в наших экспериментах использовались водно-спиртовые разбавленные растворы с молярным соотношением этанол-вода приблизительно 3×10^{-3}, то на основании данных работы (Dixit, Crain 2002) можно предположить, что с течением времени молекулы спирта формируют кластеры за счет вытеснения их этильных гидрофобных группировок из водного окружения. Термодинамическое равновесие достигается по нашим данным за 40-60 мин.

В чистой воде относительное число разорванных водородных связей определяется больцмановским членом $\exp(-U_H/kT)$. При 300^{o}K и энергии водородной связи U_H=25кдж/моль это приблизительно соответствует 4×10^{-5}. После введения молекул спирта в соотношении 3×10^{-3} число разорванных водородных связей увеличится как минимум на два порядка, что существенно сократит длину свободного пробега протонов. Легко оценить в этом случае, что

их энергия при прочих равных условиях упадет приблизительно в 20 раз. Однако по мере кластеризации раствора водородные связи будут восстанавливаться и с некоторого момента энергии протонов будет достаточно для активации микропотоков. Возможно, что аналогичные явления происходят и в водно-солевых растворах.

На протяжении 70-ти летней истории исследования физико-химических свойств воды [3] опубликовано необозримое количество работ по исследованию структуры и физико-химических аномалий воды как теоретиками, так и экспериментаторами (Зацепина 1998, а также список литературы к ней). Появился даже специфический водный жаргон: «магнитная вода», «живая и мертвая вода», «талая вода», «гомеопатическая или помнящая вода» (Классен, 1982; Красиков 1994, 1996; Davenas, at al. 1988). В литературе периодически развертываются научные баталии об истинности или артефактности множества указанных аномалий воды (Синюков 1987). Тем не менее, до сих пор в науке о воде не поставлена точка – объект, по-прежнему, преподносит экспериментаторам загадки. Так, в течение последних пяти лет в литературе интенсивно обсуждается эффект спонтанных или индуцированных долговременных переходных процессов в воде и ее растворах (Баранов, Салецкий 1995; Лобышев и др., 1998; Фесенко, Терпугов 1999; Пономарев, Фесенко 2000). Динамическая или конвективная неустойчивость, обнаруженная нами, по-видимому, также относится к разряду долговременных переходных процессов. В следующем разделе мы попытаемся построить ее теоретическую модель.

3.2 Нелинейные явления в динамике популяции микроорганизмов как следствие динамической неустойчивости воды

В разделах 1.3.5 и 1.3.6 представлены результаты исследования зависимости числа жизнеспособных клеток (ЧЖК) как при изменении объема пробы, так и концентрации клеток в исходном объеме. Из этих данных следует, что:

[3]Работу Бернала и Фаулера (Bernal, Fowler 1933) принято считать первой в научной библиографии о структуре и физико-химических особенностях воды.

- при изменении концентрации клеток (разведении суспензии путем добавления воды) ЧЖК изменяется не прямопропорционально степени разведения,

- при отборе проб из объема с постоянной концентрацией клеток ЧЖК также наблюдаются нелинейные явления – ЧЖК в пробах возрастает не прямопропорционально их объему.

Степень нелинейности α зависимости ЧЖК от объема определяли исходя из степенной аппроксимации экспериментальных кривых:

$$K(v) = Av^{\alpha} \text{ или } \ln K(v) = \ln A + \alpha \ln v, \qquad (3.2.1)$$

где $K(v)$ – ЧЖК в объеме v, A – константа. Для определения этих коэффициентов нелинейности отбирались пробы из суспензии клеток с известной концентрацией. Объем проб возрастал от 10 до 100 мкл. Для каждого такого эксперимента строились в логарифмических координатах зависимости ЧЖК от объема пробы (см. рис. 3.2.1). По тангенсу угла наклона прямой вычислялся коэффициент нелинейности α согласно уравнению (3.2.1).

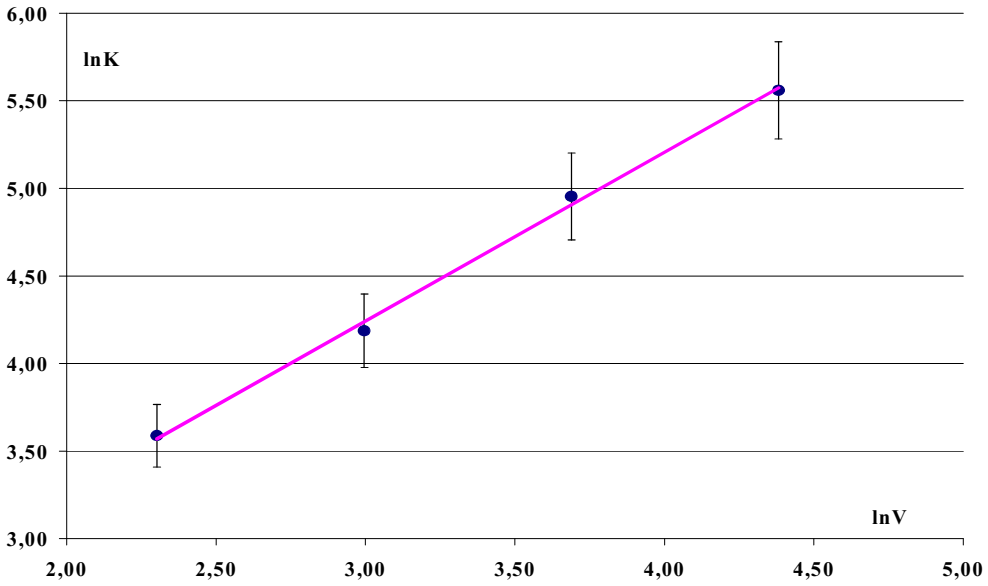


Рис. 3.2.1. Типичная кривая зависимости ЧЖК (К) от объема пробы (V мкл) в двойных логарифмических координатах

Для определения физического смысла коэффициентов нелинейности воспользуемся методами фрактальной геометрии. Как было сказано в разделе 1.6, объектами фрактальной геометрии являются структурные образования, для которых характерна иерархия и масштабная инвариантность. Из данных, представленных в разделе 1.5 следует, что концентрация клеток 8×10^2 см$^{-3}$ является критической точкой, ниже которой относительная дисперсия $\sigma^2/\bar{k}<1$, а с увеличением концентрации клеток относительная дисперсия становится больше единицы и далее перманентно растет. Этот эффект интерпретировался там как переход от квазирегулярного распределения жизнеспособных клеток в объеме к неравномерному, при котором формируется иерархия кластеров, с различной концентрацией жизнеспособных клеток. Кроме того, наблюдается сложная эволюция этих кластеров. Этот вывод сделан на основании дрейфа во времени относительной дисперсии вокруг среднего значения, величина которого определяется концентрацией жизнеспособных клеток (см. рис. 1.5.1-1.5.4).

Не вдаваясь пока в физический механизм данного явления, рассмотрим его формальную сторону. При иерархическом самоподобном распределении элементарных единиц фрактального объекта в трехмерном евклидовом пространстве их плотность в объеме не является константой, а зависит от величины объема пробы следующим образом (Смирнов 1991):

$$\rho(v) = \rho_o \left(\frac{v}{v_o} \right)^{\frac{D_R}{3}-3}, \qquad (3.2.2)$$

где $\rho(v)$ – плотность элементарных единиц в отбираемом объеме v (в данном случае концентрация ЧЖК), ρ_o – средняя плотность по всему объему, занимаемому фрактальным объектом (в данном случае полное число жизнеспособных клеток во всем исследуемом объеме), v_o – объем, приходящийся на одну элементарную единицу (в данном случае объем, приходящийся на одну клетку при равномерном распределении всей популяции), D_R – фрактальная размерность объекта. Из формулы (3.2.2) следует, что при m – кратном разведении популяции, обладающей фрактальными

свойствами, соответствующие плотности $\rho(v)$ и $\rho_m(v)$ будут относиться друг к другу как:

$$\frac{\rho(v)}{\rho_m(v)} = m^{\frac{D_R}{3}}. \qquad (3.2.3)$$

По этой формуле можно вычислить фрактальные размерности популяций, представленных на рис. 1.3.9.

Поскольку плотность клеток во фрактальной популяции зависит от объема, то для определения ЧЖК в пробе объемом v необходимо проинтегрировать выражение вида:

$$K(v) = \int_o^v \rho(v)dv = \frac{3\rho_o v_o}{D_R}\left(\frac{v}{v_o}\right)^{\frac{D_R}{3}}. \qquad (3.2.4)$$

Из формул (3.2.1) и (3.2.4) следует, что фрактальная размерность и коэффициент нелинейности связаны соотношением $D_R=3\alpha$. На рис. 3.2.2 отображена зависимость фрактальной размерности от концентрации микроорганизмов, рассчитанной по этому уравнению.

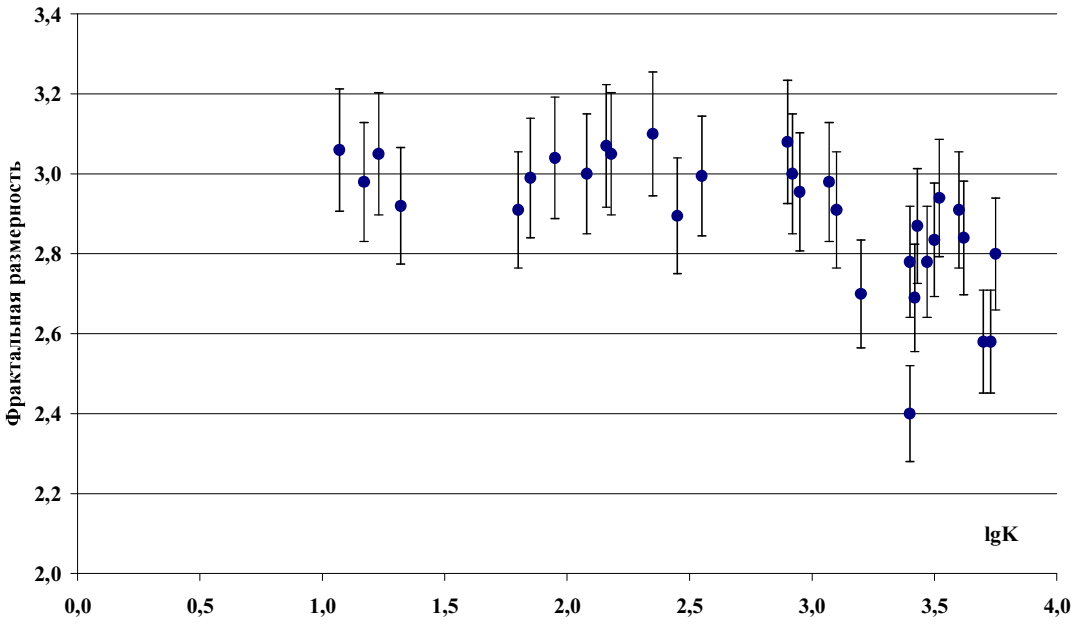


Рис. 3.2.2. Зависимость фрактальной размерности от концентрации жизнеспособных клеток. По оси абсцисс десятичный логарифм концентрации клеток в $см^3$

При концентрации клеток больше 3×10^2 $см^{-3}$ кривая на рисунке начинает заметно отклонятся от асимптотического значения 3, характерного для меньших концентраций. Прежде чем анализировать эту особенность поведения, необходимо отметить ряд экспериментальных тонкостей. Экспериментальные значения на рис. 3.2.2 получены для популяций с концентрацией жизнеспособных клеток в диапазоне $10\text{-}10^4$ $см^{-3}$. Это предельные концентрации, при которых еще возможно применять разработанный автором метод определения фрактальных размерностей (см. раздел 1.6). При работе с популяциями, концентрации клеток в которых лежат вне этого диапазона, экспериментатор сталкивается с почти непреодолимыми техническими трудностями. Так, например, при исследовании популяций, концентрация клеток в которых 10^6–10^5 $см^{-3}$, отбираемые объемы проб для определения в них числа жизнеспособных клеток не должны превышать 0.1 – 1 мкл. Точность микробиологических экспериментов при работе с такими объемами резко падает. Для повышения точности обычно используется стандартный метод последовательных разведений, который позволяет увеличить объем выборки с оптимальным числом колоний на чашке Петри – как правило, число колоний не

должно превышать 200-300 на чашку (Герхард 1983). В данном случае он не может быть использован, так как в процессе разведения будет изменяться концентрация клеток и информация об их состоянии в исходной популяции будет потеряна.

С аналогичной проблемой сталкивается экспериментатор при работе с популяциями, концентрация клеток в которых составляет 1 – 2 $см^{-3}$ (соответствующие характерные расстояния между клетками 1 – 0.8 см). Для примера можно оценить количество отбираемых вручную проб для достижения 5%, точности, необходимой для вычисления фрактальной размерности – число их достигает 2000. Другими словами, поскольку ошибка одного измерения ΔK пропорциональна корню квадратному из количества клеток в пробе $K^{1/2}$ или $\Delta K \approx K^{1/2}$, то для достижения заданной точности необходимо увеличить объем выборки N согласно соотношению $\Delta K/N^{1/2}K=1/(NK)^{1/2}=\text{const}$. Поскольку $K \approx l^{-3}$, отсюда следует, что $N \approx l^3$, то есть число проб возрастает пропорционально кубу линейного масштаба. Микробиологический эксперимент с таким числом проб становится физически не выполнимым.

Третья особенность, которая также должна быть учтена при измерении фрактальной размерности данным методом. На рис. 3.2.3 представлена кривая релаксации фрактальной размерность после механического возмущения популяции. Для стандартизации возмущения 2 мл суспензии прогонялось через шланги перистальтического насоса, далее периодически отбирались пробы различного объема для определения фрактальной размерности по формуле (3.2.4). Как видно из графика на рис. 3.2.3 механическое возмущение популяции, уменьшает фрактальную размерность, которая медленно релаксирует к своему стационарному значению. Отметим, что из данных, представленных на рис. 1.3.10-1.3.11, релаксационные процессы после разведения популяций имеют характерное время около 43 мин независимо от концентрации микроорганизмов. С учетом этих данных можно полагать, что после выдерживания популяции в течение 40-60 мин после приготовления, величина ее фрактальной размерности, измеренной как методом нарастающего объема проб, так и методом последовательного разведения будет соответствовать в пределах ошибки истинному стационарному значению при данной концентрации.

После этого методологического отступления вернемся к анализу экспериментальных данных. На графике рис. 1.6.2 видно, что точка инверсии поведения константы Херста лежит вблизи концентрации клеток 70-100 см$^{-3}$. Поскольку среднее расстояние между клетками обратно пропорционально корню кубическому из концентрации, то соответствующая оценка характерных межклеточных расстояний или линейных масштабов $l_{min} \approx 0.2$ см. Для этих же популяций относительная дисперсия в среднем меньше единицы. Минимальное межклеточное расстояние l_{min}, на котором в популяции происходят бифуркации в динамике жизнеспособных клеток и их пространственном распределении $l_{min} \geq 0.1$- 0.2 см. Отметим, что этот масштаб на три порядка превышает собственные размеры микроорганизмов.

Как видим, из трех независимых серий экспериментов получаются весьма близкие оценки минимальных масштабов корреляционного поведения микроорганизмов в водной суспензии. Отметим еще один эмпирический факт, не получивший пока объяснений. В разделе 1.1 сказано, что существует нижний порог концентрации клеток $\leq 10^2$ см$^{-3}$: если начальная концентрация

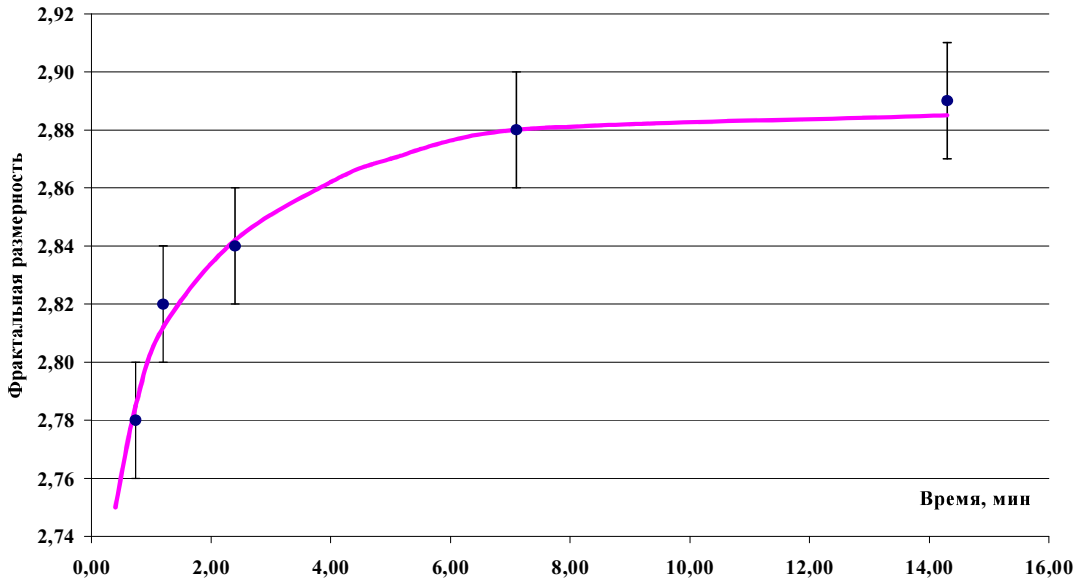


Рис. 3.2.3. Зависимость фрактальной размерности популяции от времени релаксации после механического возмущения. Концентрация суспензии с $(3.5\pm0.07)10^3$ см$^{-3}$

микроорганизмов в популяции меньше этой величины (соответственно масштаб межклеточного расстояния l_{min}≥0.2см), размножение клеток в дистиллированной воде не происходит. Такая популяция менее чем за сутки необратимо вымирает.

В разделе 3.1 на основе биологических экспериментов сделана попытка интерпретации данных физических экспериментов о динамике водных потоков. В данном разделе рассмотрены нелинейные явления в популяции микроорганизмов, которые аналитически описываются методами фрактальной геометрии. Сделаем следующий шаг – объединим данные этих независимых экспериментов в единой модели. Для этого введем предположение - *будем считать, что клетки микроорганизмов участвуют во всей иерархии движений водной среды, происходящих на масштабах равных и больших характерного размера микроорганизма.*

Из результатов, представленных выше следует, что на масштабах l_{min}≥0.2см (соответствующих концентрации $\leq 10^2$ клеток в см^3) распределение микроорганизмов в объеме имеет черты квазирегулярного, то есть упорядоченного в пространстве. Этот вывод был сделан на основе того, что относительная дисперсия в ряду идентичных проб $\sigma^2/\bar{k}<1$. Поскольку весь водный объем, занимаемый популяцией, находится в перманентном движении, то на основании введенного выше предположения можно сделать вывод о том, что движение жидкости на линейных масштабах l_{min}≥0.2см самосогласовано, то есть упорядочено.

На сантиметровых масштабах это удалось экспериментально показать при измерении скорости потока в различных точках оптической кюветы (см. раздел 3.1). Сканирование плоскости кюветы по вертикальной и длинной горизонтальной осям (37мм – вертикальная ось, 17мм – длинная горизонтальная ось, 5мм – короткая горизонтальная ось) позволяет восстановить полную картину макроскопического потока. Устойчивое макроскопическое движение в кювете с указанной геометрией реализовывается в двух вариантах:

- вращение всей массы жидкости по, либо против часовой стрелки,
- движение в виде двух макровихрей, вращающихся в противоположные стороны.

Отбор того или иного вида макроскопического потока, по-видимому, случаен, так как от эксперимента к эксперименту не удалось проследить какого-либо предпочтения.

Технические возможности лазерного спектрометра не позволяют провести аналогичные прямые измерения на интересующих нас миллиметровых масштабах. Однако, о характере движения на этих масштабах можно судить по косвенным данным. На рис. 3.2.4 представлены результаты сопоставления абсолютной величины скорости потока в одной точке кюветы с соответствующим разбросом скоростей.

Представленные данные следует интерпретировать так, что с увеличением модуля скорости потоков на сантиметровых масштабах разброс скоростей на меньших масштабах возрастает. Следовательно, макроскопическое упорядоченное движение жидкости формируется посредством самосогласования движений на малых масштабах.

Из данных о фрактальной размерности популяции жизнеспособных клеток, а также с учетом предположения, введенного в начале данного

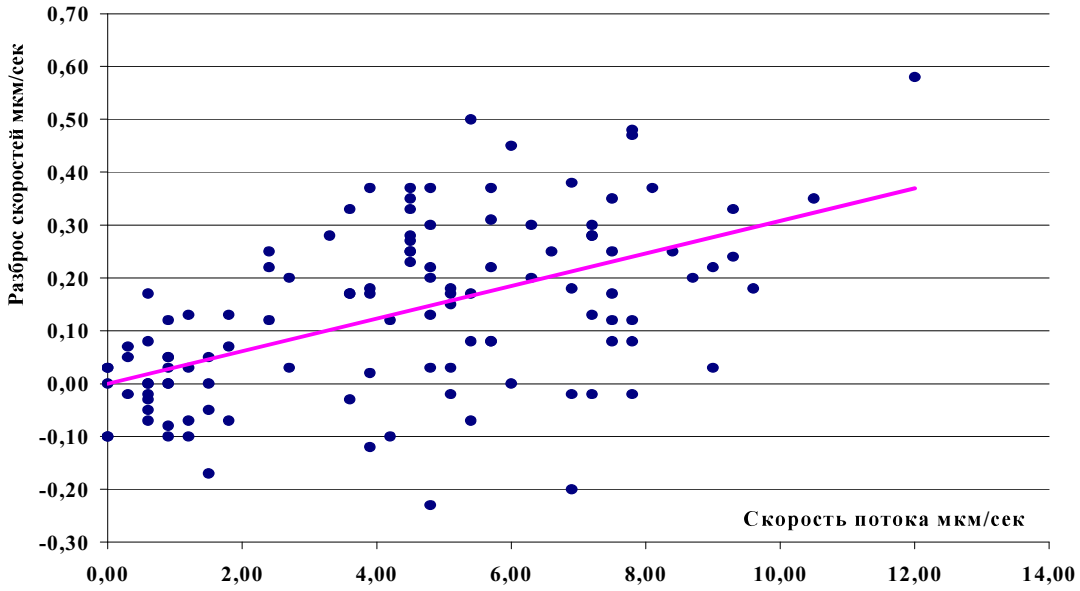


Рис. 3.2.4. Зависимость разброса скоростей от модуля средней скорости макроскопического потока в фиксированной точке кюветы. Прямая - линейная аппроксимация, описываемая уравнением вида $y=0.03x$

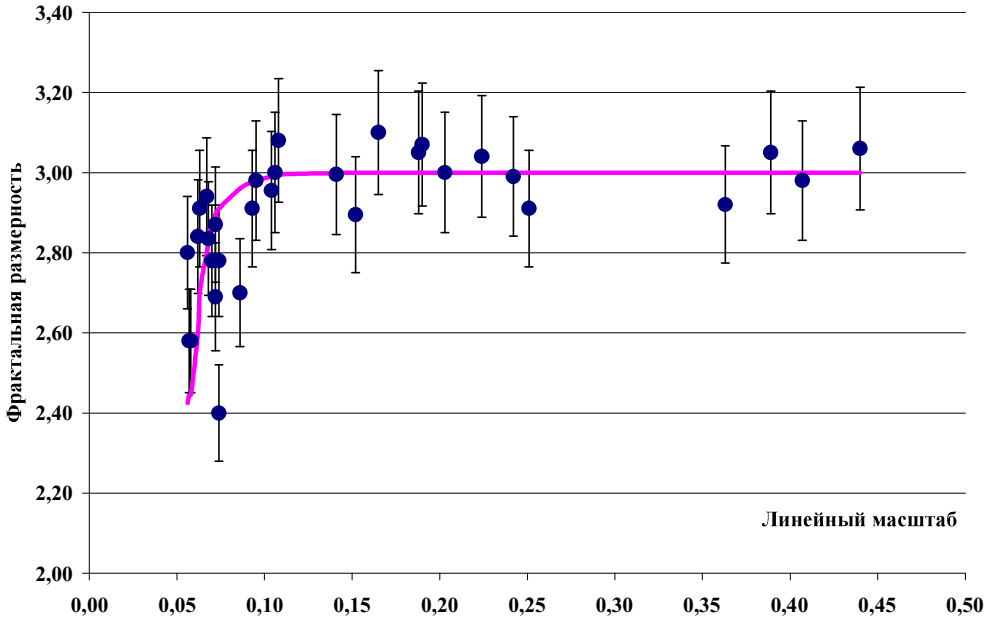


Рис. 3.2.5. Зависимость фрактальной размерности от линейного масштаба. Ось абсцисс перенормирована согласно соотношению $l \approx K^{-1/3}$ (см). Сплошная линия – аппроксимационная кривая

раздела, следует вывод о том, что на масштабах от $l \leq 0.1$см распределение скоростей потоков в пространстве имеет фрактальную структуру - это следует из данных, представленных на рис. 3.2.5.

Этот рисунок является анаморфозой рис. 3.2.2, ось абсцисс которого преобразована как $l \approx K^{-1/3}$. В этих координатах четко прослеживается изменение пространственно-временной динамики популяции на масштабах $l \leq 0.1$см, которое не может быть проинтерпретировано в отрыве от пространственно-временной динамики среды, то есть водного окружения.Отметим, что в данной серии экспериментов микроорганизмы исполняют роль своеобразных тестеров – по характеру их распределения в пространстве можно судить о динамической структуре водных микропотоков в объеме образца. Как видно из рис. 3.2.5 на больших масштабах 0.1 – 0.5 см не наблюдается никаких особенностей в структуре потоков, «тестируемых» микроорганизмами. Все особенности движения водной массы сосредоточены на малых линейных масштабах 0.05-0.1 см. Фрактальная структура потоков в этом диапазоне масштабов свидетельствует о динамическом самоподобии, что можно интерпретировать в

данном случае как независимость характера движения или распределения скоростей микропотоков от масштаба.

Обратимся далее к анализу времен'ных вариаций относительной дисперсии (см. рис. 1.5.1 и 1.5.2). Как следует из данных, представленных на этих рисунках, периоды вариаций дисперсии относительно единицы лежат в диапазоне от нескольких десятков до нескольких тысяч секунд. Это следует интерпретировать так, что на этих времен'ных интервалах происходит перманентная перестройка потоков жидкости, которые захватывают клетки микроорганизмов и таким образом перераспределяют их в пространстве на масштабах 0.1- 0.2 см от упорядоченного расположения для которого $\sigma^2/\bar{k}<1$, через случайное, для которого дисперсия равна единице $\sigma^2/\bar{k}=1$, к неравномерному с дисперсией $\sigma^2/\bar{k}>1$ и наоборот. В такой интерпретации эти данные согласуются с предыдущими данными о динамике водных потоков на масштабах $l\leq$0.1-0.2см, а вся совокупность данных позволяет вполне наглядно представить перманентное движение в объеме жидкости. Как было сказано выше, в оптической кювете с прямоугольно расположенными гранями формируются потоки с одним или двумя валами, оси вращения которых перпендикулярны наибольшей грани. Такой тип движения не противоречит гидродинамике. В сосудах с цилиндрической симметрией следует ожидать вращение жидкости вокруг оси цилиндра. Но доказательство этого предположения – предмет отдельного исследования.

Броуновским движением клеток на масштабах 0.2 см можно пренебречь, поскольку их собственный масштаб и амплитуда броуновского блуждания на три порядка меньше. Тот факт, что относительная дисперсия $\sigma^2/\bar{k}<1$, свидетельствует о том, что движущиеся в сплошной среде водные объемы с характерными линейными масштабами 0.2 см располагаются квазирегулярным образом.

Представленная совокупность экспериментальных данных и топологические условия регулярной связности потоков позволяет утверждать, что объем воды представляет собой систему вращающихся жгутов квазирегулярно уложенных в пространстве. Плоский срез этих жгутов выглядит

как система согласованно вращающихся дисков, диаметр которых составляет порядка 0.2 см.

В заключение данной главы отметим весьма интригующий факт, пока не получивший достаточного убедительного объяснения. Как показано на рис. 1.6.2 константа Херста достигает постоянного значения H=0.309±0.004 в диапазоне концентраций жизнеспособных клеток 3×10^2–1.1×10^3 см$^{-3}$. Поскольку константа Херста и времен'ная фрактальная размерность D_T, связаны соотношением D_T=2-H (Федер 1991), то D_T=1.691±0.004. В работе (Gusev 2001) показано, что в ряде экспериментов пространственная и времен'ная фрактальные размерности, измеренные независимо являются дробными величинами, но их сумма с большой точностью равна целому числу:

$$D_R+D_T=4.09\pm0.07. \qquad (3.2.5)$$

В рамках предположения о том, что пространственное расположение клеток микроорганизмов определятся структурой потоков жидкости, данное соотношение можно интерпретировать так: каждый элементарный объем, занимаемой клеткой, участвует во всех движениях жидкости как сплошной среды, динамика которой описывается в пространственно-временном континууме. Суммарная размерность этого континуума, состоящего из трех пространственных и одного временного измерений составляет 3+1=4. До тех пор, пока среда является сплошной, то какова бы ни были динамика и структура потоков ее топология, связность и метрика должны оставаться неизменными. Соотношение (3.2.5) является констатацией этого факта.

При концентрациях клеток $\leq10^2$см$^{-3}$, что соответствует характерным линейным масштабам внутри жидкости ≥0.2см, все мелкомасштабные движения клеток усреднены. Клетки движутся друг относительно друга вместе со своими элементарными объемами регулярным образом. Об этом же свидетельствует экспериментальное значение пространственной фрактальной размерности, которое в пределах ошибки равна 3, а временная фрактальная размерность стремится к 1.

Во введении к этой главе было отмечено, что данные биологических и физических экспериментов оказались взаимодополняемы. Действительно, биологические данные о фрактальной геометрии популяций микроорганизмов в

водной среде были получены нами в конце 80-х годов и в течение более, чем десяти лет не имели адекватной интерпретации. Данные же физических экспериментов о динамической неустойчивости воды получены нами в конце 90-х годов. При попытке их интерпретации мы также столкнулись с проблемой необходимости введения «неизвестного энергетического фактора». Сопоставляя эти серии экспериментов, мы убедились, что в обоих случаях этим энергетическим фактором является внешнее электромагнитное поле, возбуждающее лэнгмюровские колебания водных протонов.

Глава 4 Гипотезы

Данная глава посвящена самому интригующему феномену, когда-либо наблюдавшемуся на Земле - жизни. Из названия главы следует, что мы уходим с твердой эмпирической почвы фактов, и будем проводить поиск на основе предположений. В тоже время эти предположения основаны на экспериментальном и теоретическом материале предыдущих глав и имеют отнюдь не умозрительный характер. Как будет ясно из дальнейшего изложения, предлагаемая автором гипотеза о химической и предбиологической эволюции, верифицируема в реальных лабораторных экспериментах.

4.1 Историческая справка

Существует четыре основных гипотезы происхождения жизни на Земле:

1. *Библейская версия*
2. *Самозарождение*
3. *Панспермия или привнесение зародышей жизни из космоса*
4. *«Теория» химической эволюции или естественного происхождения.*

Этот список приведен в соответствии с их историческим возрастом. Первая гипотеза, как выразился Лаплас, наукой никогда не была востребована. Авторство второй приписывается Анаксимандру из Милета (600-е годы до н.э.) (Мухин 1984). Сущность идеи состоит в том, что живой объкт, независимо от степени сложности способен самопроизвольно зародиться из неживой материи. Классический пример, который обычно приводится в литературе, - «зарождение мышей в грязных тряпках». Для опровержения столь нелепой сейчас для нас мысли потребовалось более 2000 лет. Окончательно она была похоронена под давлением экспериментов сначала Франческо Реди (1626-1697)[1] , а затем Луи Пастера (1822-1895), поставленных по правилам научного метода исследования природных явлений: эксперимент – контроль (Мухин 1984; Хойл, Викрамасингх 1984; Фокс, Дозе 1975). Так был установлен принцип Реди *omne vivum e vivo – все живое из живого*.

Автором гипотезы панспермии считается Анаксагор (500-е годы до н. э.)

[1] Отметим попутно, что Исаак Ньютон оставался приверженцем этой идеи, а это уже 18 век.

(Хойл, Викрамасингх 1984). Однако современное научное обоснование эта гипотеза получила в трудах Аррениуса (Arrhenius 1907). Наконец, четвертая гипотеза была изложена в трудах Опарина (Опарин 1924) и двумя годами позже независимо Холдейном (Bernal 1967, с. 285). Две последние гипотезы имеют научную основу, так как хотя бы в принципе верифицируемы. Уже более 80-ти лет эти две версии, конкурируя друг с другом, сосуществуют в умах естествоиспытателей. Некоторое доминирование гипотезы естественного происхождения наблюдалось в 20-е годы, после публикации работы Опарина (Опарин 1924; Bernal 1967), в которой давалась, хоть и слабая, надежда на эмпирическую проверку – впервые удалось наблюдать в искусственной «рукотворной» системе нечто похожее на бинарное деление клеток микроорганизмов. Дальше этих наблюдений эксперименты по созданию живого из неживого не продвинулись.

Следующая эпоха краткосрочного оптимизма началась в начале 50-ых годов прошлого столетия с экспериментов Стэнли Миллера (Miller 1953). Ему удалось доказать уже на молекулярном уровне, что синтез аминокислот – важнейших элементарных компонент белков возможен в условиях, моделирующих естественные, которые могли быть реализованы на примитивной Земле, характеризовавшейся восстановительной атмосферой. В экспериментальных условиях было показано, что в атмосфере, состоящей из водорода, метана и аммиака в электрическом разряде синтезируются четыре простейшие аминокислоты – глицин, аланин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

В дальнейшем, видоизменяя газовый состав и используя в качестве источника энергии ультрафиолет, в лабораториях Хуано Оро и Лесли Оргела были синтезированы и четыре нуклеотида, составляющих РНК: аденин, гуанин, цитозин и урацил. Образование полимеров из указанных предшественников в естественных условиях могло происходить на глиноземах. Эта идея была высказана Дж. Берналом в 50-60 годах XX-го столетия, что позднее подтверждалось в лабораторных опытах.

Однако, до сих пор не удается сформулировать экспериментальные подходы, которые позволили бы решить проблему происхождения генетического кода, то есть смоделировать процесс, при котором возможно было бы однозначное преобразование множества из последовательности

четырех нуклеотидов на множество 20-ти аминокислот.

Теоретическая модель гиперцикла Эйгена (Эйген 1982), которая вдохнула на некоторое время жизнь в гипотезу о естественном происхождении жизни, по сути, является лишь абстрактной моделью – она хорошо работает в системе математических символов, под которыми можно понимать рождение и эволюцию как биологических видов, так и информационных макромолекул. Однако, до последнего времени не представлены экспериментальные схемы, реализующие этот процесс на молекулярном уровне. Таким образом, *volens nolens*, но мы опять обращаемся к гипотезе панспермии (Хойл 1984).

Современный вид формулировки идеи панспермии разработан в 1908 году Сванте Аррениусом. Основываясь на том факте, что споры микроорганизмов, в отличие от их вегетативных форм, могут выдерживать экстремальные воздействия среды, Аррениус допускал возможность их транспорта по Вселенной с космической пылью. Движущей силой могло выступать световое излучение звезд. На современном этапе эта идея уже не выглядит столь привлекательной: во-первых, согласно этой идее на всех космических телах Солнечной системы за почти 5 млрд лет их существования должно накопиться такое количество спор, что не обнаружить их в пробах грунта просто невозможно. Последние, однако, ни в каком виде не были обнаружены в лунном грунте, хотя образцы его, доставленные как Советскими, так и Американскими аппаратами из совершенно разных мест. Во-вторых, данные о жестком излучении в межзвездном пространстве ставят под сомнение возможность переноса семян жизни в нативной форме на далекие расстояния.

В определенном смысле жестом отчаяния ученых можно назвать гипотезу панспермии, модифицированную Оргелом и Криком до состояния *направленной панспермии* (Horowitz 1986). Суть этой гипотезы такова, что около 4 млрд лет назад некая технически развитая цивилизация целенаправленно «инфицировала» Землю с космических аппаратов.

4.2 Есть ли еще жизнь в Солнечной системе?

Новейшая история проблемы происхождения жизни на Земле началась с 1976 года, когда первые дистанционные микробиологические лаборатории «Викинги» совершили мягкую посадку на Марс (Horowitz 1986). Целью этого проекта было экспериментально доказать или опровергнуть возможность существования внеземных живых систем пусть даже в форме микроорганизмов. Искали, естественно, аналоги, то есть углеродную основу жизни.

Суть экспериментов сводилась к тому, чтобы обнаружить в пробах марсианского грунта, помещенных в ростовые условия (водные растворы органических субстратов) процессы, аналогичные метаболическим процессам, протекающим в земных микроорганизмах. Конечным продуктом утилизации органики микроорганизмами, как известно, является углекислота. Наличие ее в газовой атмосфере после инкубирования проб грунта могло бы быть серьезным аргументом на присутствие микрофлоры. Не вдаваясь в детали всей серии экспериментов по программе «Викинг», можно констатировать, что однозначного ответа на вопрос «Есть ли жизнь на Марсе?» в настоящее время не существует.

Масла в огонь дискуссии подлила находка 1984 года - во льдах Антарктики был найден каменный метеорит весом около двух килограммов, которому дали имя ALH 84001 (ALH84001 URL, 2000; NAIR URL, 2001). Сопоставляя состав газовых микропузырьков метеорита с составами атмосфер Марса, Земли и Венеры, исследователи пришли к выводу, что наиболее вероятной родиной этого камня является Марс. Возможно, что марсианский посланец не одинок, так как найдено еще 11 метеоритов с похожими физико-химическими характеристиками.

О том, как оторвался этот обломок от Марса и достиг Земли, уже построены правдоподобные гипотезы. Наиболее точно установлены даты старта ALH 84001 с Марса - около 16 млн лет назад - и прибытия на Землю – около 13 тыс лет назад.

Вопрос о доказательности состава органического вещества метеоритов по отношению к источнику его, то есть можно ли по изотопному составу органики, наличию или отсутствию хиральности мономеров, судить о том

является она продуктом жизнедеятельности или нет – всегда открыт. Не существует абсолютной уверенности, что как само наличие органики, так и ее особенностей являются результатом вторичных процессов, происшедших уже после падения небесного посланника.

Однако, продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут быть не только органической природы. В 70-х были открыты так называемые магнитотактические микроорганизмы, способные активно перемещаться вдоль магнитных силовых линий. Магнитным компасом и движителем являются ферромагнитные гранулы магнетита Fe_3O_4. Последние синтезирутся микробами в виде цепочек, размер звеньев которых достигает 500-1000 $\overset{o}{A}$ (Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms 1985; Вайнштейн, Сузина и др. 1998). Функциональная значимость их не до конца ясна, но одним из простых объяснений можно считать, что с помощью магнитного поля микробы могут осуществлять поиск энергетических источников, например, вблизи подводных вулканов залежей сульфидов железа.

Интригующими результатами было открытие 2001 года, когда в структуре метеорита ALH 84001 были найдены именно такие гранулы окисла железа. Интрига состоит в том, что кристаллическая структура этих гранул практически идеальна, что может быть результатом их ферментативного синтеза. И второе, гранулы магнетита образуют цепочки «точь- в- точь» такие, какие наблюдаются у магнитотактильных микроорганизмов. Если учесть, что марсианский грунт обогащен железом, то версия о наличии жизни на Марсе в виде железо- и серу-окисляющих микроорганизмов становится весьма правдоподобной. Новая серия многоцелевых исследований Марса автономной лабораторией намечена NASA на 2003-2004 годы.

Исследования внешних планет, проведенные американскими астрофизиками, дают большой шанс для существования жидкой воды не только под поверхностью Марса, но и на спутниках планет – гигантов: Европе, Ганимеде, Каллисто и Титане (Chyba 1998; URL Astrobiology News 2000).

Это, в свою очередь, подогревает интерес астробиологов к возможности обнаружить микробную жизнь и там. Действительно, если каменные обломки с Марса могли долететь до Земли, то вероятность их попадания в окрестности

Юпитера намного больше, в силу его огромного тяготения. Основываясь на предыдущем анализе, можно ожидать, что и на спутник Юпитера - Европу могли быть занесены микроорганизмы.

Вопрос упирается лишь в наличие адекватных источников энергии для амплификации микроорганизмов, так как основных структурных компонентов - углерода, азота, водорода и кислорода - в семействах планет гигантов вполне достаточно. Слой льда на Европе, под которым с большой вероятностью присутствует жидкая вода, достигает нескольких десятков километров. Очевидно, что солнечный свет не может быть источником энергии для водных микроорганизмов. В работе (Chyba 2000) предлагается рассматривать в качестве источника энергии частицы, ускоренные в магнитном поле Юпитера. Такие ионы способны вести синтез органики на ледяной поверхности Европы. Далее эта органика может использоваться в качестве энергетического субстрата водными микроорганизмами.

Из исторического анализа идей, связанных с поиском источника жизни на Земле и возможной экспансии микрофлоры в Космосе следует, что периодическое доминирование двух гипотез – панспермии и естественной химической эволюции – является результатом технологического прорыва либо в биохимии, либо в астрофизике.

На современном этапе развития наук мы не способны экспериментально воспроизвести сколь-нибудь реальную картину рождения живого из неживого. Как заметил американский физик Филипп Моррисон: «В случае обнаружения жизни на других планетах она превратится из чуда в статистику». То есть в нечто экспериментально воспроизводимое, на чем и зиждется современная наука.

В 2004 году, как уже было сказано, американские исследователи предприняли новый штурм Марса, в этом же году также прибыла на спутник Сатурна Титан автономная лаборатория «Кассини». Возможно, что эти новые исследования ближнего космоса дадут однозначный ответ, что в Солнечной системе обитаема не только Земля.[2] Это позволит сформулировать земные

[2]Хотя доказать это весьма сложно, поскольку проблема упирается в определение понятия живого. Отсутствие единого понимания живого прекрасно продемонстрировала конференция, проходившая в сентябре 2000 года в Модене (Италия) (Fundamental of Life, 2001). Проблема еще

эксперименты, результатом которых станет доказательство естественного происхождения жизни, либо отбросят нас еще дальше от понимания сути того, что есть жизнь. В случае обнаружения внеземной жизни, первичный источник удаляется от нас на катастрофически большое расстояние – к Звездам.

4.3 Что такое жизнь?

"*Life is very particular phenomenon, sharply diverges from all other phenomenon in the physically observable domain of experience*" – «Жизнь очень своеобразный феномен, трудно отделяемый от всего наблюдаемого» (Palyi et al. 2000), поэтому прежде чем приступать к анализу, попытаемся сформулировать предмет исследования, то есть ввести строгие формулировки для определения понятия живого. На первый взгляд такая постановка вопроса кажется абсурдной в силу «очевидности» отличия живого от неживого. Однако, при более детальном анализе, эта очевидность трансформируется в практически неразрешимую задачу строгой формализации этих понятий. Определений понятия живого может и должно быть столько, сколько существует в настоящее время автономных областей естественнонаучных и гуманитарных знаний, а также теологических и мифических представлений о мироздании, поскольку все они формируются живой системой под названием человечество.

Однако, ни одно определение из этого множества не может отразить «истинную» суть живого, ибо согласно теореме Геделя о неполноте (Мат. энцикл. 1972, т. 1, с. 910) никакая система не способна осознать себя в рамках своих понятий. В строгой энциклопедической формулировке это представлено как: *"теорема Геделя о неполноте показывает невозможность полной формализации человеческого мышления»* (Фил. энцикл. 1960, т. 1, с. 338). Следовательно, ни мое определение, ни определения других авторов понятий живого не отражают истинной сути жизни, которая нам недоступна. Все эти определения неизбежно субъективны и основаны на пристрастиях авторов. Прежде чем вводить определение живого, я позволю себе следующий комментарий.

более осложняется тем фактом, что и на Земле существуют так называемые некультивируемые формы микроорганизмов, про которые «заведомо» известно, что они живые, но доказать это бывает весьма сложно.

Проблема происхождения жизни и определения этого понятия возникает тогда и только тогда, когда вводится ограничение на возраст Вселенной. В противном случае, то есть при неограниченности существования Вселенной во времени, любое самое сложное образование, в том числе и человек, в образе мужчины и в образе женщины, может возникнуть единомоментно при случайной удачной для данных объектов комбинации атомов. «*Если исходить из обычно делающегося предположения, что сознание и мир ощущений могут существовать лишь при наличии мира материи, то согласно стандартной теории горячей Вселенной, жизнь, как и вся Вселенная, должна была возникнуть «ниоткуда» несколько миллиардов лет назад*» (Линде 1990, с. 258).

Это не противоречит второму закону термодинамики, так как времени хватит на любые флуктуации, вероятность которых по нашим представлениям выходит «за рамки разумного». Вводя в естествознание понятие *происхождение Вселенной*, мы неизбежно должны ввести и понятие *ее смерти*. Идея о том, что когда-то не было и Вселенной детерминирована ограниченностью времени жизни живого объекта, ее познающего – его когда-то тоже не было.

Понятие живого невозможно определить вне среды его обитания – одно без другого просто не существует. Вселенная без живых систем ненаблюдаема, в ней нет структурных образований, способных ее воспринимать, некому задавать вопросы и искать на них ответы – она ненаблюдаема. Таким образом, состояние материи, при котором возможно существование самовоспроизводящихся систем является непременным атрибутом наблюдаемой Вселенной.

В этой связи физики вынуждены были даже ввести в обиход несвойственное для них понятие *антропного принципа*, одна из формулировок которого звучит так: *фундаментальные законы физики и мировые константы должны быть именно такими, какими они наблюдаются* (Зельманов 1969; Carr & Rees 1979; Розенталь 1984). **Только при этих условиях возможно появление живого во Вселенной.**

Уже в масштабах ядерной структуры материи детерминирован выбор из множества атомов именно углерода, кислорода, водорода, азота, фосфора и серы и их химических комбинаций в виде четырех нуклеотидов и двадцати аминокислот, на базе которых осуществляются информационные потоки во всех живых организмах. Исходя из антропного принципа, становятся понятными

арифметические закономерности, найденные в работах (Shcherbak 1989, 1994) (см. ниже).

Реализовать процесс самовоспроизведения без нарушения фундаментальных физических законов сохранения живой объект может только в конкретной, адекватной ему среде. Для автотрофного организма таковой является среда, элементы которой представлены структурными и энергетическими источниками. Для вируса средой является хозяйская клетка. И в этом смысле вирус также является живым.

Определение понятия живого:

- **живой объект это ограниченное в пространстве и времени информационно достаточное для самовоспроизведения в адекватной среде структурное образование, неизбежно возникающее на определенном этапе эволюции Вселенной,**
- **живая система это совокупность функционально взаимосвязанных живых объектов различной сложности, способных целенаправленно изменять внешнюю среду,**
- **жизнь это энергетически зависимый процесс циклического преобразования элементарных единиц вещества, результатом которого является перманентное возрастание структурной и функциональной сложности живых систем и среды их обитания** (Gusev 2001)**.**

Попытаемся на основании введенных определений живого объекта, живой системы и феномена жизни проанализировать глубинную связь живого и неживого во Вселенной. Остановимся на двух нерешенных до сих пор проблемах:

- *проблеме единственности генетического кода*,
- *проблеме единственности хиральности нуклеотидов и аминокислот.*

4.4. Генетический код

У проблемы генетического кода
есть несколько сторон, из которых
самая интригующая – это почему
он такой, какой он есть.
Maddox J.

В представленной формулировке определения понятия живого объекта подразумевается, что информационная основа его самовоспроизведения, то есть генетический код, являются составной частью структуры наблюдаемой Вселенной. Другими словами, строение ядер H, C, O, N, P, S детерминирует электронную структуру атомов, которые в свою очередь детерминируют структуру молекул, формирующих именно тот набор нуклеотидов и аминокислот, участвующих в преобразовании генетической информации живых систем. При первом прочтении эта фраза воспринимается как тривиальная тавтология, лишенная какого-либо конструктивного смысла. Попытаемся развеять это восприятие.

"The origin of the code is perhaps the most perplexing problem in evolutionary biology. The existing translation machinery is at the same time so complex, so universal, and so essential that is the hard to see how it could have come into existence, or how life could have existed without it" (Smith & Szathmary 1995). В конце 60-х годов прошлого века структура генетического кода была полностью расшифрована. Таблица соответствия триплетов и аминокислот приобрела канонический вид в стандартной форме «4×4×4» (рис. 4.4.1.). Дальнейшие усилия исследователей были направлены на объяснение этих соответствий. Сформировалось три наиболее известных направления, на базе которых предпринимались попытки вникнуть в сущность соответствия кодонов и аминокислот:

1. стереохимическая гипотеза,

2. frozen-accident гипотеза или гипотеза случайного замораживания,

3. эволюционная гипотеза

(Woese 1965; Crick 1968; Wong 1975; Balasubramanian et al. 1980; Shimizu 1982; Alberti, 1997, 1999; Amirnovin 1997; Di Guilio 1997; Di Guilio & Mendugo 1998; Freeland & Laurence 1998).

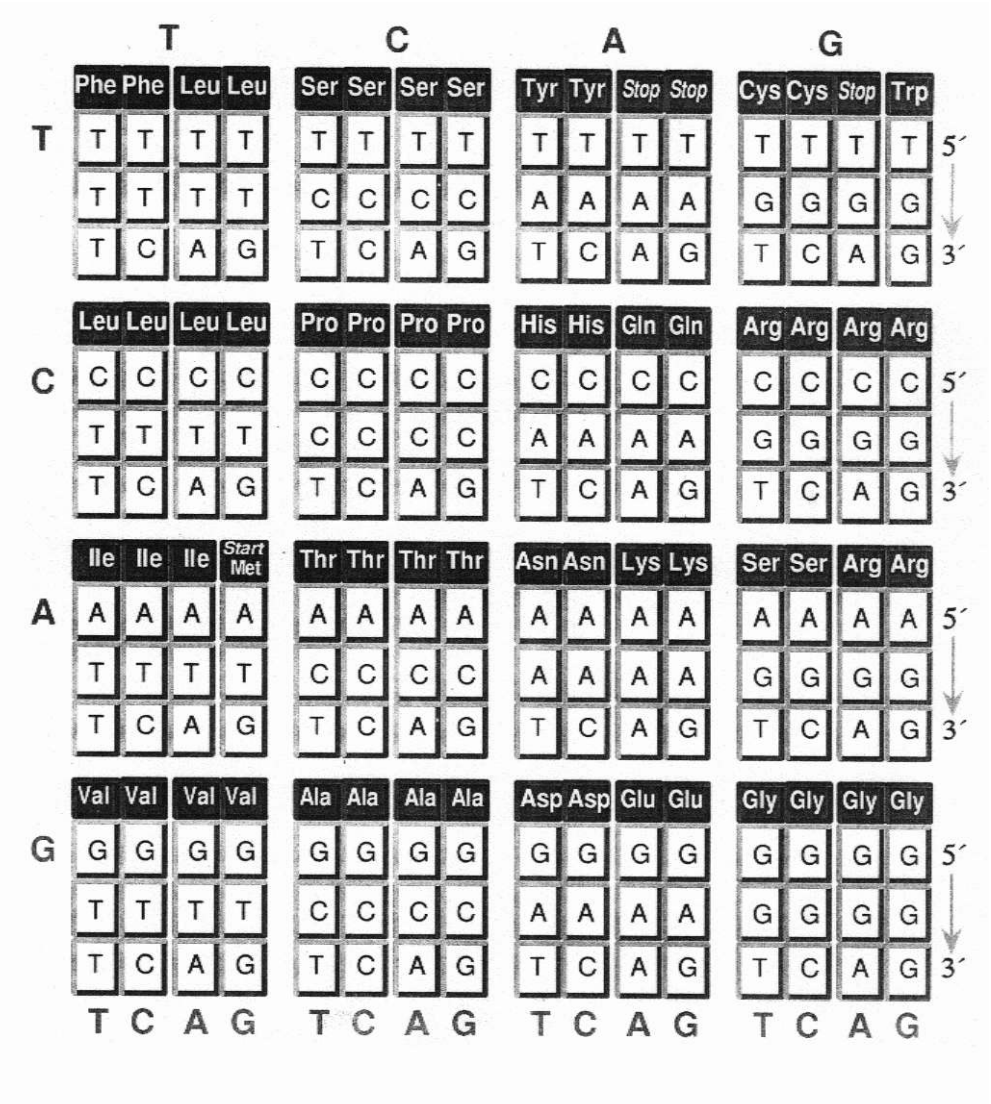


Рис. 4.4.1. Стандартная таблица генетического кода

Строились теории, рассматривающие формирование генетического кода на основании взаимоотношения между кодонами и аминокислотами, биосинтетических взаимоотношений среди различных аминокислот и как эти метаболические пути могли быть селектированы в процессе эволюции и, наконец, как просто замороженное случайное соответствие аминокислот и кодонов.

A priori во всех гипотезах принималась триплетная структура кодонов. Основанием для этого служило «почти очевидное» предположение Георгия Гамова (Gamov 1954), которое он высказал после опубликования знаменитой статьи Уотсона и Крика (Watson & Crick 1953) о структуре ДНК: для однобуквенного кода число комбинаций из 4 по 1 равно четырем, для дуплетного кода это же число равно 16, что явно не хватает для кодирования 20-ти аминокислот, следовательно, код должен быть триплетным. Для квадруплетного кода возникает чрезмерная избыточность, а с точки зрения физика (Г. Гамов был профессиональным физиком) такая расточительность Природы выглядела бы неестественно.

Общую фразу Мэддока, приведенную в качестве эпиграфа, можно конкретизовать в виде «простых и очевидных» вопросов, на которые современная наука о живом не имеет сколь-нибудь последовательных самосогласованных ответов:

1. Почему генетический код универсален?

2. Случайно или закономерно появление диалектов: митохондриальной версии, UGA кодон (стоп-кодон в универсальной версии) в которой кодирует триптофан, AUA кодон (кодон изолейцина в универсальной версии) в которой кодирует метионин; *Candida cylindrica* (fungy), CUG (кодон лейцина в универсальной версии) кодон в которой кодирует серин.

3. Почему генетический код представлен четырьмя символами A, T(U), G, C?

4. Почему генетический код имеет триплетную структуру?

5. Почему он не перекрывающийся, то есть, почему трансляционный аппарат

клетки, считывающий информацию, имеет дискрету равную трем, а не единице?

6. Почему степень вырожденности кода для разных аминокислот варьирует от единицы до шести?

7. Случайно или детерминировано существующее распределение степени вырождения кодонов по конкретным аминокислотам?

8. Почему для конструирования белков отобраны только 20 канонических аминокислот?

9. Случаен или детерминирован выбор именно этих аминокислот?

В данной работе предпринята попытка на основе анализа современной литературы, хотя бы частично ответить на эти и другие вопросы, связанные с происхождением жизни на Земле и ее непременного атрибута генетического кода.

В работах (Арзамасцев 1997; Aldana, Cazarez-Bush et al. 1998; Aldana-Gonzales, Cocho et al. 2003) авторы пытаются перевести постулат Г. Гамова в разряд интерпретируемых категорий, то есть найти физические причины, на основании которых можно было бы понять, почему триплетный код, состоящий из четырех символов, является оптимальным. Основная идея автора (Арзамасцев 1997) заключается «*в нахождении компромисса между малым количеством букв в алфавите (n), что упрощает декодирующую машину, но приводит к большим по длине информационным последовательностям, и большим n, что сокращает длину последовательности, но усложняет информационную машину*». Полагая, что протогеномы были представлены относительно короткими последовательностями из трех-четырех тысяч букв, автор показал, что указанный оптимум достигается для четырехбуквенного кода.

По сути, автор работает в рамках frozen-accident гипотезы, так как в его модели оптимизации информационной емкости последовательности символов и способа декодировки, длина алфавита возрастает от 4 символов для малых

вирусов, до почти пятидесяти тысячи для генома человека. По выражению автора «*ситуация, имевшая место при проектировании кода ДНК Природой, удивительно напоминает аналогичную, возникшую при проектировании компьютера человеком. Если бы первый компьютер создавали сейчас, то наверное, воспользовались бы отнюдь не двоичной системой счисления. Ее выбрали лишь на первом этапе, чтоб как можно сильнее упростить конструкцию декодирующей машины. А теперь эту ошибку уже поздно исправлять*». Такая точка зрения имеет под собой основания, но страдает серьезным недостатком – первичными геномами, образовавшимися на Земле должны быть вирусы, согласно автору. Но вирус, как известно, не обладает самодостаточным набором генов для автономного самовоспроизведения вне клетки хозяина. Впрочем, этот недостаток всех эволюционных гипотез происхождения жизни, основанных на принципе «от простого к сложному».

Для объяснения триплетной структуры четырехбуквенного кода авторы (Aldana, Cazarez-Bush & al., 1998; Aldana-Gonzales, Cocho & al., 2003) выдвинули идею динамического или силового соответствия электрофизических свойств матричного полимера и декодирующего молекулярного устройства. Суть модели состоит в следующем: анализируются электростатические взаимодействия олигомера, состоящего из M мономеров (M может принимать от 1 до 10-20), с длинной полимерной молекулой (M>>1), состоящей из такого же типа мономеров. Потенциал взаимодействия V между i мономером олигомера и j мономером матрицы определяется согласно выражению:

$$V_{ij}(x) = p_i q_j \int_{x+i-1}^{x+i} \int_{j-1}^{j} \frac{dx' dx''}{\left[\left(x' - x'' \right)^2 + \sigma^2 \right]^{\alpha/2}} \qquad (4.4.1)$$

здесь p_i и p_j величины электрических зарядов мономеров, x линейная координата вдоль матрицы, σ расстояние между олигомером и полимерной матрицей. Параметр α характеризует вид электростатического взаимодействия между этими цепями: α=1 соответствует ион - ионному, α=2 соответствует ион - дипольному взаимодействиям и т.д. Полный потенциал взаимодействия

матрицы и олигомера определяется суммой взаимодействия каждого мономера олигомера со всеми мономерами матрицы. Основой численного моделирования является построение функции распределения минимумов потенциальной энергии вдоль полимерной матрицы при перемещении по ней олигомеров различной длины. В качестве матрицы использовали последовательность мономеров, в принципе, произвольной природы. Несмотря на простоту и наглядность модели, авторы получили весьма интригующие результаты. Для матрицы, состоящей из четырех различных мономеров, случайным образом распределенных вдоль полимера, вероятность распределения ближайших минимумов потенциальной энергии достигает максимума, если они отстоят друг от друга на три мономера. На основании решения уравнения Ньютона при движении олигомера по матрице, авторы показали, что время его пребывания в минимуме потенциала возрастает в 2-3 раза по сравнению с промежуточным состоянием. По мнению авторов, это могло послужить предпосылкой для формирования триплетной структуры генетического кода.

Анализ функции вероятности распределения минимумов потенциальной энергии на реальном геноме *Drosophila melanogaster* выявил различие экзонных и интронных участков ДНК – в кодирующих участках максимум функции строго соответствует триплетному чередованию, тогда как в некодирующей части ДНК это расстояние менее выражено. В кодирующих участках геномов *Drosophila melanogaster, Chlorella vulg., Deinococcus rad., Myc. tuberculosis, Aeropyrum pernix* экстремум функции распределения минимумов потенциальной энергии в четыре раза превышает таковой для случайно последовательности нуклеотидов.

Данные, приведенные в работах (Aldana, Cazarez-Bush & al. 1998; Aldana-Gonzales, Cocho & al. 2003) следует интепретировать так, что триплетная структура генетического кода детерминирована физикой взаимодействия мономеров уже на ранних этапах формирования гетерополимерных матриц. Другими словами, селекция структуры кодонов проходила на Земле в период химической, но не биологической эволюции. Кроме того, различие функций распределения вероятности расстояния ближайших минимумов энергии для случайных последовательностей, смысловых и некодирующих фрагментов генома, служит основанием для предположения о детерминированном

характере распределения мономеров в полимерной матрице. Действительно, произвольная последовательность из четырех мономеров, которые, согласно авторам, сформированы в триплеты и, в принципе, может быть прочитана гипотетическим ферментативным аппаратом типа рибосомы. В результате этого получится полипептидная цепочка, не имеющая функционального значения. И только в том случае, если произойдет формирование пространственной структуры белкового кора и активного центра, полипептид может стать функциональным ферментом. Это может произойти в том случае, если аминокислоты в полипептиде будут распределены в определенной последовательности. Но, поскольку, функция распределения триплетного чередования минимумов потенциальной энергии достигает экстремума именно в смысловой последовательности мономеров, можно полагать, что структура функционально значимых белков (а значит и функционально значимая последовательность мономеров!), хотя бы частично, но детерминирована физикой взаимодействия мономеров.

Идея первичности понятия пространственной структуры полипептида для формирования семантической структуры генетического кода сформулирована в работах японских исследователей (Ikehara 1998; Ikehara, Amada et al. 1996; Ikehara, Omori et al. 2002; Ikehara 2002). В качестве основных параметров, определяющих пространственную структуру белка, авторы анализируют белки по шести показателям: *гидрофильность/гидрофобность, наличие α-спиралей, β-складок, β-поворотов, а также содержание кислых и основных аминокислот*. По мнению авторов, именно эти показатели определяют возможность фолдинга полипептидной цепи и приобретения ею нативных свойств.

Сопоставляя эти показатели нативных белков *bacteria* и *archea* с содержанием GC пар в кодирующих их генах (всего проанализировано семь различных геномов), авторы приходят к выводу, что все указанные показатели практически остаются константами, при изменении содержания GC пар в диапазоне 20-75%. Одновременный анализ вероятности появления стоп-кодона на некодирующей цепи показал, что при содержании GC >60% вероятность встречи стоп-кодона в ДНК, соответствующей цепочке из 300 оснований становится пренебрежимо малой. На основании этих данных авторы

высказывают несколько гипотез: 1. *за формирование новых генов в современных микроорганизмах может отвечать некодирующая цепь ДНК*; 2. *первичные гены на ранних этапах предбиологической эволюции могли формироваться на GC богатых полимерных матрицах, имеющих относительно монотонную структуру типа SNS, где S соответствует либо G, либо C, а позиция N может быть занята любым из четырех оснований*. Такая структура кодонов предложена авторами после сопоставления позиционного положения оснований в триплетах GC богатых бактериальных и архейных геномах – в первой и третьей позициях содержание GC пар в 5-10 раз превышает содержание AT пар. Во второй позиции все основания встречаются с одинаковой частотой.

SNS структура предшественника универсального генкода представлена 16-ю кодонами, которые кодируют 10 аминокислот: Leu, Pro, Val, Ala, His, Gln, Asp, Glu, Arg, Gly. Такой набор аминокислот, по мнению авторов, обладает всеми необходимыми свойствами для формирования третичной структуры водорастворимых полипептидов. Дальнейшая эволюция предшественника SNS к универсальному генкоду NNN могла происходить в процессе снижения содержания GC пар (или по выражению авторов в процессе «*AT-mutation pressure*») при многократном воспроизводстве первичных нуклеотидных последовательностей.

Несомненно, идеи, изложенные в работах (Ikehara 1998; Ikehara, Amada et al. 1996; Ikehara, Omori et al. 2002; Ikehara 2002), весьма оригинальны и выглядят достаточно конструктивно. Недостатком работ является то, что *a priory* предполагается триплетная структура генетического кода, однако, если сопоставить результаты этих работ с выводами авторов (Aldana, Cazarez-Bush et al. 1998; Aldana-Gonzales, Cocho et al. 2003) о возможной детерминированности триплетной структуры кода физикой взаимодействия примитивного транслирующего молекулярного аппарата с полимерной матрицей, то эта априорность уже не выглядит как постулат. В этом смысле, рассмотренные работы двух групп авторов дополняют друг друга.

SNS-NNN гипотеза (Ikehara 1998; Ikehara, Amada et al. 1996; Ikehara, Omori et al. 2002; Ikehara 2002) построена по общепринятому эволюционному принципу *от простого к сложному или от частного к общему*. Это воспринимается как «очевидный» постулат, так как после появления на Земле простейших форм жизни, дальнейшая прогрессивная эволюция биоты следовала

именно этому принципу. Однако ниоткуда не следует, что сам процесс зарождения первичных органелл, в частности носителей генетической информации, следовал этому же сценарию.

В серии работ (Ardell 1998; Ardell, Sella 2001; Sella, Ardell 2002; Ardell, Sella 2002) рассматривают вырожденность современного генетического кода как результат коэволюции генетической информации, содержащейся в первичных нуклеиновых последовательностях, и увеличения ее емкости за счет снижения вырожденности кодонов. *A priori* предполагается, что первичные внутриклеточные органеллы, отвечающие за трансляцию генетической информации уже существуют[3]. Авторы этих работ следуют гипотезе Крика, о том, что первичный код был более вырожден, нежели его современная версия (Crick 1968). В процессе биологической эволюции происходило увеличение структурного и функционального разнообразия белков за счет включения в их состав все большего количества аминокислот. Это, в свою очередь, приводило к уменьшению вырожденности генетического кода вплоть до его современной версии, а далее по Крику (Crick 1968) произошло «*замораживание случайного кодон - аминокислотного соответствия*». Это всего лишь философское утверждение, основанное на интуиции. В противовес этому утверждению, авторы (Ardell 1998; Ardell, Sella 2001; Sella, Ardell 2002; Ardell, Sella 2002) приводят данные аналитических расчетов, из которых следует, что современная версия с ее степенью вырожденности является результатом эволюции первичного кода по пути демпфирования и оптимизации ошибок, возникающих как в процессе транскрипции, так и трансляции генома.

По сути, математическая модель оптимизации генетического кода (Ardell 1998; Ardell, Sella 2001; Sella, Ardell 2002; Ardell, Sella 2002) относится к классу информационных моделей, так как авторы решают задачу минимизации шумового воздействия при многократной передаче однотипной информации. В качестве информационного источника выступает нуклеотидная последовательность произвольной длины (по определению авторов – *message*). Каждый кодон с заданной вырожденностью соответствует определенной аминокислоте. Далее происходит многократное воспроизведение этой

[3] Следует отметить, что в такой постановке задачи невозможно ответить на вопрос: каким образом возник трансляционный аппарат? Та же проблема курицы и яйца.

последовательности на фоне мутаций в виде транзиций нуклеотидов. Варьируется степень вырожденности кода при условии минимизации изменения *message*, то есть последовательности аминокислот в составе белка. В качестве количественного критерия оптимизации авторы используют физико-химическое подобие аминокислот, выражаемое степенью полярности боковых групп. Допустимыми считаются замены аминокислот с близкими физико-химическими свойствами. Одним из основных выводов, к которому приходят авторы, является то, что триплет – аминокислотное соответствие, присутствующее в стандартном генетическом коде вероятней всего обусловлен не столько стереохимическим соответствием последних, но оптимизацией защиты генетической информации от мутационного шума при ее многократном воспроизведении.

Данная серия работ (Ardell 1998; Ardell, Sella 2001; Sella, Ardell 2002; Ardell, Sella 2002) выглядит убедительно с точки зрения одного из возможных путей эволюции в принципе произвольного первичного генетического кода до его оптимального состояния, но ничего не говорит о том каким он должен быть изначально, чтобы превратиться в современный вид. Однако, авторы считают, что: "*Further work could examine the extent to which the size and dimensionality of codon and amino-acid spaces, the form of fitness interactions of amino acids within and among sites, and the particulars of the code-message co-evolutionary dynamics affect the results and hence the generality of our interpretations*". "*Будущая работа позволит исследовать величину и размерность кодон – аминокислотных пространств, вид взаимодействий аминокислот внутри и вне сайтов, особенностей коэволюционной динамики кодового послания и, следовательно, общность наших результатов*" (Ardell, Sella 2001, p. 279).

Коэволюционной точки зрения на происхождение современного вида кодовой таблицы придерживаются авторы (Di Guilio & Medugno 1999; Di Guilio & Medugno 2001; Di Giulio 2001; Di Guilio 2002). Однако в их представлении коэволюция происходила не на структурном уровне как у (Ardell 1998; Ardell, Sella 2001; Sella, Ardell 2002; Ardell, Sella 2002), а на биохимическом. Авторы базируются на работах (Wong 1975, 1988; Taylor & Coates 1989), в которых анализируются пять семейств биохимического синтеза аминокислот: 1. Phe-Tyr; 2. Ala-Val-Leu; 3. Ser-Gly-Cys-Trp; 4. Glu-Gln-His-Pro-Arg; 5. Asp-Asn-Lys-Thr-Ile-Met. Каждое биохимическое семейство аминокислот ассоциировалось со

своей группой синонимических кодов. Как и в предыдущей серии работ, здесь также сопоставляются физико-химические свойства аминокислот – степень полярности боковых групп и их пространственные размеры. Варьируя кодоны путем изменения состава нуклеотидов и, следовательно, соответствующие им аминокислоты, авторы минимизируют функцию вида:

$$\Delta(p) = \sum_{\substack{i,j=1 \\ i \prec j}}^{20} a_{ij} \left(\left| P_{p(i)} - P_{p(j)} \right| / \sigma_p + \left| V_{p(i)} - V_{p(j)} \right| / \sigma_v \right) / \sum_{\substack{i,j=1 \\ i \prec j}}^{20} a_{ij} \qquad (4.4.2)$$

где p – оператор перестановок, P_i, P_j – величины полярности аминокислот (Woese et al. 1966), V_i, V_j – их молекулярные объемы (Grantham 1974), σ_p, σ_v – соответствующие стандартные отклонения, a_{ij} – число трансформаций i – й аминокислоты в j- ю после каждой замены одного из оснований кодона. Как видно из формулы (4.4.2), минимального значения функция достигает при максимальной близости физико-химических свойств аминокислот, характеризующихся полярностью и молекулярным объемом. Авторы ставят перед собой задачу – можно ли доказать, что стандартный генетический код является оптимальным: "*is it the genetic code a local minimum*? *and is it the absolute minimum obtainable under certain conditions starting from any* code *configuration?"* Если предположить, что в процессе коэволюции кода, «подгонка» кодонов и соответствующих им аминокислот осуществлялась на биохимическом уровне, то исходя из существования пяти биохимических семейств, общее число возможных кодов оценивается как 24883200 = 6!5!4!3!2!. Столь большое разнообразие потенциально возможных кодов не позволяет считать, что современный вид кода является полностью оптимальным. И в этом смысле frozen-accident гипотеза выглядит вполне убедительным предположением.

Однако, несмотря на большой статистический анализ всевозможных кодов, проведенный авторами (Di Guilio & Medugno 1999; Di Guilio & Medugno 2001; Di Giulio 2001; Di Guilio 2002), они не делают однозначного вывода о единственности генетического кода. Кроме того, как было сказано выше, авторы надеялись перевести коэволюционный постулат в разряд доказуемых категорий, то есть обосновать численно, что существующее кодовое соотношение для аминокислот и их кодонов есть результат биохимического отбора, а не структурного стереохимического соответствия. Как следует из

цитируемого ниже авторского заключения и эта проблема в настоящее время не может быть однозначно решена: "*The coevolution theory (Wong 1975) predicted that the phycocamical properties of amino acids must be linced to the organization of the genetic code, although this correlation must not exceed a certain level (Wong 1980). If this were to happen, the stereochemical (Woese 1967; Balasubramanian et al., 1980; Shimizu 1982; Yarus 1998) and physicochemical (Woese1965; Woese et al. 1966; Junck 1978; Weber and Lacey 1978; Lacey and Mullins 1983; Fitch and Upper1987; Lacey et al. 1992) theories would be better supported. As we have noted no particular behavior in the physicochemical properties of the amino acids in the genetic code table for the smallest definable set of codes, we are led to conclude that the link between amino acid properties and genetic code organization is better explained by the coevolution theory (Wong 1975) then by the physicochemical postulates (Woese 1965, 1967; Woese et al. 1966; Junck 1978; Weber and Lacey 1978; Balasubramanian et al. 1980; Shimizu 1982; Lacey and Mullins 1983; Fitch and Upper 1987; Lacey et al. 1992; Yarus 1998). In other words, it is in the very set of codes subject to biosynthetic constraints that the properties of amino acids must have shown an extremely strong link to genetic code organization because this set is the smallest finable one and it has also almost certainly had an extremely important evolutionary significance. Nevertheless, the minimization percentage and much of the analysis performed in this paper are not such as to corroborate the conclusion that the allocation of amino acids in the genetic code was fundamentally determined by their physicochemical properties, for instance, via a selective pressure aiming to minimize the deleterious effects of translation errors. We, therefore, continue to favor the postulates of the coevolution theory (Wong 1975; Di Giulio 1996)* (Di Guilio & Medugno 2001, p.381).

Эта достаточно длинная цитата приведена для демонстрации того, что основными аргументами в пользу принятия той или иной гипотезы о происхождении и эволюции генетического кода на современном этапе развития науки, являются в значительной мере личные симпатии исследователей, а не строгие научные аргументы.

Таким образом, из проведенного анализа следует, что ни одна из общепринятых гипотез - стереохимическая гипотеза, гипотеза случайного замораживания и эволюционная гипотеза - не способны последовательно ответить на достаточно очевидные и «тривиальные» вопросы, поставленные в

начале данного раздела. Каждая из гипотез позволяет решить свою локальную задачу, но в целом проблема происхождения генетического кода остается *terra incognita.*

Следует также обратить внимание на то, что все эти гипотезы явно или неявно предполагают, что молекулярный аппарат самовоспроизведения, то есть транскрипция и трансляция неких примитивных объектов, в составе которых генетический код способен эволюционировать уже существовал. Это молчаливое «заметание мусора под ковер» уже в течение 50-ти лет после открытия структуры ДНК и опубликования идеи о триплетной структуре генетического кода (Watson & Crick, 1953; Gamow, 1954) свидетельствует о том, что *в рамках только биологических категорий проблема генетического кода и тем более происхождения жизни не может быть решена в принципе*. Здесь мы опять вынуждены сослаться на теорему Геделя (Фил. энц. 1960, т. 1, с. 338).

В качестве иллюстрации рассмотрим исторический пример формирования основ квантовой механики. К концу 19-го века накопилась «критическая масса» оптических экспериментальных данных, интерпретировать которые с позиций классической физики не представлялось возможным. Для их адекватной интерпретации потребовалась абсолютно новая фундаментальная гипотеза квантов, сформулированная М. Планком в конце 1900 г. От гипотезы до полностью завершенной самосогласованной теории прошло чуть более 20-ти лет. В нашем же случае этот период длится уже полвека и конца этому не предвидится, что явно свидетельствует об отсутствии фундаментальной идеи, на базе которой можно было бы развить последовательную, верифицируемую теорию происхождения генетического кода, а с ним и самого феномена жизни.

Первая часть обзора была посвящена анализу теоретических работ, использующих метод статистической обработки массивов экспериментальных данных. Авторы вводили полуэмпирические функции и осуществляли их оптимизацию с целью поиска экстремумов по тому или иному критерию, либо анализировали соответствующими алгоритмами уже расшифрованные последовательности геномов. При таком подходе можно уловить тенденции формирования закономерностей, но не сами закономерности, так как степень достоверности последних определяется в пределах доверительных интервалов численных оценок и правдоподобности используемых гипотез, а значит, ниша

для сомнений остается непустой. Совершенно иная ситуация возникает, если в процессе поиска закономерностей использовать дискретный целочисленный анализ свойств генетического кода.

Попытаемся рассмотреть «жизнь с точки зрения физики» (Шредингер 1972). Основополагающая идея, послужившая толчком для теоретико-группового анализа структуры генетического кода, была сформулирована Румером[4] в 1966 году (Румер 1966). Он впервые обнаружил, что операция пурин-пиримидиновой инверсии C↔A, G↔U(T) (теперь это общепринятый термин «преобразование Румера») трансформирует две группы октетов из таблицы генетического кода друг в друга взаимооднозначно. Суть теоретико-группового анализа заключается в поиске симметрий и числовых закономерностей в структуре генетического кода при его матричном отображении (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000; Jimenez-Montano, de la Mora-Basanez & Poschel 1996; Jimenez-Montano 1999; Negadi 2002a; Negadi 2002b; Negadi 2003a; Negadi 2003b). Следует отметить, что поиск симметрий и характерных для них числовых отображений не определяется только эстетическим пристрастием исследователей. Как известно, наличие тех или иных симметрий в структуре или процессе, свидетельствует о наличии правил отбора или об определенных запретах (Эллиот, Добер 1983). Другими словами, наличие симметрии свидетельствует о наличии закона сохранения, но далеко не всегда физический смысл его очевиден.

В работах (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000) вводится векторное представление четырех кодонов в виде вектор-столбца: $\vec{V} = \begin{pmatrix} C \\ G \\ U \\ A \end{pmatrix}$ и соответствующей вектор-строки: $\vec{V}^T = (C\,G\,U\,A)$[5]. Внешнее произведение этих векторов дает матрицу дуплетов:

[4] Danckwerts & Neubert в 1975 году, по-видимому, независимо переоткрыли пурин-пиримидиновую симметрию генкода.

[5] При таком определении векторов явно прослеживается аналогия с Дираковским матричным представлением квантовой механики.

$$\begin{pmatrix} CC\ CG\ CU\ CA \\ GC\ GG\ GU\ GA \\ UC\ UG\ UU\ UA \\ AC\ AG\ AU\ AA \end{pmatrix}. \qquad (4.4.3)$$

Если каждое основание охарактеризовать числом (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000), то есть ввести по Румеру (Румер 1968) силу основания d в виде d_C=4, d_G=3, d_A=2, d_U=1, а силу дуплета определить в виде суммы $d_{ij}=d_i+d_j$, где $i, j \rightarrow A, U, G, C$, то матрицу (3) можно представить в цифровом виде:

$$\begin{pmatrix} 8\ 7\ 6\ 5 \\ 7\ 6\ 5\ 4 \\ 6\ 5\ 4\ 3 \\ 5\ 4\ 3\ 2 \end{pmatrix}. \qquad (4.4.4)$$

Отметим основные свойства этой матрицы: «*симметрия матрицы настолько высока, что матрица сингулярна, то есть ее детерминант равен нулю detD=0, и ранг матрицы равен двум rankD=2, ее дефект также равен двум. Это является следствием того факта, что она есть внешнее произведение векторов (4.4.3). Примечательно, что след матрицы равен trD=20 и совпадает с суммой элементов боковой диагонали. Видно также, что по боковой диагонали матрицы (4.4.4) и параллельно ей находятся "равносильные" дуплеты. Отражение матрицы относительно боковой диагонали, что соответствует пурин-пиримидиновой инверсии, не меняет основных свойств матрицы*» (Дуплий, Дуплий 2000).

Очевидно, что операция внешнее произведение матрицы (4.4.3) на один из векторов воспроизведет трехмерную матрицу, состоящую из всех 64 триплетов. Фактически, авторы вводят свою версию графического представления таблицы генетического кода в виде трехмерного куба, ребра которого состоят из четырех триплетов, а грани из 16. Мы не будем приводить здесь полный список симметрий и числовых закономерностей отдельных элементов кубической версии генетического кода, найденных авторами (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000), процитируем лишь выводы. «*Таким образом, алгебраический подход дает возможность по новому взглянуть на*

проблему генетического кода. ***Симметрии, наблюдаемые в коде, проявляют себя в процессах выбора кодонов для определения различных аминокислот****. Предложенная модель построена на основе различной способности нуклеотидов C, G, U, A однозначно детерминировать аминокислоту. Введенное понятие степени детерминации нуклеотидов позволяет представить генетические тексты как последовательность чисел от 1 до 4 (фактически в четверичной системе счисления). Анализ таких последовательностей может привести к более глубокому пониманию процессов транскрипции и, возможно, к формулировке новых принципов конструирования рекомбинантных ДНК, что в настоящее время является неотъемлемым компонентом развития методов клонирования и генной инженерии*» (Дуплий, Дуплий 2000).

Вывод авторов, выделенный нами жирным шрифтом, служит аргументом в пользу того, что генетический код не является frozen accident, наоборот, существующие соотношения между числом кодонов и соответствующими им аминокислотами, по-видимому, детерминированы. Однако, понять сущность этого явления на уровне биологических или физических категорий пока не представляется возможным.

В следующей серии работ (Negadi 2002a, 2002b, 2003a, 2003b) автор также использует для исследования структуры генетического кода теоретико-групповой подход, но анализируется не только сам код, но и химическая структура азотистых оснований. Одна из целей, которые ставит автор - логическим, а не полуэмпирическим путем найти, связь между химическим составом азотистых оснований и структурой генетического кода.

Автор использует матричную версию для каждого химического элемента, входящего в состав азотистых оснований следующим образом:

$$H \equiv \begin{pmatrix} 1(H) & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \qquad C \equiv \begin{pmatrix} 0 & 6(C) \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \qquad O \equiv \begin{pmatrix} 0 & 8(O) \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \qquad N \equiv \begin{pmatrix} 7(N) & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad (4.4.5)$$

здесь цифры рядом с символом химического элемента обозначают его номер в таблице Менделеева. Кроме того, определяются матрицы, дуальные (4.4.5), которые получаются при двустороннем умножении на коньюгативную матрицу вида:

$$\eta = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 1 & 0 \end{pmatrix}. \qquad (4.4.6)$$

Пример матрицы, дуальной матрице водорода выглядит следующим образом:

$$\tilde{H} \equiv \eta H \eta^{-1} = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 1(H) \end{pmatrix}. \qquad (4.4.7)$$

Остальные дуальные матрицы получаются аналогичным умножением. Любое химическое соединение можно представить также в матричном виде. Ниже приведены примеры матричного представления азотистых оснований:

$$U = (C\tilde{C})^2 N^2 H^4 O\tilde{O} \equiv \begin{pmatrix} U & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \; \tilde{U} = (\tilde{C}C)^2 \tilde{N}^2 \tilde{H}^4 \tilde{O}O \equiv \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 0 & U \end{pmatrix}, \quad (4.4.8)$$

$$C = (C\tilde{C})^2 N^3 H^5 O \equiv \begin{pmatrix} 0 & C \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \qquad \tilde{C} = (\tilde{C}C)^2 \tilde{N}^3 \tilde{H}^5 \tilde{O} \equiv \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ C & 0 \end{pmatrix},$$

$$A = (C\tilde{C})^2 C\tilde{N}^5 \tilde{H}^5 \equiv \begin{pmatrix} 0 & A \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \qquad \tilde{C} = (\tilde{C}C)^2 N^5 H^5 \equiv \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ A & 0 \end{pmatrix},$$

$$G = (C\tilde{C})^2 C\tilde{N}^5 \tilde{H}^5 \tilde{O} \equiv \begin{pmatrix} G & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \tilde{G} = (\tilde{C}C)^2 \tilde{C}N^5 H^5 O \equiv \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G \end{pmatrix}.$$

После операции сложения соответствующих матриц получались две базовые матрицы:

$$B \equiv U + C + \tilde{A} + \tilde{G} = \begin{pmatrix} UC \\ AG \end{pmatrix} \qquad \tilde{B} \equiv \tilde{U} + \tilde{C} + A + G = \begin{pmatrix} GA \\ CU \end{pmatrix}. \qquad (4.4.9)$$

Такая матричная версия представления четверки оснований позволяет изобразить базовые матрицы в числовом виде, не прибегая при этом к введению несколько расплывчатого понятия силы основания (Duplij, Duplij, 2000; Дуплий,Дуплий, 2000). Например, из выражения (4.4.8) следует, что $C = (C\tilde{C})^2 N^3 H^5 O = 6^4 7^3 8 = 3556224$.

Тогда базовая матрица может быть представлена как:

$$B = \begin{pmatrix} UC \\ AG \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 4064256 & 3556224 \\ 130691232 & 1045529856 \end{pmatrix}.$$

Смысл этих длинных числовых рядов и их всевозможных комбинаций - предмет отдельного исследования, но введенное автором матричное счисление генетического кода оставляет надежду, что в будущем возможно удастся найти связь между положением в таблице Менделеева (фактически зарядом ядра) базовых химических элементов C, N, O, H, входящих в состав азотистых оснований и самой структурой кода.

В завершение анализа работ (Negadi 2002a, 2002b, 2003a, 2003b) следует обратить внимание на серию «магических» чисел, найденных автором в

процессе анализа структуры генетического кода теоретико-групповым методом[6]. Необходимо отметить, что в физике понятие магического числа это устоявшийся термин. Магические числа характеризуют количество дискретных единиц – электронов в атоме или нуклонов в ядре, находящихся на одном и том же квантовом энергетическом уровне. Другими словами эти числа характеризуют устойчивое состояние элементарных частиц вещества. Negadi идет дальше и сопоставляет найденные им магические числа с аналогичными числами в физических моделях, в частности, в теории супергравитации. Например, числа 44, 128 и 84 в теории супергравитации характеризуют число степеней свободы гравитона, гравитино и калибровочных полей соответственно (Negadi 2002b, p. 13). В модели Negadi эти же числа характеризуют полные суммы матричных элементов паттернов, преобразующихся друг в друга при румеровском преобразовании. Автор относит магические числа, выплывающие при теоретико-групповом анализе генетического кода и их совпадение в ряде случаев с числами в физических моделях, описывающих структуру мироздания, к «курьезам», однако … *"Now, concerning the interpretation(s) of this new kind of small numbers coincidences, we have proposed some personal thought coming from a theoretical physicist which could be, perhaps, one of the theoretical physicists undergoing the great migration towards Biology, Erwin Schrodinger announced a long time ago"* (Negadi 2002b). К анализу нумерологических свойств генетического кода мы еще вернемся.

Наиболее последовательный и системный дискретный анализ генетического кода представлен в работах (Shcherbak 1988, 1989a, 1989b, 1989c, 1993a, 1993b, 1994, 2003). Автор впервые делает попытку проанализировать структуру генетического кода не с позиций физико-химии взаимодействия нуклеотидов и аминокислот и путей их биосинтеза, как это принято в большинстве работ, посвященных исследованию генетического кода, но вскрывает его семантическую структуру.

Обратимся снова к стандартной таблице генетического кода (рис. 4.4.1). Таблица состоит из 16 блоков, каждый из которых представлен четырьмя

[6] Отметим, что в работах (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000) фигурируют числа, которые в определенном смысле также можно отнести к магическим, например, суммы диагональных элементов матрицы дуплетов дают число 20, соответствующее числу канонических аминокислот (см. выше), хотя ни сами аминокислоты, ни их число авторами не анализируется.

триплетами. Восемь блоков в этой таблице содержат по четыре синонимических триплета, то есть каждый из этих блоков полностью вырожден и отображается на одну, соответствующую ему аминокислоту: Gly, Ala, Ser, Pro, Val, Thr, Leu, Arg. Каждый из оставшиеся 8 блоков таблицы отображается либо на две аминокислоты, либо на аминокислоту и Stop-триплет. Кроме указанной особенности эти две группы блоков связаны преобразованием Румера (Румер 1966), то есть при замене всех пуринов на пиримидины по правилу *TCAG* → *GACT* первая группа трансформируется во вторую и наоборот. Такое разбиение таблицы генетического кода на два блока является единственно возможным, при котором соблюдается правило Румера (Shcherbak 1989, 1994), а именно отношение: $R = \frac{\sum (C+G)}{\sum (A+T)} = 3$ и для первой, и для второй позиций нуклеотидов в триплетах первой группы. Во второй группе триплетов это отношение естественно обратное, то есть R=1/3. Впервые указанные закономерности в структуре генетического кода были обнаружены Румером в 1966 г. (Румер 1966), но в течение последующих 20-ти лет рассматривались не более как случайное совпадение. После детального анализа, проведенного Щербаком в 1988-1989 г.г. (Shcherbak 1989) ситуация кардинальным образом изменилась. В последующих его работах (Shcherbak 1994; Шербак 1995) вскрыта фундаментальная связь структуры генетического кода с нуклонной структурой ядер элементов, из которых состоят 20 канонических аминокислот[7].

В силу того, что каждый химический элемент представлен в природе набором своих стабильных изотопов, то молекулярная масса молекул всегда имеет дробное значение. Однако, если предположить, как это сделал автор (Shcherbak 1989), что аминокислоты, входящие в состав белков построены только из основных природных изотопов, то есть $_1H^1$ (99.9852), $_6C^{12}$ (98.892), $_7N^{14}$ (99.635), $_8O^{16}$ (99.759), $_{15}P^{31}$ (100), $_{16}S^{32}$ (95.0) (в скобках указано природное содержание изотопа в атомных процентах), то атомная масса молекул будет иметь целочисленное значение. Основанием для такого предположения может являться то, что растения, выращиваемые в присутствии $_6C^{12}O_2$ и $_6C^{14}O_2$, избирательно усваивают углекислоту, в состав которой входит легкий изотоп $_6C^{12}$ (Кальвин, 1971, с. 91). Физико-химический механизм такой селекции не

[7] Отметим, что аналогичная попытка была предпринята в работах (Negadi 2002-2003).

понятен, так как в химическом отношении оба изотопа эквивалентны друг другу. В настоящее время это эмпирическое правило – *избирательная селекция живыми объектами из всех природных изотопов* $_6C^{12}$, $_6C^{13}$ *и* $_6C^{14}$ *только* $_6C^{12}$ - используется биохимиками для определения доли «биологического углерода» в образцах грунта (Кальвин 1971; Abelson, Hoering 1961).

Как известно, канонические аминокислоты состоят из стандартных пептидных группировок, атомная масса которых в целочисленном выражении равна 74 и боковых цепочек, атомная масса которых лежит в пределах от 1 для Gly до 130 для Trp. Суммарная атомная масса боковых цепей аминокислот, входящих во вторую 8-ми блочную группу равна 1110. В эту группу входит 15 аминокислот, суммарная масса их стандартных пептидных группировок равна 74×15=1110 (рис. 4.4.2). Вряд ли можно отнести к разряду случайных точное совпадение этих двух больших чисел. Это тем более маловероятно ввиду наличия других закономерностей в каждой из восьми выделенных блоков таблицы генетического кода (Щербак 1995).

Для аминокислот, кодируемых группой триплетов, входящих в состав первых 8-ми блоков, такого идеального совпадения чисел не наблюдается. Однако и здесь не обошлось без арифметических курьезов. Суммы по всей группе аминокислот атомных масс пептидных группировок и боковых цепочек

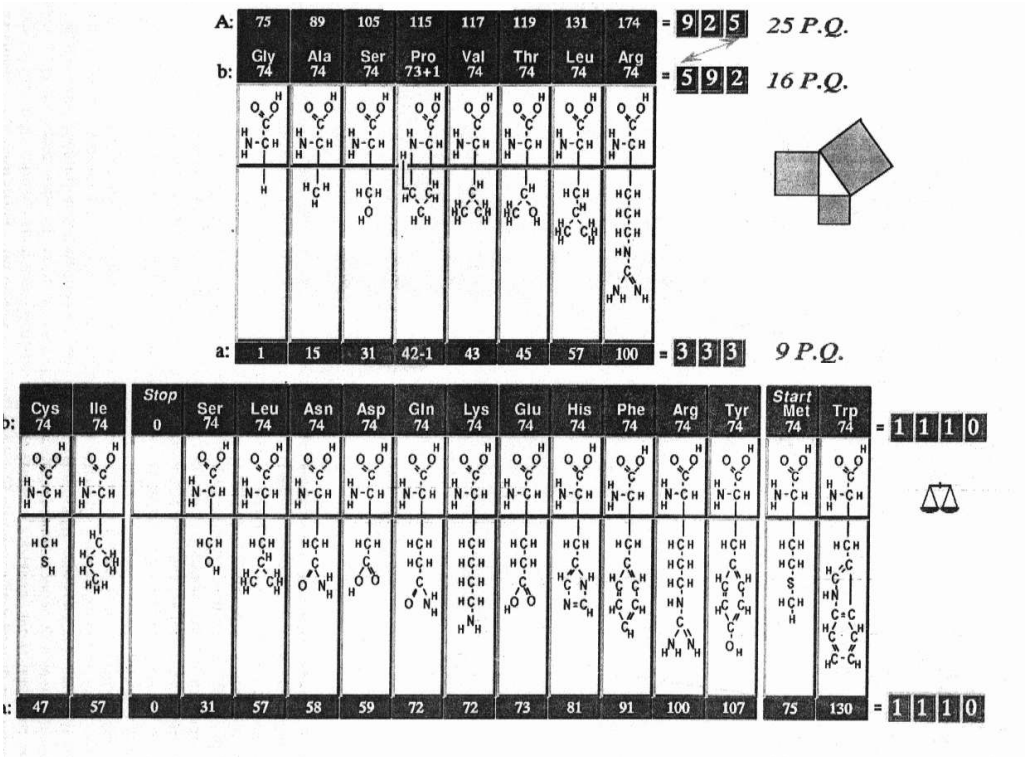


Рис. 4.4.2. Алгебраические групповые соотношения атомных масс аминокислот. Здесь *P.Q.*=37 (Печатается с любезного разрешения автора)

равны соответственно 333 и 592. Тогда полная сумма атомных масс аминокислот в этой группе представляется в виде 333 + 592 = 925. Наименьшее общее кратное для чисел, входящих в это арифметическое уравнение равно PQ= 37 (по Щербаку *Prime Quantum* или *PQ*). Поделив на него, получим 9 + 16 = 25 или $3^2 + 4^2 = 5^2$ (см. рис. 4.4.2). Случайно это Пифагорово соотношение или же природа дает нам подсказку? При определенной доли фантазии в данном соотношении можно усмотреть указание на то, что живые системы существуют в плоском Евклидовом пространстве. Только в нем выполняется данное соотношение.

Трудно представить, что найденные Щербаком[8] закономерности в структуре генетического кода не имеют отношения к физико-химическим свойствам аминокислот и нуклеотидов. Тем не менее, численные соотношения получены автором путем анализа нуклонного состава ядер химических элементов, входящих в аминокислоты, а не их физико-химической структуры,

[8] В интернете имеется сайт, автор которого нашел еще целую серию аналогичных числовых закономерностей и симметрий (Boulay, http://perso.wanadoo.fr/jean-yves.boulay/rap/eng.htm). Это еще одно доказательство общности Жизни и Вселенной.

которая определяется электронным окружением. В этом смысле ни полярность аминокислот, ни объем, ни их гидрофильные/гидрофобные свойства не задействованы в данном анализе. Возникает естественный вопрос – что является причиной, формирующей нумерологические особенности генетического кода? Можно заметить, что эвристический подход, используемый Щербаком, в чем-то напоминает подход Д.И. Менделеева. Действительно, периодические свойства химических элементов были обнаружены Менделеевым после того, как он расположил их в порядке возрастания атомного веса (массы) и разбил на группы. Щербак использует этот же критерий упорядоченности и обнаруживает нумерологические особенности групп (рис. 4.4.2). Кроме того, как показано в работах (Щербак 1995, рис. 24, 25; Shcherbak 2003, рис. 12-14) при символическом изображении аминокислот в виде триплетов оснований, соответствующие каллиграммы или последовательности нуклеотидов обладают либо зеркальной симметрией относительно центральной оси групп, либо комплементарной симметрией. В первом случае последовательности нуклеотидов полностью совпадают при чтении их вправо и влево от центральной оси группы. Во втором случае такое совпадение достигается с точностью до комплементарности нуклеотидов. Например, последовательность оснований во втором положении триплета в квазигруппе III-II-I (Shcherbak 2003, рис. 12) выглядит следующим образом: GTAGTAAAAAATGATG – налицо зеркальная симметрия. В квазигруппе IV последовательность оснований в первом положении триплета: GGTCGACC. Здесь присутствует симметрия относительно центральной оси последовательности с точностью до комплементарности. Мы привели лишь часть примеров из общего пула аналогичных симметрий, представленных в работах (Shcherbak 1988, 1989a, 1989b, 1989c, 1993a, 1993b, 1994, 2003)[9]. Выделяя различные подгруппы триплетных семейств в структуре генетического кода, например, по принципу наличия трех идентичных и трех уникальных оснований, с уникальным основанием пиримидином, с уникальным основанием пурином и т.д., автор показывает, что все это множество подгрупп обладает либо арифметическими особенностями при числовом представлении подгруппы (по аналогии с

[9] Напомним, что при матричном представлении генетического кода, авторы (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000; Negadi 2002a, 2002b, 2003a, 2003b) также наблюдали различные типы симметрии как в его символьном, так и в числовом отображениях.

представленным выше балансом масс для квазигрупп III, II, I), либо симметрией последовательностей нуклеотидов при их символьном изображении, либо и тем и другим.

Наличие этих свойств в подгруппах кодонов и генетического кода в целом вызывает с одной стороны удивление и эстетическое восприятие генетического кода, а с другой свидетельствует о конструктивности выбранного автором метода анализа[10]. *Древнейшая наука арифметика оказалась одним из мощных инструментариев для познания величайшей загадки Природы.*

Мы уже отмечали выше, что любая симметрия возможна тогда, когда отображает какой-либо закон сохранения (Эллиот, Добер 1983). Любое алгебраическое или дифференциальное уравнения, связывающие несколько переменных величин, по сути, являются локальными законами сохранения для этих переменных. Используя групповые свойства симметрии различных комбинаций кодонов, Щербак составляет полную систему линейных алгебраических Диофантовых уравнений. Решениями этой системы являются целочисленные значения, которые соответствуют молекулярным массам 20-ти канонических аминокислот, а нулевое значение, естественно, соответствует стоп-кодону.

На первый взгляд, в этом нет ничего удивительного, поскольку во всех уравнениях, связывающих комбинации различных аминокислот, изначально заложены численные значения их масс (или нуклонный состав по Щербаку). *A posteriori* всегда можно составить множество комбинаций из 23-х «неизвестных» (для 20-ти аминокислот и трех стоп-кодонов) линейных уравнений, решением которых будут соответствующие числовые значения. Однако, следует заметить, что составление самосогласованной системы Диофантовых уравнений осуществлялось не случайно, а на основе принципа групповой симметрии кодонов. В этом смысле целочисленные решения ее, соответствующие каноническому набору аминокислот, являются своеобразным внутренним контролем метода группового анализа, и свидетельствуют о нетривиальности групповых симметрий генетического кода: «*Арифметическую закономерность проявляет стандартная процедура, которая ставит канонические аминокислоты и Stop в функциональную зависимость от*

[10] Эйнштейн считал, что аналитическое выражение, способное вызывать эстетическое чувство, наиболее адекватно описывает предмет исследования.

определенных параметров их триплетов. По правилам процедуры триплеты своими свойствами вначале задают логику распада кода на группы, а аминокислоты в подчиненном порядке демонстрируют внутри этих групп известные свойства сбалансированности нуклонных сумм и их особенную запись в десятичной системе счисления (ремарка моя В.Г.). *Исходя из предположения об общей внутренней симметрии кода, можно ожидать, что там существует дополняющая закономерность, которая компенсирует возникшую асимметрию: логику упорядочения в ней теперь должны диктовать параметры аминокислот, а триплеты – подчиняться ей*». И далее: «*Следует подчеркнуть, что распадения на элементарные фрагменты основано не только на физико-химических признаках триплетов, но в первую очередь на законах алгебры, которые при анализе формального упорядочения генетического кода становятся не менее вескими. Они неминуемо вступают в силу как только становится ясно, что арифметическая закономерность и кооперативная симметрия являются реальными свойствами кода*» (Щербак 1995, с. 86, с. 98).

На основании этого можно утверждать, что алгебраические симметрии, которые наблюдали и исследовали авторы работ (Duplij, Duplij 2000; Дуплий, Дуплий 2000; Jimenez-Montano, de la Mora-Basanez & Poschel 1996; Jimenez-Montano 1999; Negadi 2002a, 2002b, 2003a, 2003b), не получившие там последовательной трактовки, имеют корни в арифметической симметрии кода. Этот алгебраический пласт симметрий генетического кода еще ждет своих исследователей.

Напрашивается следующий вывод: **генетический код не является продуктом ни химической, ни предбиологической эволюций[11] – химические структуры 4-х нуклеотидов, 20-ти канонических аминокислот и отображение множества триплетов на множество аминокислот детерминированы, также как детерминирован набор элементарных частиц и химических элементов самим актом рождения наблюдаемой Вселенной[12].**

[11] Из других соображений, но к аналогичному выводу пришел Эйген (Баблоянц 1990, с. 264).

[12] Отвергая эволюцию генетического кода, данная формулировка никоим образом не отвергает последующую эволюцию живых систем, например, по Дарвину (Дарвин 1991) или по Кимуре (Кимура 1985).

Перечисленных свойств генетического кода вполне достаточно[13] для того, чтобы он был отнесен к разряду фундаментальных законов Природы, следовательно, приобрел статус неинтерпретируемых категорий, таких же как фундаментальные физические законы сохранения энергии, импульса и момента импульса. Последние, согласно теореме Нетер (Ландау, Лифшиц 1986), являются следствием симметрии времени, однородности и изотропности пространства соответственно. Время и пространство, так же как и энергия, импульс и момент импульса это размерные величины. Поскольку все обнаруженные Щербаком симметрии и нумерологические закономерности в структуре генетического кода относятся к разряду безразмерных величин – это абстрактные числа, то можно, по аналогии с теоремой Нетер, попытаться найти связь генетического кода с глубинными еще неизвестными безразмерными свойствами мироздания. Эта попытка, хотя и на уровни эвристики, фактически сделана в работе (Shcherbak 2003).

Автор утверждает (personal communication), что:

1. *Точно известно, что абстрактные символы арифметики "оживают" в лингвистических средах: в голове человека (самая загадочная среда) и в артефактном чипе микропроцессора.*
2. *Если в неизвестном языке есть арифметика, то алфавит должен содержать все базовые символы этого языка и арифметики.*
3. *Система счисления строит числа – базовые символы арифметики – устанавливая цифры в определенный порядок. Этот порядок можно увидеть и сепарировать носители цифр от прочих знаков неизвестного языка.*
4. *Кроме того, система счисления, если она обнаружена в алфавите неизвестного языка, становится недвусмысленным свидетельством вычислительных операций, которые производятся в этом языке, ибо у системы нет иного предназначения, кроме организации эффективного счета.*
5. *Генетика - это дигитальные записи, которые могут иметь арифметическую подоплеку. Алфавит этих записей – генетический код.*

[13]Справедливости ради нужно отметить, что данное утверждение требует строгого формального доказательства. Однако, на современном уровне знаний сделать это по правилам строгой логики невозможно. Остается лишь возможность апеллировать к интуиции.

6. *Все перечисленное в пп.* 2-4 *может быть отнесено к генетическому языку и его алфавиту. Самое удивительное, что кое-какие требуемые для этого сценария атрибуты арифметики обнаружены в генетическом коде.*

Осталось сделать шаг из кода в генетические последовательности.

Другими словами, можно предполагать, что генетический код сформирован не только на основе физико-химических взаимодействий триплетов и аминокислот в пространстве или на уровне биохимических путей синтеза, а в первую очередь на лингвистической основе, знаковое изображение которой представлено в десятеричной системе счисления. Таким образом, можно предполагать, что любой живой объект от микроорганизма до человека являет собой на макромолекулярном уровне биокомпьютер разной степени сложности. Идея рассматривать клетку микроорганизма как *молекулярный компьютер* обсуждается в литературе начиная с 70-х годов прошлого столетия (Либерман 1972, 1980, 1990; Liberman, Minina, Shklovsky-Kordy 1989; Минина, Либерман 1990). Ниже приводятся фрагменты из статьи (http://www.iitp.ru/personal/Efim_Liberman/int_r.html):

«В основу науки объединяющей физику, математику и биологию положены 4 принципа: наименьшей цены действия за вычисление и измерение, оптимальной предсказуемости, минимальной необратимости, и принцип причинности в новой формулировке.

Что есть жизнь, может ли описать ее биофизика и что такое биологическая информация? В настоящей статье мы хотим попробовать дать неожиданный ответ на эти вопросы. Утверждение сводится к тому, что мир сделан квантовым и волновым для того, чтобы сделать живые существа минимально влияющими на будущее измерением и вычислением. В то же время, с этой новой точки зрения, без живых существ, способных измерять и предсказывать на основе измерения и вычисления будущее состояние окружающего мира, физических законов вообще не существует.

Понять потребность в таком подходе можно, если принять во внимание не только влияние измерения на состояние квантовой системы […], но и влияние вычисления с помощью предельных вычисляющих систем […]. Предельные вычисляющие системы должны иметь элементы минимального размера и затрачивать на производство элементарной операции минимум

свободной энергии и времени. Поскольку энергия и время не квантуются, было предположено […], что минимизируется затрачиваемое действие (произведение энергии на время), и эта величина названа ценою действия. Первым пределом минимального размера вычисляющих элементов являются молекулярные размеры. Было предположено, что управляющая система живой клетки является молекулярным компьютером, а молекулярные тексты ДНК и РНК преобразуются с использованием молекулярных адресов […].

Таким образом, идея о том, что генетические тексты могут «обрабатываться» молекулярными компьютерами по аналогии с электронными компьютерами имеет уже солидный возраст, а обращение к ней различных исследователей свидетельствует о ее конструктивном начале.[14] С этой точки зрения проблема происхождения генетического кода должна рассматриваться не только с позиций физико-химии структурного и метаболического соответствия триплетов и аминокислот, но и с позиции их информационного соответствия.

Выше мы отмечали, что на основании результатов, полученных авторами (Aldana, Cazarez-Bush & al. 1998; Aldana-Gonzales, Cocho & al. 2003), можно предположить, что в формировании смысловой кодирующей последовательности ДНК физико-химические взаимодействия молекул играют не последнюю роль. Напомним, что триплетная структура минимумов потенциальной энергии электростатического взаимодействия олигомера с полимерной матрицей наиболее четко выражена в смысловых последовательностях исследованных геномов.

Фундаментальное значение «*семантического*» взаимодействия и кооперативного поведения молекул отметил классик нелинейной термодинамики И. Р. Пригожин (Пригожин, Стенгерс 1986, с. 55): "*В данном случае уместно говорить о новой когерентности, о механизме "коммуникации" между молекулами. Но связь такого типа может возникать только в сильно неравновесных условиях. Интересно отметить, что подобная связь широко распространена в мире живого. Существование ее можно принять за самую*

[14] В настоящее время прорабатываются идеи создания молекулярных компьютеров на основе использования известных ферментных систем (Conrad and Zauner 1998; Zauner and Conrad 2001).

основу определения биологической системы". И далее: «*Мы начинаем понимать, каким образом, исходя из химии, можно построить сложные структуры, сложные формы, в том числе и такие, которые способны стать предшественником живого. В сильно неравновесных явлениях достоверно установлено весьма важное и неожиданное свойство материи: впредь физика с полным основанием может описывать структуры как формы адаптации системы к внешним условиям*»

Другими словами, уже на уровне химических реакций, несоизмеримо простых по сравнению со сложной сетью метаболических реакций в живых системах (Дэгли, Никольсон 1973; Мусил и др. 1981), но протекающих в сильно неравновесных условиях, проявляется непременный атрибут живого – **адаптация**. Последнее, очевидно, возможно лишь при условии, что взаимодействующие молекулярные агрегаты системы способны соотносить свое состояние со свойствами окружающей среды.

Рассмотрим предельный случай – самосогласованную, эволюционно отобранную сеть биохимических реакций и зададимся вопросом: "*Could the biochemical metabolism be different*?" (Buvet 1981). Автор выделяет 8 основных видов элементарных биохимических процессов:

1. Redox reaction:

(n=1 *or* 2)

$$\mathrm{Ox}_1 + ne^- + p_1H^+ \rightleftharpoons \mathrm{Re}\,d_1 + q_1H_2O$$
$$\mathrm{Re}\,d_2 + q_2H_2O \rightleftharpoons \mathrm{Ox}_2 + ne^- + p_2H^+$$

$$\mathrm{Ox}_1 + \mathrm{Re}\,d_2 + (p_1 - p_2)H^+ \rightleftharpoons \mathrm{Re}\,d_1 + \mathrm{Ox}_2 + (q_1 - q_2)H_2O$$

2. Condensation-hydrolyses:

$$\left.\begin{matrix}\equiv C- \\ \equiv P-\end{matrix}\right\} OH + H \left\{\begin{matrix}-O- \\ -S- \\ -N\prec\end{matrix}\right. \rightleftharpoons \left.\begin{matrix}\equiv C- \\ \equiv P-\end{matrix}\right\} \left\{\begin{matrix}-O- \\ -S- \\ -N\prec\end{matrix}\right. + H_2O$$

3. Addition-eliminations of C-H to C=O:

$$\succ C = O + \equiv C - H \rightleftharpoons HO \equiv C - C \equiv$$

4. Addition-eliminations of A-H (A=heteroatom O, S, N) to C=O:

$$\succ C = O + A - H \rightleftharpoons \succ C \prec^{A}_{OH}$$

5. Addition-eliminations of A-H to C=C:

$$\succ C = C \prec + A - H \rightleftharpoons \succ CA - CH \prec$$

6. Enol-oxo isomerisations:

$$_{O}\geq C \overset{H}{} \succ C \prec \rightleftharpoons {}_{OH} \succ C = C \prec$$

7. Methyl transfers (X, Y = C or A):

$$X - CH_3 + H - Y \rightleftharpoons X - H + H_3C - Y$$

8. Isoprenyl pyrophosphate polycondensations.

Поскольку все биохимические реакции протекают в присутствии ферментов, следовательно, такое же количество принципиально значащих ферментов необходимо для согласования метаболических циклов в живой клетке. В результате анализа метаболических путей автор приходит к выводу: "*This means that the biochemical metabolism is not determined by any random choice of enzymic sequences, or by any choice of enzymic sequences which could have evolved from any closed game between polypeptide and polynucleotide polymers. In fact, on the contrary we should consider that the metabolism is as it is because it could not be different owing to the physico-chemical properties of carbonaceous compounds in aqueous media. Evolution has systematically explored all possibilities of this particular chemistry, selecting all possible tools for fulfilling the job as well as possible, starting from the state of the art which have been just reached the day before, and making its choices for the maximum benefit of the whole system, which does not necessarily for the best benefit of each of the involved processes taken separately.*"

Другими словами, автор приходит к выводу о детерминистическом начале, присутствующем как в самом метаболизме, так и в спектре ферментов,

осуществляющих его. Анализ путей биохимического синтеза внутриклеточных молекулярных структур из простейших органических и неорганических субстратов показывает, что работа внутриклеточных ферментов подчинена строгой биохимической логике (Эллиот, Эллиот 1999; Мусил и др. 1981; Nicholson 1968) то есть, существует последовательная цепь биохимических реакций[15], «целенаправленно» передающих исходные субстраты и продукты их трансформации внутри пула исполнительного ферментативного аппарата. Конечным результатом такого процесса является синтез почти точной копии молекулярной структуры, называемой микроорганизмом.

Опираясь на выводы автора (Buvet 1981), а также на карту метаболических путей, то есть взаимосогласованных преобразований всего пула органических молекул в живых системах (Nicholson 1968), можно попытаться разрубить гордиев узел, в “chicken-and-egg” проблеме (Barbiery 1981). На вечный вопрос - что первично ДНК/РНК или белок, можно ответить - ни то и не другое. Первичным началом жизни является сам процесс органического синтеза. Действительно, химической основой земной формы жизни являются шесть элементов C, O, H, N, S, из которых может быть синтезировано множество органических молекул. Согласно современной классификации ферментов, существует всего шесть классов активностей - оксидредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы, на основе которых реализуется весь спектр биохимических реакций в живых системах (Мусил и др. 1981). С учетом того, что каждый класс активностей представлен от трех до восьми видами химических реакций, переносящих или трансформирующих различные группировки из атомов C, O, H, N, P и S, весь набор ферментативных активностей, участвующих в самовоспроизведении бактериальной клетки едва превышает число 30. Таким образом, достаточно относительно небольшого разнообразия каталитических активностей, чтобы провести весь пул химических реакций, обеспечивающих синтез бактериальной клетки.

С этой точки зрения известная аллегорическая метафора – «ДНК знает *что* делать, но не умеет - белки умеют, но не знают *что*» может быть

[15] Наличие шунтирующих биохимических путей не противоречит, а только подчеркивает строгость биохимической логики, так как при их наличии намного возрастает устойчивость работы внутриклеточной биохимической машины.

трансформирована: «биохимическая логика знает *что* делать, белки и ДНК умеют *как*». Другими словами постулируется, что биохимическая логика ферментативных реакций является управляющей программой самовоспроизведения клетки, а белки исполняющими элементами этой программы, которые обращаются к ДНК в том случае, если отсутствуют соответствующие исполнительные элементы для реализации следующего этапа синтеза.

4.5 Хиральность структурных элементов генетического кода

Все структурные элементы живой системы, отвечающие за ее воспроизводство, представлены хиральными изомерами: нуклеиновыми кислотами, содержащими только D-сахара и белками, содержащими только L-аминокислоты. В бактериальных клетках эти молекулы составляют три четверти всего органического материала. Напротив, в неживой природе зеркальные изомеры молекул всегда представлены в виде рацемической смеси. *Таким образом, живые системы формально игнорируют принцип равноправия правых и левых форм и в этом смысле нарушают закон сохранения пространственной четности.* Во всяком случае, до сих пор в земных условиях не найдены клетки, содержащие в составе нуклеиновых кислот и белков инвертированные изомеры L-сахаров и D-аминокислот. Отсутствие таких объектов в природе нельзя объяснить случайным выбором для конструирования L-аминокислот и D-сахаров на ранних этапах эволюции живых систем (Кизель 1985). Последнее утверждение основывается на том факте, что в неживой природе «правые и левые» молекулярные формы могут сосуществовать внутри одного ареала (например, кристаллы кварца в правой и левой модификациях встречаются в пределах одного месторождения), но интегрально смесь, по-прежнему, является рацемичной. Поэтому, предполагая, что возникновение живых систем есть закономерное явление в ходе химической и предбиологической эволюции, мы не имеем оснований отдавать предпочтение тому или иному энантиоморфу. Гипотеза о вытеснении существующими формами живых систем своих зеркальных аналогов в процессе биологической эволюции и неизбежной конкуренции за химические источники энергии - также является несостоятельной. На ранних этапах биологической эволюции такой конкуренции просто не могло быть в виду несоизмеримости масс живой и

неживой материи. На более поздних этапах, когда выделились экологические ниши и сформировались трофические уровни, когда разные классы живых систем получили возможность использовать для своего развития уже готовую биомассу, живые системы с зеркальными энантиоморфами сахаров и аминокислот вообще не могли использовать друг друга в качестве субстратов. Так, например, из рацемической смеси сахаров микроорганизмы утилизируют лишь D-сахара, а соответствующие им L-формы остаются в растворе (Гутина, Кузьмин 1990).

Таким образом, на основании принятых на сегодня моделей возникновения и эволюции живых систем невозможно отдать предпочтение какой-либо из двух зеркальных форм молекул. Экспериментальный факт абсолютного доминирования в живых системах изомеров только одной энантиоморфной конфигурации следует принимать как аксиому. Для того, чтобы перевести ее в разряд интерпретируемых категорий необходим анализ пространственно временных взаимоотношений, т.е. структуры и функции живых систем.

С точки зрения молекулярной биологии хиральность информационных макромолекул является естественной и очевидной.

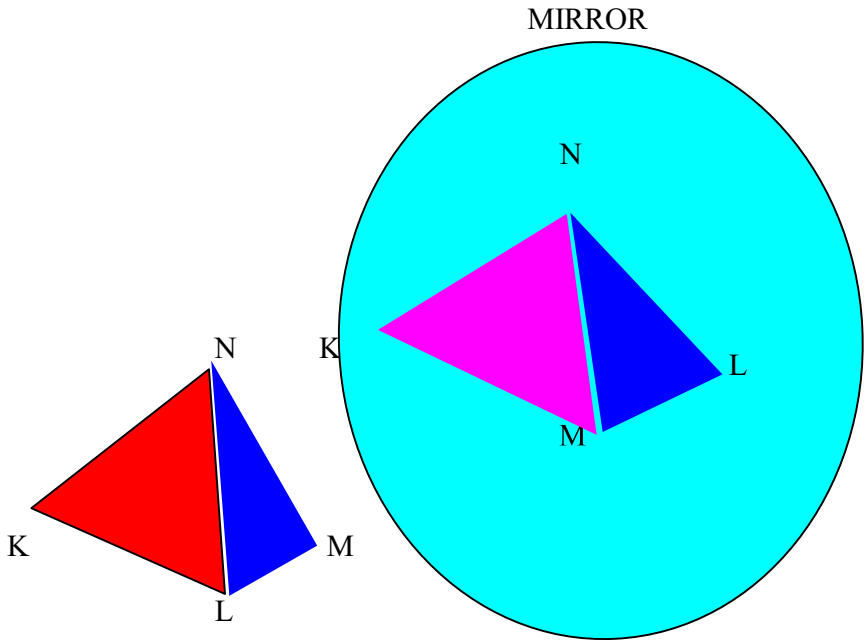


Рис. 4.5.1. Тетраэдр (слева) и его зеркальный образ (справа)

Действительно, атом углерода, на основе которого построены все полимеры живых систем, имеет четыре идентичных ковалентных связи, направленные по углам тетраэдра так, что может формировать зеркальные энантиоморфы, если каждая из них задействована на разные заместители, обозначенных на рис. 4.5.1 буквами KLMN.

Полимер, сформированный из таких блоков, термодинамически более устойчив, если они одной симметрии (безразлично D- или L-конфигурации), нежели представлены рацемической смесью (Аветисов, Гольданский 1996; Эллиот, Эллиот 1999). Этот фактор чрезвычайно важен для тепловой устойчивости молекул ДНК и РНК - хранителей информации.

Процесс считывания информации, так как он сегодня представляется молекулярным биологам, чрезвычайно усложнился бы, если блоки, из которых построены считываемые и считывающие молекулы (т.е. нуклеиновые кислоты и белки соответственно) были представлены рацемическими смесями своих мономеров[16].

То есть, сам феномен хиральности информационных молекул является естественным следствием их состава и строения. Конкретный же вид хиральности молекул не играет роли. Таким образом, и в рамках молекулярно-биологических представлений невозможно сформулировать критерий выбора D или L энантиоморфов.

Необходимо отметить, что в 50-е годы экспериментальная физика также столкнулась с проблемой пространственной анизотропии электронов в процессе β-распада ядер (Ли 1958, Янг 1958). Однако, теоретики достаточно быстро «залатали возникшую брешь», обратившись к одной из фундаментальных теорем, так называемой CPT-теореме Людерса-Паули. Один из вариантов этой теоремы формулируется следующим образом (Гроверт и др. 1960): «*локальная теория квантового поля, инвариантная относительно Лоренцовых вращений и включающая в себя причинную коммутативность или антикоммутативность операторов, всегда инвариантна относительно произведения преобразований*

[16] Механический образ этого явления: гайка с правой резьбой может навинтиться на винт с правой (но не с левой!) резьбой. В данной модели нить ДНК (двойная спираль) играет роль винта, а считывающий белковый комплекс - роль гайки.

TCP». Или в другой, более приемлемой для нашего случая формулировке (Мухин, Тихонов 2001): «*в любом взаимодействии инвариантно произведение трех инверсий: операции зарядового сопряжения (C), зеркального отражения (P) и обращения времени (T)*». CPT-теорема справедлива для всех локальных теорий, в которых выполняется принцип причинности. Суть рассматриваемых здесь дискретных преобразований такова:

- при пространственном отражении, то есть P → -P состояния частиц с пространственными координатами r, импульсами p и проекциями спинов σ (для спинов, отличных от нуля) преобразуется в состояние тех же частиц с координатами −r, импульсами −p и прежними проекциями спинов σ;

- при отражении времени T → -T состояния частиц с координатами r, импульсами p и проекциями спинов σ преобразуется в состояние тех же частиц с прежними координатами r, но с импульсами −p и обратными по знаку проекциями спинов σ; кроме того, направление времени изменяется на обратное, т.е. налетающие частицы заменяются на уходящие и наоборот;

- при зарядовом сопряжении C, частицы преобразуются в соответствующие античастицы без изменения r, p и σ.

Из самого смысла **CPT**-теоремы вытекает, что инверсия физической системы или какого-либо процесса, протекающего в системе, относительно одного из этих преобразований влечет за собой также инверсию относительно одного из двух оставшихся, так чтобы их произведение, по-прежнему, оставалось инвариантным. Таким образом, несохранение **P**-четности в процессах, связанных с β - распадом требует инвариантности комбинаций **PT**, либо **PC**. Не вдаваясь в подробности экспериментальных и теоретических коллизий в сфере элементарных частиц, попытаемся использовать эту методологию для анализа пространственной анизотропии живых систем.

Сомножитель **C** для живых объектов, существующих на Земле, очевидно, нужно считать инвариантном, так как все живое состоит из частиц, но не из античастиц. В этом случае произведение **TP** обязано быть инвариантным. Отсюда следует, что для живых объектов, зеркальных, по отношению к существующим на Земле, для которых пространство инвертировано (то есть **P** → **−P**), время должно иметь также противоположный знак, то есть **T** → **−T**, в этом случае **(-P)(-T) = PT.**

Устойчивое существование живой системы возможно при условии строгого соблюдения причинно-следственных взаимоотношений между биохимическими процессами, протекающими в ней. Реализация генетической информации в виде функциональных белковых единиц может происходить только в строго определенной временной последовательности: белок не может бать синтезирован раньше, чем произойдет синтез РНК. Жесткая причинно-следственная детерминированность процессов предъявляет требование к однонаправленности времени, что, в свою очередь, согласно **CPT** – теореме, требует хиральности макромолекул, участвующих в хранении и переносе информации. В противном случае, допустив независимость процессов, протекающих в живой системе, относительно смены знака времени, мы автоматически допускаем наличие в клетках рацемичности состава информационных макромолекул[17].

Таким образом, требование време'нной однонаправленности, т.е. причинно-следственной согласованности процессов в живой системе предъявляет требование к ее структурным элементам: *информационные макромолекулы должны состоять из атомов, допускающих формирование хиральных полимеров*. Отсюда следует, что выбор углерода в качестве химической основы жизни в некотором смысле предопределен.

Итак, мы приходим к заключению, что в живых системах пространство, а точнее пространственное распределение атомов и время, то есть направление развития молекулярных процессов не независимы. Все дальнейшие рассуждения будем строить, основываясь на принципе прецедента существования жизни на Земле и на тех выводах, которые вытекают из анализа структуры генетического кода и хиральности информационных макромолекул.

Это весьма пространное введение в проблему происхождения жизни, понадобилось автору для того, чтобы убедить читателя, что феномен жизни и ее

---

[17] Времен'ная необратимость возникает тогда, когда в качестве исследуемой величины выступает некая макроскопическая характеристика системы. Критерием, позволяющим отличить реальный процесс от фиктивного является энтропия, которая в замкнутой системе может только возрастать. Иначе, если в представленном для анализа некоем процессе, макроскопические характеристики изменяются так, что при условии замкнутости системы, энтропия уменьшается - можно однозначно утверждать, что имеет место нарушение чередования причины и следствия. *«Причинно-следственные связи реализуются в том, что время имеет определенное направление от прошлого к будущему»* (Розенталь1987, с. 41).

происхождение не могут быть осознаны в рамках только биологических категорий. С точки зрения автора, «нерушимые» фундаментальные законы физики в наблюдаемой Вселенной детерминируют единообразие генетического кода земной биоты и хиральность ее информационных молекул нуклеиновых кислот и белков. В следующем разделе мы перейдем к моделированию природного физико-химического процесса, в результате которого можно было бы ожидать появления объектов, послуживших началом для протоклеток микроорганизмов. Все предположения и гипотезы, которые будут вводиться далее автором, так или иначе, опираются на антропный принцип (Carr 1979). Основанием этому служит следующее рассуждение. Наблюдатель, то есть человек, является по Дарвину (Дарвин 1991, (1872)) продуктом длительной биологической эволюции, начальным звеном которой послужили микроорганизмы. Поскольку присутствие наблюдателя во Вселенной является единственным критерием ее существования, в противном случае все рассуждения о ненаблюдаемых вселенных просто бессмысленны, следует считать так, что в фундаментальных физических законах природы, по которым развивается наблюдаемая Вселенная, детерминирован акт зарождения простейших живых систем на определенном этапе эволюции Вселенной. Описанные в предыдущих разделах биологические «курьезы», не выглядят случайными или надуманными с этой точки зрения. Наоборот, заставляют исследователя искать глубокую связь между законами неживой и живой природы. Опираясь на прецедент существования жизни на Земле, можно надеяться, что разработка методологии экспериментального создания искусственных простейших живых объектов – микроорганизмов из простейших же химических соединений не является изначально абсурдной и безнадежной.

4.6 Капельная гипотеза химической стадии эволюции

На сегодняшний день совершенно очевидно, что зарождение столь сложной самовоспроизводящейся системы, каковой является клетка микроорганизма невозможно в «грязной луже». Среда, в которой этот процесс в принципе не запрещен должна сама обладать достаточно высокой структурной организацией и к тому же способной обеспечивать необходимый поток свободной энергии для поддержания целостности всех промежуточных

структурных образований, из которых может собраться живая клетка. Покажем что капля воды, «парящая» в атмосфере Земли обладает всеми указанными свойствами.

Потребуем, во-первых, чтобы электрическая активность атмосферы допускала существование широкого спектра электромагнитных волн[18]. При выполнении этого условия в капле будут возбуждаться лэнгмюровские колебания протонов. Во-вторых, чтобы газовая атмосфера содержала химические элементы C, N, P и S в виде окислов, либо других соединений, растворимых в воде[19].

Необходимым условием формирования протоклекти микроорганизма является наличие в среде органических молекул. Рассмотрим физико-химические условия, при выполнении которых возможен синтез органики в капле воды. Для удобства моделирования будем полагать, что лэнгмюровские колебания протонов имеют сферическую симметрию. Данная идеализация не противоречит физике процесса, так как геометрия объекта это сфера и геометрия стационарных колебательных процессов, протекающих в нем также должна иметь сферическую симметрию. В определенном смысле это проявление принципа симметрии Кюри (Физ. энцикл. 1990, с. 538).

Оценим минимальный размер капли, в которой возможна активация работы этого химического минireактора. Стационарная картина сферических лэнгмюровских колебаний будет возникать в капле, радиус которой соответствует полуволне, то есть $r_{min}=\lambda_L/2=\pi\upsilon_L/\omega_L$, где υ_L – скорость лэнгмюровских волн, оцененная в Главе 2 (см. формулу 2.2.15) порядка 1.4×10^5 см/сек. Тогда минимальный размер капли, в которой возбуждается процесс органического синтеза при наличии электромагнитного поля и растворенных окислов углерода, азота и так далее соответствует величине $r_{min}\approx0.5$ мкм. Этот размер «удивительным» образом совпадает со средним размеров микроорганизмов.

Средняя потенциальная энергия u_H, которую приобретает протон при формировании сферического слоя в центральной зоне капли радиуса R равна

[18] Это условие всегда реализуется при наличии грозовых явлений в атмосфере (Гуревич, Зыбин 2001).
[19] Эти элементы наряду с водородом и кислородом являются атрибутами живых систем.

(для упрощения оценок предполагаем равномерное распределение протонов по сфере, то есть отсутствует градиент плотности по радиусу):

$$u_H = \frac{2\pi n_H R_o^2 q^2}{\varepsilon}\left(\frac{R_o}{R} - \frac{R^2}{R_o^2}\right). \qquad (4.6.1)$$

Численная оценка при $R=R_o/2$ соответствует величине $u_H \approx n_H\ 8\times10^{-29}$ эрг $\approx n_H 5\times10^{-17}$ эв. Энергия активации большинства гомогенных химических реакций лежит в диапазоне 1-3 эв, поэтому при концентрации протонов $n_H \geq 6\times10^{16}$см$^{-3}$ (pH≤4.0) их энергии вполне достаточно, чтобы осуществлять синтез органических молекул в капле.

На основании расчетов, проведенных в Главе 2 (формулы 2.2.8), оценим амплитуду гармоник, необходимую для возбуждения соответствующих лэнгмюровских волн. В дальнейшем удобно использовать амплитуду, выраженную через стандартные величины E_o - напряженность земного поля и φ - трансмембранный потенциал клеток:

$$E = E_o\sqrt{\frac{u_H}{q\varphi}} \qquad (4.6.2)$$

При pH=4 $E\approx5.8E_o$, где E_o=130в/м – средняя напряженность современного статического поля Земли. *Другими словами, при наличии в окружающей кислой атмосфере гармоник электромагнитного поля с частотой* 5.7×10^9 *Гц и амплитудой около* 700 *в/м в парящей капле воды создаются условия, достаточные для активации синтеза органических молекул.* Рассмотрим динамику вновь синтезированных молекул с учетом их физико-химических свойств: наличия дипольного момента, наличия заряженных групп, наличия алифатических групп.

Ввиду неоднородности поля синтезированные молекулы, обладающие собственным дипольным моментом, будут втягиваться в реакционную зону. По мере продвижения к центру капли концентрируются более полярные молекулы - чем больше их дипольный момент и масса, тем ближе они к центру. Верхний размер молекул, сконцентрированных вблизи центра можно оценить из времени вращательной релаксации. Суть в том, что предыдущие рассуждения о втягивании дипольных молекул в центр неоднородного поля справедливы только тогда, когда выполняется условие $\omega_L\tau_{Rel}<1$или:

$$a \le \left(\frac{6kT}{\pi\eta q}\right)^{1/3}\left(\frac{\varepsilon m}{4\pi n_H}\right)^{1/6}. \qquad (4.6.3)$$

Здесь использована формула для времени вращательной релаксации вида $\tau_{Rel} = \pi\eta a^3/6kT$, где a – диаметр молекулы, η – вязкость среды, kT – тепловой фактор, m – масса протона. При этом условии диполи молекул успевают колебаться синхронно со сферически симметричным электрическим полем стоячих лэнгмюровских волн и, следовательно, испытывать однонаправленное к центру капли притяжение. По формуле (4.6.3) оценим максимальный диаметр молекул, сконцентрированных в центральной зоне капли, завершившей химическую эволюцию $a \le 6^{o}$А. В этот размер укладываются размеры всех основных полярных низкомолекулярных молекул микроорганизмов, то есть нуклеотидов и аминокислот.

Как известно, сила, действующая на диполь d в неоднородном электрическом поле, определяется соотношением $F_E = -d \times gradE$ (Калашников 1977, с. 39), которое в рассматриваемой сферически симметричной задаче выглядит как $F_E = 4\pi dqn_H(R_o/R)^3/3\varepsilon$. Запишем уравнение движения вдоль радиуса капли молекулы диаметром a, обладающей дипольным моментом d с учетом силы трения Пуазейля $F_P = 3\pi\eta r'a$:

$$mr'' = \frac{4\pi dqn_H\left(\frac{R_o}{R}\right)^3}{3\varepsilon} - 3\pi\eta r'a. \qquad (4.6.4a)$$

Здесь r – координата молекулы вдоль радиуса капли. Для упрощения этой формулы запишем массу молекулы в виде $m = \pi\rho a^3/6$. Учтем также, что в силу переменного характера поля эффективная плотность протонов равна $n/\sqrt{2}$. Окончательный вид формулы (4.6.4а):

$$r'' + \frac{9\eta}{4\rho a^2}r' = \frac{dqn_H\left(\frac{R_o}{R}\right)^3}{3\sqrt{2}\rho\varepsilon a^3}. \qquad (4.6.4)$$

Решение этого уравнения имеет вид:

$$r = \frac{4qdn_H\left(\frac{R_o}{R}\right)^3}{9\sqrt{2}\varepsilon\eta a}\left(t + \frac{\exp(-9\eta/4\rho a^2)t - 1}{9\eta/4\rho a^2}\right) \qquad (4.6.5)$$

и скорость дрейфа молекулы:

$$\upsilon = r' = \frac{4qdn_H\left(\frac{R_o}{R}\right)^3}{9\sqrt{2}\varepsilon\eta a}\left(1 - \exp(-9\eta/4\rho a^2)t\right).$$

Численная оценка времени релаксации $\tau = 4\rho a^2/9\eta$ к стационарной скорости для молекул диаметром $a \approx 6^{o}$A и молекулярной плотностью $\rho \approx 1$г/см^3 составляет $\tau \approx 10^{-13}$сек, следовательно, можно считать, что дрейфовое движение к центру капли полярных органических молекул в неоднородном поле происходит с постоянной скоростью. Для молекулы аминокислоты глицина (d=15D) эта дрейфовая скорость движения к центру капли радиусом 5×10^{-5}см и pH=4 составляет $\upsilon \approx 5\times10^{-2}$ см/сек (см. формулу 4.6.5). Весь путь от периферии к центру займет 10^{-3}сек.

Стационарную концентрацию таких молекул в центральной зоне капли оценим из уравнения Вант-Гоффа, приравняв осмотическое давление $p_O = nkT$ (здесь n – концентрация дипольных молекул) давлению $p_E = F_E/\pi a^2$:

$$n = n_H\left(\frac{R_o}{R}\right)^3 \frac{4qd}{3\sqrt{2}\varepsilon a^2 kT}. \qquad (4.6.6)$$

Для глицина равновесная концентрация при pH=4 может достигать величины $n \approx 10n_H \approx 1$мМ, которая приблизительно соответствует средней концентрации биохимических субстратов в клетке микроорганизма.

При указанном pH частота колебаний протонов составляет около 6×10^9 Гц, если считать, что при каждом колебании осуществляется хотя бы один акт химической реакции синтеза, то в секунду во всем объеме капли радиуса 5×10^{-5} см осуществляется приблизительно 10^{14} таких реакций. Для примера – клетка *E.coli* содержит всего $N_C \approx 10^{10}$ атомов органического углерода.

Предполагая, что на толщине $R = R_o/2$ сферического слоя происходит полное связывание CO_2, оценим время накопления органического углерода. Считаем процесс диффузии стационарным, тогда согласно первому закону Фика:

$$t = \frac{N_C}{8\pi D n_C R_o} \ . \qquad (4.6.7)$$

Здесь N_C – число молекул углерода в клетке микроорганизма, n_C – равновесная концентрация CO_2 в воде, D=1.5×10^{-5} см^2/сек – коэффициент диффузии CO_2 в воде. Численная оценка времени составляет t≈1сек (n_C≈5×10^{17} см$^{-3}$ - здесь учтено, что при pH=4 в водяной капле, концентрация CO_2 в атмосфере должна на два порядка превышать современное содержание углекислоты в атмосфере).

Из приведенных численных оценок следует, что лимитирующей стадией в процессе синтеза органики в капле является скорость поступления CO_2 из атмосферы. Кроме того, очевидно, что даже если не каждый акт взаимодействия протона с растворенным окислом приводит к химической реакции, накопление органики в рассматриваемом капельном реакторе происходит за времена, много меньшие, чем если бы это происходило, например, под воздействием УФ излучения Солнца в атмосфере или на поверхности водоема (Bernal 1967; Chyba, McDonald 1995; Фокс, Дозе 1975; Palyi et al. 2000).

При локальном повышении напряженности поля гармоники, резонансной с лэнгмюровской частотой протонов до E≈30E_o≈4Кв/м весь пул дипольных молекул будет сосредоточен в сфере R≈10^{-6}см (численные оценки сделаны по формулам 4.6.1 и 4.6.2). Условием для реализации данного состояния является длительность разряда молнии не менее одной двух микросекунд – это время, необходимое для раскачки протонов до стационарного состояния при напряженности поля E≈4Кв/м (см. Гл. 2, формула 2.2.10). В этом состоянии энергия взаимодействия диполей с заряженным сгустком протонов намного превысит тепловой фактор, то есть $8\pi n_H q d R(R_o/R)^3/9\varepsilon kT$≈109>>1. Это приведет к тому, что все диполи на время, равное нескольким микросекундам будут выстроены в радиально направленные цепочки. Из формулы (4.6.6) следует, что среднее расстояние между диполями в этом состоянии приближается к их собственным размерам. Таким образом, на время нескольких микросекунд создаются благоприятные условия для образования ковалентных сшивок между мономерами и формирования полимерных цепочек, например, полипептидов типа: $N^+H_3 - HCG_1 - COO^-\ldots\ N^+H_3 - HCG_2 - COO^-\ldots\ N^+H_3 - HCG_3 - COO^{--}\ldots$, здесь G_i – боковые группы аминокислот. Образование пептидных связей будет осуществляться также за счет энергии лэнгмюровских колебаний протонов.

Поскольку до ковалентной сшивки дипольные мономеры уже расположены в «правильной» последовательности чередования амино- и карбоксильных групп, то за один период колебания 10^{-10}сек при удачном чередовании мономеров могут формироваться олигомеры до нескольких десятков аминокислот. Лимитирующим фактором является размер активной зоны $R \approx 10^{-6}$см.

Время вращательной релаксации для диполей олигомеров, имеющих размер больше 6^{o}A (см. формулу 4.6.3) превышает критическое значение, следовательно, на них прекращает действовать втягивающее в центр капли сферически симметричное поле лэнгмюровских волн и капля будет постепенно заполняться такими олигомерами (не обязательно пептидной природы).

Известно, что вторичная структура пептидных полимеров, состоящих из хиральных мономеров, неважно в L или D форме, термодинамически более устойчива по сравнению с цепью, состоящей из случайного набора стереоизомеров (Аветисов, Гольданский 1996; Эллиот, Эллиот 1999). Термодинамическая стабилизация обусловлена образованием водородных связей между CO и NH пептидными группами каждого четвертого аминокислотного остатка в цепи, которые позволяют формировать регулярную α - спираль. В олигопептиде, состоящем, например, из N =12 аминокислот, таких связей может быть три. Энергия образования одной водородной связей порядка $\Delta U \approx$ 30кдж/моль. Энтропийный фактор можно оценить в виде $\Delta S = k\ln 2^{N}$, где 2^{N} – число состояний аминокислотных остатков в рацемической цепочке. Тогда свободную энергию образования α – спирали можно записать в виде $\Delta G = N(\Delta U/4 - kT\ln 2)$. Для олигопептида из 12 аминокислот константа равновесия при 300^{o}К равна $k_{eq} \approx 4\times 10^{-10}$, то есть образование регулярной структуры олигопептидов в виде α – спирали термодинамически оправдано. Однако, для ее образования необходимо перевести всю цепочку аминокислотных остатков олигопептида из случайного рацемического состояния в одну из форм L либо D. Энергетический барьер для осуществления такой трансформации соизмерим с энергией ковалентной связи и в интервале температур, при которых существует сам олигомер, реакция дерацемизации не происходит.

Протон способен набирать энергию, двигаясь по целостной трехмерной сети водородных связей молекул воды. При столкновении с разрывом происходит его остановка и локализованный сброс энергии. Таким образом, если цепочка

водородный связей в структуре олигопептида будет имманентно переходить в сеть водородных связей водного окружения, протон беспрепятственно преодолеет ее. В противном случае в месте разрыва высвободиться энергия, достаточная для преодоления активационного барьера стереоинверсии. Этот процесс локального возбуждения олигомера закончится после формирования совершенной α–спиральной структуры. Очевидно, что дерацемизации олигопептида может происходить в момент его формирования в центральной зоне капли. Важно отметить, что в сумме олигомеры будут представлять рацемат, то есть закон физики о равноправии правых и левых форм не нарушается.

Выше мы показали, что полярные молекулы концентрируются вблизи центра капли, наоборот гидрофобные нейтральные или заряженные молекулы будут вытесняться на периферию капли. Действительно, в среднем напряженность электрического поля в капле равна нулю, следовательно, и сила, действующая на заряженные (не дипольные) алифатические молекулы равна нулю. Гидрофобные же взаимодействия между молекулами воды и алифатическими молекулами вытеснят их на поверхность капли. Характерное время оценим исходя из диффузионного механизма движения молекул по формуле $R^2=6Dt$, где $D\approx10^{-5}$см^2/сек, тогда $t\approx40$ мксек.

Между центральной зоной и поверхностью пространство капли будет занято нейтральными или заряженными хорошо растворимыми недипольными молекулами, в том числе и молекулами сахаров.

После того, как поверхность капли полностью покроется монослоем гидрофобных углеводородных молекул, скорость поступления водорастворимых компонент атмосферных газов будет существенно ограничена. Часть углерода, растворенного в капле в виде CO_2 израсходуется на синтез органики. Это приведет к увеличению pH, то есть к падению концентрации протонов. Синтез органики и, соответственно, рост pH в капле прекратятся тогда, когда энергия протонов u_H станет меньше энергии активации протонирования CO_2. Согласно формуле 4.6.1 для этого достаточно 5-10 кратного падения концентрации протонов. Таким образом, предельное значение pH≤5 в капле при заданном начальном условии pH≤4.

Снижение энергии протонов будет происходить также и при выносе капли из грозовой зоны. При уменьшении амплитуды внешнего поля с $E\approx6E_o$ до

$E \approx (2\text{-}3)E_o$ (при n_H = const) энергия протонов также упадет ниже пороговой и синтез органики *de novo* прекратится. Однако в обоих случаях энергии протонов еще достаточно для последующих химических преобразований внутри компартмента.

После завершения данного этапа химической эволюции, то есть синтеза органики из CO_2, H_2O и других неорганических компонент, капля воды микронного размера будет являть собой некий прообраз клетки микроорганизма – *гидрофобную оболочку*, внутри которой раствор органических молекул разнообразного состава с *физиологической* концентрацией. Кроме того, в пространстве компартмента будут содержаться небольшие *полимерные* молекулы, среди которых не исключено наличие олигопептидов и олигонуклеотидов.

Для того, чтобы усилить сходство данного прообраза с клеткой микроорганизма, следует рассмотреть возможность формирования бислойной липидной мембраны, которой окружены клетки. При слиянии n-го количества капель радиуса r формируется одна капля радиуса R, объем которой равен сумме объемов n капель, то есть $4\pi nr^3/3=4\pi R^3/3$. Суммарная же поверхность S_Σ капель больше поверхности S капли радиуса R. Легко показать, что $S_\Sigma/S=n^{1/3}$ и при слиянии восьми малых капель их суммарная поверхность вдвое больше поверхности большой капли. Размер этой капли увеличится при этом вдвое. Для размещения на ее поверхности липиды должны сформировать двойной слой, что и требовалось доказать. Поскольку этот слой сформирован химически не гомогенными липидами, то и физико-химические свойства его не будут полностью соответствовать цитоплазматическим мембранам клеток. Однако, уже в таком виде двойной липидный слой способен препятствовать пассивному диффузионному транспорту.

Время, затраченное на весь процесс синтеза органики, составляет около одной секунды. Существенным моментом в данной модели является то, что синтез органики происходит в относительно мягких условиях, то есть в отсутствии ультрафиолета, ионизирующей радиации, высокой температуры и других высокоэнергетических факторов[20]. Далее будем рассматривать

[20] Необходимо отметить, что электрическая активность атмосферы планеты является источником широкого спектра радиоволн, при наличии которых только и возможен

«внутрикапельные» процессы в водном компартменте, изолированном от внешней водной среды углеводородным слоем.

4.7 Возможный сценарий перехода капельного каталитического реактора к состоянию самовоспроизводящейся системы

«*The origin of life can not be discovered, it has to be invented*».

A. Eschenmoser (цит. по Arrhenius 2001)

Основой самовоспроизведения молекулярной системы является последовательная самосогласованная цепь химических или точнее биохимических реакций синтеза, следствием которых является создание точной копии самое себя. Но для начала необходимо наличие оригинала, то есть структурно-функционального образования типа бактериальной клетки, способного осуществить создание собственной копии. Как было отмечено в начале этой главы, создание такого оригинала не запрещено вторым началом термодинамики. Однако, если акт его «творения» будет происходить в процессе случайного перебора всевозможных комбинаций молекул, то временной масштаб существования Вселенной необходимо многократно увеличить – что противоречит современным представлениям астрофизики (Линде 1990).

В современных моделях происхождения жизни бытует «очевидный» постулат – первичным элементом для создания живых систем должны быть полимерные молекулы ДНК или РНК, так как только они являются началом информационного обеспечения живого. Вторым непременным атрибутом в процессе самовоспроизводства живых систем является белок или хотя бы полипептид. Все та же нерешенная философская проблема “chicken-and-egg” (Barbiery 1981) трансформируется здесь в проблему ДНК/РНК-белок - что первично? Какие бы ухищрения ни использовали теоретики для конструирования циклически самовоспроизводящихся белково-нуклеиновых образований (например, гиперцикл Эйгена (Эйген, Шустер 1982)), акт или процесс создания, записи и воспроизведения информации на молекулярном уровне является по сей день *terra incognita.* По-видимому, в такой постановке проблема вообще не имеет решения.

процесс активации лэнгмюровских волн в капле, но в рассматриваемой модели не предполагается протекание разрядных токов через жидкость.

Анализ путей биохимического синтеза внутриклеточных молекулярных структур из простейших органических и неорганических субстратов показывает, что работа внутриклеточных ферментов подчинена строгой биохимической логике (Эллиот, Эллиот 1999). Другими словами, существует последовательная цепь биохимических реакций[21], целенаправленно передающих исходные субстраты и продукты их трансформации внутри пула исполнительного ферментативного аппарата. Конечным результатом такого процесса является синтез почти точной копии молекулярной структуры, называемой микроорганизмом. Насколько мне известно, не существует строгого математического доказательства того, что неизбежные молекулярные «отходы» и энергетические затраты в процессе внутриклеточного метаболизма оптимизированы и сведены к минимуму. В настоящее время можно лишь апеллировать к интуитивному эстетическому ощущению совершенства и изящества метаболической схемы (Дэгли, Никольсон 1973).[22]

В разделе 4.6 было показано, что в капле воды, парящей в кислой атмосфере, обладающей необходимой электрической активностью, могут синтезироваться низкомолекулярные органические молекулы. Предположим, что среди мириад таких капель, находящихся в атмосфере, найдутся такие, которые содержат в случайной комбинации весь исходный пул основных низкомолекулярных компонентов бактериальной клетки – липидов, сахаров, нуклеотидов и аминокислот. Согласно предыдущим выводам, эти молекулы представляют не гомогенную смесь, но разделены в пространстве капли: на ее периферии будут преобладать гидрофобные молекулы, каковыми являются липиды, в центральной части дипольные молекулы, то есть аминокислоты и их олигомеры, а между поверхностью и центральным ядром – неполярные водорастворимые сахара и нуклеотиды. Необходимо отметить, что синтез органики из окислов в этой капле *de novo* уже закончился – осуществляется последующая трансформация органического вещества, накопленного на первой стадии химической эволюции.

Оценим расстояние, на котором энергия диполь-дипольного взаимодействия

[21] Наличие шунтирующих биохимических путей не противоречит, а только подчеркивает строгость биохимической логики, так как при их наличии намного возрастает устойчивость работы внутриклеточной биохимической машины.

[22] Эйнштейн неоднократно подчеркивал, что эстетическое восприятие математических символов в уравнениях в значительной мере служило для него критерием их правильности.

пептидных олигомеров будет превышать энергию их теплового движения:

$$r \le \left(\frac{d^2}{\varepsilon kT} \right)^{\frac{1}{3}}, \qquad (4.7.1)$$

здесь d – дипольный момент, kT – тепловой фактор, ε – диэлектрическая проницаемость воды. Дипольный момент 12-ти членного олигомера на порядок больше дипольного момента одной аминокислоты и составляет не менее 100-150D, тогда при 300°K $r \approx 30\,\overset{o}{A}$. Как показано в разделе 4.6 при импульсном увеличении амплитуды резонансной гармоники до 5Кв/м весь пул дипольных мономеров, синтезированных в капле, стягивается в ее центральную зону радиуса $R \approx 100\,\overset{o}{A}$, в которой создаются условия для образования олигомеров. Таким образом, если число синтезированных *de novo* олигомеров превышает $(R/r)^3 \approx 40$, тогда, с учетом приведенной выше оценки, сформируется компактная глобула из олигомеров, которые удерживаются собственным диполь - дипольным взаимодействием. При наличии в глобуле олигомеров пептидной природы будет осуществляться дегидролиз концевых пептидных групп, также как и при образовании олигомеров из мономеров, и формирование протяженных полипептидных цепей. В идеальном случае, когда большинство олигомеров в глобуле имеют пептидную природу, длина таких цепей может достигать 400 аминокислотных остатков. Эта оценка, очевидно, завышена, и приводиться здесь для того, чтобы продемонстрировать потенциальные возможности используемой модели.

После дерацемизации мономерных звеньев такая цепь будет являть собой прообраз полипептидной молекулы, отличие которой от «настоящего» белка заключается в том, что она будет содержать, кроме 20-ти канонических аминокислот и другие пептидные группировки. При чисто вероятностном процессе синтеза олиго- и формировании из них полипептидов в этом процессе не следует ожидать, что первичная структура таких цепей будет похожа на первичную структуру канонических белковых молекул. Действительно, общее число известных аминокислот достигает 300 (Weber, Miller 1981), следовательно, вероятность синтеза олигопептида, состоящего из 12 мономеров - остатков канонических аминокислот не превышает 10^{-14}. Другими словами, для того, чтобы случайным образом в капле синтезировалось десять

«правильных» олигопептидов необходимо, чтобы этот процесс реализовался не менее 10^{140} раз. Очевидно, что никакое изобилие капель и частота повторяемости процесса синтеза в них не решает проблемы формирования полноценной белковой молекулы. Однако, на данном этапе предбиологической эволюции этого и не требуется.

Необходимо отметить, что эти полипептидные цепи будут обеднены аминокислотами с гидрофобными боковыми группами и наоборот обогащены полярными группами. Наличие же полярных заряженных группировок в регулярной полимерной цепочке является необходимым условием проявления ею каталитических активностей. Поскольку капля является термодинамически неравновесной системой с постоянным притоком энергии, то появление каталитических центров, то есть переход всей системы в качественно новое состояние, будет способствовать дальнейшему увеличению химического разнообразия в ней. В этом состоянии в капле будет «сконцентрирован» широкий спектр каталитических активностей.

Согласно современной классификации ферментов, существует всего шесть классов активностей - оксидредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы, на основе которых реализуется весь спектр биохимических реакций в живых системах (Мусил, Новакова, Кунц 1981). С учетом того, что каждый класс активностей представлен от трех до восьми видами химических реакций, переносящих или трансформирующих различные группировки из атомов H, O, C, N, P и S, весь набор ферментативных активностей, участвующих в самовоспроизведении бактериальной клетки едва превышает число 30. Таким образом, достаточно относительно небольшого разнообразия полипептидов, обладающих соответствующими каталитическими активностями, чтобы провести в центральной зоне капли весь пул биохимических реакций, обеспечивающих синтез примитивной самовоспроизводящейся бактериальной клетки. Следовательно, не является абсурдным предположение о том, что это множество полипептидов будет включать все необходимые виды ферментативных активностей, участвующих в цикле биохимических реакций самовоспроизведения бактериальной клетки,.

В этом начальном состоянии не требуется, чтобы указанный спектр активностей был представлен упорядоченным набором ферментов, последовательно запускающих процесс самовоспроизведения, как того требует

стандартный цикл размножения бактериальной клетки. Необходимо и достаточно, чтобы в случайной пропорции были представлены все классы ферментативных активностей независимо от времени их включения в детерминированном процессе репликации – транскрипции – трансляции и синтеза соответствующих низкомолекулярных предшественников.

Итак, проблема происхождения живой бактериальной клетки редуцируется до конкретной задачи: **каким образом пул катализаторов (еще не ферментов), находящийся внутри липидного бислоя, в отсутствие внешнего управляющего начала способен самоорганизоваться и осуществить за вполне ограниченное время последовательную цепь химических реакций, в результате которых синтезируется ДНК, в структуре которой будет записана информация о следующем цикле точного самовоспроизведения дочерней клетки?**

В данной формулировке первичными макроструктурами будущей бактериальной клетки являются белки, а не нуклеиновые кислоты. В общепринятой парадигме о происхождении жизни считается, что первичным началом должны быть нуклеиновые кислоты в ДНК или РНК виде (Palyi, Zucchi, Hajdu 2000; Chyba, McDonald 1995). Впрочем, что является первичным, а что вторичным по сути не важно, так как это известная и принципиально не решаемая проблема о «курице и яйце». Аллегорически это формулируется так – «ДНК знает что делать, но не умеет - белки умеют, но не знают что». Апелляция к РНК - рибозимам (Barbiery 1981) также не конструктивна и, по моему мнению, не сможет разорвать этот порочный круг, так как в отсутствие генетического кода, определяющего взаимооднозначное отображение множества нуклеотидов на множество аминокислот, и адаптеров, то есть аминоацилсинтетаз, осуществляющих это отображение, «не родившаяся курица не снесет яйцо». Выход из этого лабиринта, в котором блуждают биохимики уже 80 лет, а совместно с молекулярными биологами 50 лет, до сих пор не просматривается. В таких случаях допустимо введение нового постулата. Автор уже подчеркивал свою приверженность принципу Оккама, но в данном случае это вынужденный шаг.

Выше уже отмечалось, что вся земная биота использует единый генетический код, кроме того структура всех носителей информации также

единообразна с точки зрения хиральности. Такая ситуация возможна в двух случаях:

- либо все живое произошло из одной примитивной клетки микроорганизма,
- либо другие теоретически возможные комбинации молекул H, C, O, N, P и S, входящих в структуру информационных молекул не способны сформировать автономный самовоспроизводящийся объект.

Иными словами, **генетический код и хиральность не есть следствие эволюционного перебора разных возможностей и селекции наиболее приспособленных, но изначально детерминированы физическими законами, по которым эволюционировала и неживая материя.** Из других соображений к аналогичному выводу пришел Эйген (Баблоянц 1990, с. 264).

Постулировав таким образом единственность генетического кода, мы фактически приходим к утверждению о том, что где бы и когда бы ни возникали потенциальные носители жизни – в нашей модели эту роль играют капельные компартменты – в финальной стадии эволюции внутри них принципиально не запрещено формирование микроорганизма с произвольной видовой принадлежностью. Таким образом, уже на начальной стадии заселения Земли микроорганизмами мог сформироваться весьма разнообразный видовой состав микрофлоры.

Однако, решение вопросов о молекулярном механизме этих процессов, а также оценка времени, необходимого для такой трансформации, находятся вне компетенции рассматриваемой здесь модели. За рамками модели остается также ответ на вопрос: какие физико-химические процессы будут происходить в компартменте, после того как он окажется в водной среде на поверхности Земли? При этом необходимо отметить одно непременное условие – источник свободной энергии в виде электромагнитного поля пусть с меньшей интенсивностью, но является перманентно действующим. Это предположение основано на наших наблюдениях, представленных в Гл. 3. Кроме этого источника компартмент будет подвержен периодическому воздействию солнечной радиации, в частности ультрафиолета. С таким же суточным периодом будет пульсировать температура окружающей среды. Это два новых фактора, не рассматриваемых прежде, оба они, кроме источников дополнительной энергии, могут выполнять функцию внешнего водителя ритма, синхронизующего физико-химические процессы в капле. Что касается

электромагнитного поля, то, как показано в разделе 3.1, его амплитуда также подвержена суточным вариациям. Отсюда следует, что днем в компартменте возможно протекание более энергоемких химических реакций, а ночью, соответственно, менее энергоемких.

Некоторые соображения о возможных путях химической и предбиологической эволюции внутри капельного реактора можно высказать на основании работ (Пармон 2001; Пармон 2002). Автор приводит математическую модель селекции и эволюции автокатализаторов в открытом химическом реакторе. Одним из выводов этой модели является возможность старта эволюции в растворе, весьма обедненном исходными органическими компонентами. Со времен Опарина и до не давнего времени в основном рассматривались модели предбиологической эволюции в «жирном», а не «тощем» бульоне (терминология В.Н. Пармона), что интуитивно отвергалось и, соответственно, вызывало определенные претензии к таким моделям.

В нашей модели капельного реактора изначально вообще не требуется присутствие органики, последняя появляется в процессе синтеза, поэтому применение теоретической модели Пармона в этом смысле адекватно. Вторым сопоставимым моментом является то, что в нашей модели капельный реактор содержит пул хиральных олигопептидов, обладающих каталитическими свойствами. В модели Пармона на старте эволюции в реакторе также должен присутствовать набор автокатализаторов, конкурирующих за один и тот же субстрат. Наконец, третье, хотя и не полное соответствие: Пармон полагает, что нуклеиновые кислоты как носители информации «могли быть естественным следствием эволюционной «достройки» уже функционирующих в «протобульоне» простейших автокаталитических систем» (Пармон 2001). В нашей модели на начальном этапе химической эволюции носители информации также не требуются. Основываясь на этих соответствиях обеих моделей можно отобразить выводы, которые следуют из анализа химической эволюции автокаталитического реактора на капельный реактор. Согласно первой, формальдегид является исходным простейшим органическим соединением для синтеза моно- и полисахаридных структур, которые, как известно, являются необходимыми компонентами нуклеиновых кислот.

Отсюда следует очень важный вывод - в капельном реакторе возможен независимый синтез пептидных и нуклеиновых компонент. Более того,

поскольку хиральные олигопептиды обладают каталитическими активностями, то при условии участия их в синтезе полисахаридов также следует ожидать формирования хиральных моно- и полисахаридов. Наличие же липидной оболочки не позволит диффундировать вновь синтезированным молекулам во внешнюю среду. Таким образом, мы подошли к следующему этапу предбиологической эволюции в капле – коэволюции полисахаридов и полипептидов.

В заключение главы отметим, что главным достижением нашей модели в рамках проблемы происхождения жизни является то, что предложен молекулярный механизм возникновения прообраза клетки микроорганизма – компартмента, окруженного липидным бислоем, внутри которого содержится раствор низкомолекулярных органических соединений в физиологической концентрации, олигопептидов, обладающих каталитической активностью и полисахаридов предшественников нуклеиновых кислот. Кроме того, компартмент обеспечен перманентно действующим источником свободной энергии. По Эйгену (Эйген, Шустер 1982) наличие этих факторов является ключевым моментом в обеспечении возможности дальнейшей эволюции (компартмента) до стадии биологической клетки (Баблоянц 1990, с. 254-265). Необходимо отметить также, что представленная модель верифицируема в масштабах времен много меньших геологических. «*Но это уже другая история*» (А. и Б. Стругацкие 1976).

Заключение

В монографии сформулирована концепция ранее неизвестного и неописанного источника свободной энергии, на ресурсы которого могут переходить водные гетеротрофные микроорганизмы в отсутствие органического субстрата. Такой способ активного выживания является своеобразной альтернативой пассивного спорового состояния. Основанием для введения этого понятия и его теоретической разработки послужили длительные и безуспешные попытки объяснить феномен выживаемости и амплификации гетеротрофов в бессубстратной среде. Энергетическая емкость источника конечна, но, ввиду того, что он перманентно действующий, поэтому способен неограниченно долго

выполнять функцию энергетического буфера, поддерживающего жизнеспособность популяций при стационарной концентрации клеток $\approx 10^6 см^{-3}$.

Судя по тому, как меняется характер метаболических процессов в клетке, можно предполагать, что этот источник энергии является предтечей всех других источников, когда-либо используемых земной биотой. Действительно, согласно Пастеру, если в растворе присутствует несколько сахаров, например глюкоза и лактоза, то микроорганизмы будут утилизировать сначала более простой сахар, в данном случае глюкозу. Для утилизации разных сахаров в клетке, естественно, функционирует разный набор ферментов.

Как следует из наших данных, микроорганизмы, адаптированные к субстратному голоду, игнорируют органику. Более того, присутствие в воде глюкозы в физиологических концентрациях подавляет жизнеспособность всей популяции. По аналогии с эффектом Пастера, этот эффект можно интерпретировать так, что адаптированные к голоду клетки переходят на еще более примитивный источник углерода, в данном случае на CO_2. Но такое возможно лишь при наличии автономного источника свободной энергии, каковым выступает внешнее электромагнитное поле. Очевидно, что как и в предыдущем примере, утилизация CO_2 органотрофами также требует иного набора ферментов.

Источник энергии для фототрофов и рассматриваемый здесь источник эквивалентны с точки зрения физики: оба представляют собой электромагнитные волны, отличающиеся лишь по длине. Естественно предположить, что первичные микроорганизмы, которые образовались на Земле, использовали этот электромагнитный диапазон волн в качестве источника энергии. Данное предположение основано на анализе результатов, представленных в Гл. 4. Действительно, поскольку в грозовом облаке с его интенсивной электромагнитной активностью теоретически возможно образование сложных макромолекулярных компартментов, которые можно рассматривать как предтечи бактериальных клеток, то логично предположить, что в процессе трансформации их в самовоспроизводящиеся микроорганизмы источником энергии для них будет тот же электромагнитный канал. Переход на фотосинтез, то есть на использование более эффективного источника энергии,

так как в одном кванте видимого диапазона содержится на 6-7 порядков больше энергии, чем в электромагнитном кванте радиодиапазона, это результат прогрессивной эволюции.

Спецификой данной монографии является то, что в ней представлены данные биологических и физических экспериментов и проводится параллельный анализ их, как с точки зрения биолога, так и с точки зрения физика. Такой анализ оказался весьма конструктивным. Действительно, односторонние интерпретации биологических экспериментов, в которых проявлялись фрактальные свойства популяций водных суспензий микроорганизмов, и физических экспериментов о динамике воды наталкивались на необходимость введения дополнительных гипотез. При совместной же их интерпретация в рамках представленной в работе модели, этого не требуется. Более того, данные биологических и физических экспериментов дополняют друг друга не только качественно, но в ряде случаев и количественно.

Одним из фундаментальных следствий разработанной автором модели является аналитическое соотношение (2.2.22), связывающее трансмембранный потенциал водных микроорганизмов и физико-химические свойства воды. В этой формуле две свободные переменные – концентрация протонов и температура. При температуре воды $T\approx300^{o}K$ и нейтральном $pH\approx7$, соответствующих оптимальным значениям этих параметров для нормальной жизнедеятельности неэкстремофильной микрофлоры, потенциал, согласно формуле (2.2.22), составляет $\varphi\approx0.1V$, что количественно соответствует трансмембранному потенциалу водных микроорганизмов. По мнению автора, это соответствие как нельзя лучше иллюстрирует философское высказывание Сент-Дьерди о том, что «*вода – матрица жизни*».

Список числовых констант

1. Авогадро число - $N_o=6.023\times10^{23}$
2. Больцмана постоянная - $k=1.38\times10^{-16}$ эрг/град
3. Водородной связи энергия - $U_H=4.2\times10^{-13}$ эрг
4. Воды динамическая вязкость - $\eta=1$ спуаз

5. Воды диэлектрическая проницаемость - ε=80
6. Воды молярный объем - V_o=18 см^3
7. Глицина дипольный момент – d=15.0 D = 3.6×10^{-17} (CGSE)
8. Диффузии коэффициент CO_2 в воде - D=1.5×10^{-5} см^2/сек
9. Протона заряд - q=4.8×10^{-10} (CGSE)
10. Протона масса - m=1.7×10^{-24} г
11. Протона радиус - r_H = 1.8 ×10^{-8}см (взято среднее значение из данных Полинга 2.08×10^{-8} см и Гольдшмидта 1.54×10^{-8} см – см. Краткий физико-хим. справ. 1965)

Список философских определений

Парадигма (*Παραδειγμα* – пример, образец) в интерпретации Куна (Кун Т. Структура научных революций. Перевод с англ. М., 1975, с. 11) – **признанное всеми научное достижение, которое в течение определенного времени дает модель постановки проблем и их решений научному сообществу**.

Понятие – мысль, отражающая в обобщенной форме предметы и явления действительности и существенные связи между ними посредством фиксации общих и специфических признаков, в качестве которых выступают свойства предметов и явлений и отношения между ними.

Категория (от греч. *Χατηγορία* – высказывание, обвинение; признак) **в философии – общие, фундаментальные понятия, отражающие наиболее существенные, закономерные связи и отношения реальной действительности и познания.**

Термин (от лат. *Terminus* – граница, предел, конец) – **имя (слово или словосочетание) с оттенком специального его значения, уточняемого в контексте какой-либо теории или отрасли знания, но относительно независимого от контекста отдельного высказывания (Фил. энц. словарь, 1989).**

Список литературы

1. Аветисов В.А., Гольданский В.И. Физические аспекты нарушения зеркальной симметрии биоорганического мира. //Успехи физич. наук.- 1996.- Т. 166, № 8.- С. 873-891.
2. Арзамасцев А.А. Природа оптимальности кода ДНК. //Биофизика. - 1997. – Т. 42. – С. 611-614.
3. Аркадьева З.А., Выборных С.Н., Лория Ж.К.,. Жизнеспособность клеток *Serratia marcescens* при длительном хранении в дистиллированной воде. //Биол. науки.- 1987.- № 2.- С. 85-87.
4. Арцимович Л.А., Сагдеев Р.З. Физика плазмы для физиков.- М.: Атомиздат., 1979.- 317 с.
5. Баблоянц А.. Молекулы, динамика и жизнь.- М.: Мир, 1990.- 373 с.
6. Баранов А.Н., Салецкий А.М. и др. Фотофизические процессы в водных системах. Роль структуры воды. //Физ. Мысль России.- 1995.- № 3.- С. 27-39.
7. Белов А.А., Конюхов В.К., и др. Определение диэлектрической проницаемости спин-модифицированной воды. //Кратк. сообщ. по физике ФИАН.- 1996.- № 3-4.- С. 46-51.
8. Березовский В.А., Колотилов Н.Н. Биофизические характеристики тканей человека.- Киев: Наукова думка, 1990.- 224 с.
9. Бузолева Л.С. Адаптация патогенным бактерий к абиотическим факторам окружающей среды: Дис. докт. биол. наук. - Владивосток.- 2001.- 293 с.
10. Вайнштейн М.Б., Сузина Н.Е., Кудряшова Е.Б., Арискина Е.В., Сорокин В.В. К разнообразию магнитоактивных бактерий. //Микробиология.-1998.-Т. 67, № 6.- С. 807-814.
11. Вахитов Т.Я. Ауторегуляция выживаемости в процессе голодания культур *Escherichia coli* М-17.: Автореф. дис. канд. биол. наук.- Санкт-Петербург.- 1993.- 18 с.
12. Герхард Ф. Методы общей бактериологии. - М.: Мир, 1983.
13. Головлев Е.Л. Может ли быть то, чего быть не может. //Биофизика.- 1998.- Т.43, вып.4.- С. 751-752.
14. Головлев Е.Л., Другое состояние неспорулирующих бактерий. //Микробиология. -1998.-Т. 67, №6.- С. 725 – 735.

15. Гроверт Г., Людерс Г., Рольник Г. Теорема CPT и ее применение. Обзор. //Успехи физич. наук.- 1960. -Т. 71.- С. 289-325.
16. Гуревич А.В., Зыбин К.П., Пробой на убегающих электронах и электрические разряды во время грозы. //Успехи физич. наук.- 2001.-Т. 171, № 11.- С. 1177-1199.
17. Гусев В.А. Разработка метода локализованного мутагенеза по местам связывания ДНК-белок: Дис. канд. биол. наук.- Новосибирск. 1985.- 137 с.
18. Гусев В.А., Пугачев В.Г., Бобровская Н.И. Макроскопические флуктуации числа жизнеспособных клеток *E.coli.* //Микробиологические исследования в Западной Сибири. - Новосибирск: Наука, 1989.- С. 59 - 63.
19. Гусев В.А., Евдокимов Е.В., Бобровская Н.И. Отклонение от распределения Пуассона в ряду идентичных проб культуры *E.coli.* //Биофизика. - 1992.-Т. 37, вып. 4.- С. 733-737.
20. Гусев В.А. Эволюции микробной популяции клеток в условиях полного субстратного голода. //Динамика микробных популяций. - Новосибирск: Наука, 1993.- С.176 - 205.
21. Гусев В.А., Орлов В.А., Панов С.В. Амплификация гетеротрофных микроорганизмов в условиях отсутствия органического субстрата. //Биофизика. - 1998.- Т.43, вып.4.- С.745-750.
22. Гутина В.Н., Кузьмин В.В. Теория молекулярной диссимметрии Л. Пастера. - М.: Наука, 1990.- 215 с.
23. Дарвин Ч. (первое издание в 1872 г.). Происхождение видов путем естественного отбора.- С-Петербург: Наука, 1991.- 358 с.
24. Дирак П.А.М. К созданию квантовой теории поля.- М.: Наука, 1994.- 307 с.
25. Дуплий Д.Р., Дуплий С.А. Анализ симметрий генетического кода и степень детерминированности кодонов. //Биофиз. бюлл. Харьковского универ. - 2000. – Т. 488. С. 1-11.
26. Дэвид Р. Введение в биофизику.- М.: Мир, 1982.- 207 с.
27. Дэгли С., Никольсон Д. Метаболические пути.- М.: Мир, 1973.- 310 с.
28. Дятлов В.Л. Поляризационная модель неоднородного физического вакуума. Новосибирск: Изд. ИМ СО РАН, 1998.- 184 с.
29. Елин В.Л. К вопросу о биологии кишечной палочки. //Микробиол. - 1957.- Т.XXVI, вып.1.- С.17-21.
30. Зацепина Г.Н. Физические свойства и структура воды.- М.: МГУ, 1998.-183с.

31. Зельманов А.А. Бесконечность и Вселенная. – М.: Мысль, 1969. – С. 274.
32. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.- М.: Мир, 1987.- 584 с.
33. Кагава Я. Биомембраны.- М.: Высшая школа, 1985.- 303 с.
34. Калашников С.Г. Электричество.- М.: Наука, 1977.- 591 с.
35. Калиненко В.О. Размножение гетеротрофных бактерий в дистиллированной воде. //Микробиол.- 1957.- Т.XXVI, вып. 2.- С. 148 - 153.
36. Кальве Э., Прат А. Микрокалориметрия.- М.: ИЛ, 1963.- 477 с.
37. Кальвин М. Химическая эволюция.- М.: Мир, 1971.- 240 с.
38. Каппуччинелли П. Подвижность живых клеток. -М.: Мир, 1982.- 126 с.
39. Кизель В.А. Физические причины диссимметрии живых систем.- М.: Наука, 1985.- 119 с.
40. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности.- М.: Мир, 1985.- 398 с.
41. Классен В.И. Омагничивание водных систем.- М.: Химия, 1982.- 238 с.
42. Корнберг А. Синтез ДНК. - М.: Мир, 1977.- 359 с.
43. Красиков Н.Н., Коекин В.К., Слюсарь И.В. Биологическая активация воды, выполняемая бесконтактно электрическим полем. //Биофизика.- 1994.- Т. 39, вып. 5.- С. 923-926.
44. Красиков Н.Н. Электрополевая активация воды. //Электротехника.- 1996.- №4.-С. 57-59.
45. Краткий справочник физико-химических величин.- М.-Л: изд. Химия, 1965.
46. Лаврентьев М.М., Гусев В.А. и др. О регистрации истинного положения солнца. //Докл. АН СССР.- 1990.- Т.315.-С. 368 - 371.
47. Ландау Л.Д., Лифшиц И.М. Теоретическая физика. Механика, Электродинамика. - М.: Наука, 1988.- Т.1-2.
48. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Гидродинамика.- М.: Наука, 1986.- Т. 6.
49. Левич В.Г. Курс теоретической физики. -М.: Наука, 1969.- Т. 1.
50. Либерман Е.А. Молекулярная вычислительная машина клетки (МВМ). Общие соображения и гипотезы // Биофизика. - 1972. -Т.17. -N.5. -С.932-943.
51. Либерман Е.А. Изучение диффузионной моделирующей системы молекулярной вычислительной машины нейрона. //Биофизика. – 1980. – № 3. – С.455–461;

52. Либерман Е.А. Квантовый биокомпьютер. //Биофизика. – 1990. – № 1. – С.132–135.
53. Либерман Е.А. http://www.iitp.ru/personal/Efim_Liberman/int_r.html
54. Линде А.Д. Физика элементарных частиц и инфляционная космология.- М.: Наука, 1990.- 275 с.
55. Ли Цзян-дао. Слабые взаимодействия и несохранение четности. //Успехи физич. наук.- 1958.- Т. LXYI, вып. 1.- С. 89-97.
56. Лобышев В.И., Рыжиков Б.Д., Шихлинская Р.Э. Спонтанные и индуцированные внешними электромагнитными полями долговременные переходные процессы в разбавленных водных растворах глицилтриптофана и воде. //Биофизика. -1998.-Т. 43, вып. 4.- С. 710-715.
57. Математическая энциклопедия.- М.: Сов. энцикл., 1977.
58. Мецлер Д. Биохимия.- М.: Мир, 1980.
59. Минина С.В., Либерман Е.А. Входные и выходные каналы квантового компьютера. //Биофизика. - 1990. – Т. 35. С. 132-135.
60. Минкин В.И., Олехнович Л.П., Жданов Ю.А. Молекулярный дизайн таутомерных систем.- Ростов н/Д, 1977.
61. Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах. - М.: Мир, 1981. – 215 с.
62. Мухин К.Н., Тихонов В.Н. Старая и новая экзотика в мире элементарных частиц. //Успехи физич. наук.- 2001.- Т.171, вып. 11.- С. 1201- 1251.
63. Мухин Л. Планеты и жизнь.- М.: Молодая гвардия, 1984.- 201 с.
64. Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах. М.: Мир, 1981. – 215 с.
65. Мясник М.Н. Динамика клеточной популяции бактерий при исчезающе малых количествах питательных веществ в среде. //II всесоюзное совещание «Управляемый биосинтез и биофизика популяций».- Красноярск, 1969.- С. 287 - 288.
66. Николис Г., Пригожин И.. Самоорганизация в неравновесных системах.- М.: Мир, 1979.- 512 с.
67. Олемской А.И., Флат А.Я. Использование концепции фрактала в физике конденсированной среды. //Успехи физич. наук. - 1993.-Т.163, №12.- С. 1-50.
68. Опарин А.И. Происхождение жизни.- М.: Моск. Рабочий, 1924.- 48 с.

69. Пармон В.Н. Естественный отбор в гомогенной системе с невзаимодействующими «популяциями» автокатализаторов. //Докл. акад. наук. - 2001.-Т. 377, № 4.- С. 510-515.
70. Пармон В.Н. Физико-химические движущие силы и направление естественного отбора и эволюции пребиотических автокаталитических систем. //Ж. физич. химии. -2002.-Т. 76, № 1.- С. 149-158.
71. Петренко В.А., Гусев В.А., Семенова Л.Н. Инактивация и мутагенез фага лямбда под действием О-метилгидроксиламина и О-бета-аминооксибутилгидроксиламина //Молекул. биология.- 1982. - Т. 16, вып. 3.- С. 637-642.
72. Пиментел Дж., Мак-Клеллан О. Водородная связь. – М.: Мир, 1964. – 462 с.
73. Пономарев О.А., Фесенко Е.Е. Свойства жидкой воды в электрических и магнитных полях. //Биофизика.- 2000.-Т.45, вып. 2.-С. 389-398.
74. Пригожин И. От существующего к возникающему.- М.: Наука, 1985.- 327 с.
75. Пригожин И., Сэнгерс И. Порядок из хаоса.- М.: Прогресс, 1986.- 431 с.
76. Розенталь И.Л. Элементарные частицы и структура Вселенной. М.: Наука, 1984.- 113 с.
77. Розенталь И.Л. Геометрия, динамика, Вселенная.- М.: Наука, 1987.- 145 с.
78. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л.Есть ли сходство в механизмах образования «некультивируемых форм» у грамотрицательных бактерий и спор у бацилл? //Мол. генетика, микробиол. и вирусология- 1993.- № 6.-С. 34-37.
79. Румер Ю.Б. О систематизации кодонов и генетическом коде. //Докл. АН СССР.- 1966.- Т.167, № 6.- С. 1393-1395.
80. Румер Ю.Б. Систематизация кодонов в генетическом коде. *Докл. АН СССР*. - 1968. – Т. 183. С. 225-226.
81. Синюков В.В. Вода – известная и неизвестная.- М.: Знание, 1987. - 68 с.
82. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран.- М.: Наука, 1989.- 564 с.
83. Смирнов Б.М. Физика фрактальных кластеров.- М.: Наука, 1991.- 135 с.
84. Стент Г., Кэлиндер Р. Молекулярная генетика. -М.: Мир, 1981.- 646 с.
85. Стругацкие Аркадий и Борис. За миллиард лет до конца света. – М.: Знание-Сила, 1976. - № 9 – 12.
86. Тихонов А.Н. Молекулярные моторы. //Соросовский образовательный журнал.- 1999.- № 6.-С. 8 – 24.
87. Федер Е. Фракталы. М.: Мир, 1991.- 260 с.

88. Фейнман Р., Лэйтон Р., Сэндс М. Фейнмановские лекции по физике. М.: Мир, 1966.- Т.5. - 296 с.
89. Фесенко Е.Е., Терпугов Е.Л. О необычных спектральных свойствах воды в тонком слое. //Биофизика.- 1999.- Т. 44, вып. 1.-С. 5-9.
90. Физика космоса (маленькая энциклопедия). -М.: Сов. энцикл., 1986.
91. Физическая энциклопедия.- М.: Сов. энцикл., 1990.
92. Философская энциклопедия.- М.: Сов. энцикл., 1960.
93. Философский энциклопедический словарь.- М.: Сов. энцикл., 1989.
94. Фокс С., Дозе К. Молекулярная эволюция и возникновение жизни.- М.: Мир, 1975.- 374 с.
95. Химическая энциклопедия.- М.: Сов. энцикл., 1988.
96. Хойл Ф., Викрамасингх Ч. Кометы – средство передвижения в теории панспермии. //Кометы и происхождение жизни. - М.: Мир, 1984.- С. 211-219
97. Чернощеков К.А., Лепехин А.В. О жизнедеятельности энтеробактерий в водной среде при отсутствии источников органического питания. //Ж. микробиол., эпидимол. и иммунол.- 1992. - №9-10.-С. 21-24.
98. Шноль С.Э., Коломбет В.А., Пожарский Э.В., Зенченко Т.А., Зверева И.М., Кондратов А.А. //Успехи физич. наук.- 1998.- Т.168.-С.1129-1140.
99. Шустер Г. Детерминированный хаос. - М.: Мир, 1988.- 240 с.
100. Шредингер Э. Что такое жизнь? -М.: Атомиздат., 1972.- 88 с.
101. Щербак В.И. Математическая модель универсального генетического кода: Дис. канд. физ.-мат. наук.- Алматы.- 1995. -132 с.
102. Эйген М., Шустер П. Гиперцикл (принципы самоорганизации макромолекул).- М.: Мир, 1982.- 270 с.
103. Эллиот Дж., Добер П. Симметрия в физике. – М.: Мир, 1983. – 774 с.
104. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. /Под ред. Арчакова А.И. и др.- М.: Изд. Биомедицинской химии РАМН, 1999.- 373 с.
105. Янг Чжень-нин. Закон сохранения четности и другие симметрии. //Успехи физич. наук.- 1958.- Т. LXYI, вып. 1.- С. 79-87.
106. Abelson P.H., Hoering T.C. Carbon Isotop Fractionation in Formation of Amino Acids by Photosynthetic Organism. //Proc. Natl. Acad. Sci. - 1961.- Vol.47.- P. 623-632.
107. Alberti S. The origin of genetic cod and protein synthesis. *J. Mol. Evol.* - 1997. – Vol. 45. – P. 352-358.

108. Alberti S. Evolution of the genetic code, protein synthesis and nucleic acid replication. //Cell Mol. Life Sci. - 1999. – Vol. 56. – P. 85-93.

109. Aldana M., Cazarez-Bush F., Cocho G. & Martinez-Mekler G. Primordial synthesis machines and the origin of genetic code. //Physica A. - 1998. – Vol. 257. – P. 119-127.

110. Aldana-Gonzales M., Cocho G., Larralde H. & Martinez-Mekler G. //J. theor. Biol. - 2003. – Vol. 220. – P. 27-45.

111. Allee W. C.. Animal Aggregations. A Study in General Sociology. Chicago: University of Chicago Press. populations. //J. Anim. Ecol. – 1931. - Vol. 44.- P. 283–295.

112. ALH84001 Recent Scientific papers. URL. 2000. http://cass.jsc.nasa.gov/lpi/meteorites/alhnpap.html

113. Amirnovin R. An analysis of the metabolic theory of the origin of the genetic code. //J. Mol. Evol. -1997. - Vol. 44. – P. 473-476.

114. Andrew M., Woodward and Douglas B. Kell. On the nonlinear dielectric properties of biological systems *Saccharomyces cerevisiae.* //Bioelectrochemistry and Bioenergetics.- 1990. – Vol. 24.- P. 83-100 A section of *J. Electroanal. Chem.,* and constituting Vol. 299. Elsevier Sequoia S.A., Lausanne.

115. Arrhenius S. Worlds in the Making. - Press Harper and Bros, 1907. (Цит. по Хойл, Викрамасингх, 1984).

116. Ardell D.H. On Error Minimization in a Sequential Origin of the Standard Genetic Code. //J. Mol. Evol. - 1998. – Vol. 47. – P. 1-13.

117. Ardell D.H., Sella G. On the Evolution of Redundancy in Genetic Codes. //J. Mol. Evol. - 2001. – Vol. 53. – P. 269-281.

118. Ardell D.H., Sella G. No accident: genetic codes freeze in error-correcting patterns of the standard genetic code. //Fhil. Trans. R. Soc. Lond. B. DOI 10.1098/rstb. 2002. 1071.

119. Arrhenius G. Life out of Chaos. //Fundamentals of Life. /Ed. by G. Palyi, C.Zucchi, L.Cagliotti eds.- Paris.: Elsevier, 2001.

120. Astrobiology News, 2000. http://nai.arc.nasa.gov/index.cfm?page=ganymede

121. Bagayev S.N., Gusev V.A., Orlov V.A., Panov S.V. //Book of Abstracts The International Conference on Nonlinear Dynamics and Chaos. Applications in Physics and Medicine. Saratov, Russia, July 8-14 1996.- 1996.- P.197.

122. Bagayev S.N., Gusev V.A., Orlov V.A., Panov S.V. Spatial and Temporal Self-organization of Bacterial Population. //International Journal of Bifurcation and Chaos.- 1998.- Vol. 8, № 5.- P.595-600.

123. Bagayev S.N., Gusev V.A., Orlov V.A., Panov S.V. Study of Dynamic Peculiarities of Motility of Some Species of Microorganisms by Quasi-Elastic Light Scattering. //Proceeding of SPIE.- 1998.- Vol. 3251.- P. 267-272.

124. Bagayev S.N., Gusev V.A., et. al. Precision Light Scattering Spectroscopy for Study Determinate Movement of Biological Objects. //Proceeding of SPIE. - 1999. -Vol. 3732.- P. 196-201.

125. Balasubramanian R., Seetharamulu P., Raghunathan G. A conformational rational for the origin of the mechanism of nucleic acid-directed protein synthesis of 'living' organisms. //Origins Life. - 1980. – Vol. 10. – P. 15-30.

126. Barbiery M. The Ribotype Theory on the Origin of Life. //J. Theor. Biol.- 1981. -Vol. 91. - P. 545-601.

127. Berg H.C., Torque Generation by the Flogellar Rotary Motor. //Bioph. Journal.- 1995. -Vol. 68. - P.163s – 167s.

128. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. - London, 1984. - Vol. 1; 1986. - Vol. 2. (Русск. сокращен. изд: Хоулт Д., Краткий определитель бактерий Берги. М.: Мир, 1980. 496 с.).

129. Bernal J.D., Fowler R.H. //J. Chem. Phys. -1933.- Vol.1.-P.515.

130. Bernal J.D. The Origin of Life. /Ed. Weidenfeld and Nicolson, London, 1967. (Русск. изд.: Бернал Дж. Возникновение Жизни, М.: Мир, 1969.)

131. Boulay Jean-Yves. Numeric connections of the genetic code. http://perso.wanadoo.fr/jean-yves.boulay/rap/eng.htm

132. Buvet R. Could the biochemical metabolism be different? Origin of Life. By ed. Y. Wolman. Copyright @ by Reidal Publishing Company, 1981, pp. 589-599.

133. Carr B.J., Rees M.Y. The anthropic principle and the structure of the physical world. //Nature -1979.-Vol. 278.- P. 605-612.

134. Conrad M. and Zauner K.-P. Conformation-driven computing: a comparison of designs based on DNA, RNA, and protein. //Supramolecular Science. - 1998. – Vol. 5. P. 787-790.

135. Cho C.H., Singh S. & Robinson G.W. An Explanation of the Density Maximum in Water. //Phys. Rev. Letter. -1996.-Vol. 76, N10.- P. 1651-1654.

136. Chyba Ch., McDonald G. The origin of life in the Solar system: Current Issues. //Annu. Rev. Earth Plenet: Sci.- 1995.-Vol. 23.-P. 215-249.

137. Chyba, Ch. F., at al. Radar Detectability of a Subsurface Ocean on Europa. //Icarus.- 1998.- Vol. 134.-P. 292-302.

138. Chyba Ch. F. Energy for microbial life on Europa. //Nature. 2000.-Vol.403.-P. 381-382.

139. Crick F.H.C. The origin of genetic code. //J. Mol. Biol. 1968. – Vol. 38. – P. 367-379.

140. Danckwerts H.J., Neubert D. Symmetries of genetic code-doublets. //J. Mol. Evol. - 1975. – Vol. 5. P. 327-332.

141. Davenas E., Benveniste J. at al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. //Nature.- 1988.- Vol. 333.- P.816-818 and (http://www.digibio.com/).

142. Di Guilio M. The β-sheets of proteins, the biothyntetic relation-ships between amino acids, and the origin of the genetic code. //Origin Life Evol. Bioph. -1996. – Vol. 26. – P. 589-609.

143. Di Guilio M. On the origin of genetic code. //J. theor. Biol. - 1997. – Vol. 191**.** **–** P. 573-581.

144. Di Guilio M. & Medugno M. The historical factor: the biosynthetic relationships between amino acids and their physicochemical properties in the origin of the genetic code. //J. Mol. Evol. - 1998. – Vol. 46. – P. 615-621.

145. Dixit, S., Crain, J., et al. Molecular segregation observed in a concentrated alcohol–water solution //Nature. - 2002.-Vol. 416.-P. 829 – 832.

146. doi:10.1006/jtbi.2001.2486, available online at http://www.idealibrary.com on

147. Duplij D., Duplij S. Determinative degree and nucleotide content of DNA strands. //Biophys. Bull. - 2000). – Vol. 497. P. 1**-7.**

148. Gamow G. Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structures. //Nature. - 1954. – Vol. 13. – P. 318.

149. Gough A., Attwell R.W., Hardy D.F.D. and Caldwell, R. Microbial contamination in ultrapure water. //Solid State Technology. –1986. – V. 29. – P. 139-142.

150. Grantham R. Amino acid difference formula to help explain protein evolution. //Science. - 1974. – Vol. 185. - P. 862-864.

151. Gusev V.A., Bagayev S.N., Orlov V.A., Panov S.V. Multiplication of living systems in the absence of molecular carriers of free energy. //Book of Abstracts 11th International Conference on the Origin of Life. Orleans, France, July 7-12 1996.- 1996.- P.107.

152. Gusev, V.A. Survival and Multiplication of Heterotrophs in the Absence of Organic Substratum. Frontiers of Life. //Book abstracts 12-emes Rencontres de Blois, Château de Blois, France, June 25 – July 1 2000. - 2000-P. 39.

153. Gusev, V.A. Multiplication of Heterotrophs in the Absence of Organic Substratum. BDENE (Biodiversity and Dynamics of Ecosystems in North Eurasia), Novosibirsk, Russia, August 21-26 2000. IC&G: Novosibirsk, 2000.- Vol.1.- P. 170-173.

154. Gusev V. Living Universe. Ch. IV-06, 2001. // Fundamental of Life./ Ed. Palyi G., Zucchi C. et. al.. Paris.: Elsevier, 2001.-P. 41-46, and http://www.geocities.com/awjmuller/pdf_files/LivingUniverse.pdf

155. Fitch W., Upper K. The phylogeny of RNA sequences provides evidence for ambiguity reduction in the origin of the genetic code. //Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. - 1987. – Vol. 52. – P. 759-767.

156. Fowler M.S., Ruxton G.D. Population Dynamic Consequences of Allee Effects. //J. Theor. Biol. – 2002.-Vol. 215.-P. 39–46.

157. Freeland S.J. & Laurence D.H. The genetic code is one in a million. //J. Mol. Evol. - 1998. – Vol. 47. – P. 238-248.

158. Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W. DNA repair and mutagenesis..: Washington: ASM Press, 1995.

159. Fundamental of Life /Ed. by G. Palyi, C.Zucchi, L.Cagliotti eds.- Paris: Elsevier, 2001.

160. Horowitz N.H.. To Utopia and Back: The Search for Life in the Solar System. /Ed. W.H. Freeman and Company. - NY, 1986 (Русск. изд. Хоровиц Н. Происхождение жизни в солнечной системе. М.: Мир, 1988.)

161. Ikehara K., Amada F., Yoshida S., Mikata Y. & Tanaka A. A possible origin of newly-born bacterial genes: significance of GC-rich nonstop frame on antisense strand. //Nucleic Acids Res. - 1996. – Vol. 24. – P. 4249-4255.

162. Ikehara K. A possible evolutionary pathway of the genetic code deduced from SNS hypothesis. //Viva Origino. - 1998. – Vol. 26. – P. 311-320.

163. Ikehara K., Omori Y., Arai R. & Hirose A. A novel theory on the genetic code: a GNC-SNS hypothesis. //J. Mol. Evol. - 2002. – Vol. 54. – P. 530-538.

164. Ikehara K. Origins of gene, genetic code, protein and life: comprehensive view of life systems from a GNC-SNS primitive genetic code hypothesis. //J. Biosc. - 2002. – Vol. 27. – P. 165-186.

165. Junck J.R. The genetic code as a periodic table. //J. Mol. Evol. - 1978. – Vol. 11. – P. 211-224.

166. Kayser W.V., Hickman K.C., Bond W.W., Favero M.S., and Carson L.A. Bacterial evaluation of an ultra-pure water distilling system. //Applied Microbiology.-1975. – Vol. 30. – P. 704-706.

167. Kulakov L.A., McAllister M.B., Ogden K.L., Larkin M.J. and O'Hanlon J.F. Analysis of bacteria contaminating ultrapure water in industrial systems. //Appl. Environ. Microbiology. – 2002. – Vol. 68. – P. 1548-1555.

168. Lacey J.C.Jr., Mullins D.W. Experimental studies related to the origin of the genetic code and the process of protein synthesis – a review. //Origin Life. -1983. – Vol. 13. – P. 3-42.

169. Lacey J.C.Jr., Wickramasinghe N.S.M.D., Cook G.W. Experimental studies on the origin of the genetic code and the process of protein synthesis: a review update. //Origin Life. Evol. Bioph. - 1992. – Vol. 22. – P. 243-275.

170. Lewin B. Genes. Oxford University Press, 1997.-1260 p.

171. Liberman E.A., Minina S.V., Shklovsky-Kordy N.E. //BioSystems. - 1989. – Vol. 22. – P. 135-. http://www.iitp.ru/personal/Efim_Liberman/int_r.html

172. Ling G.N. A Revolution in the Physiology of the Living Cell. Malabar, Florida: Krieger Publishing Company, 1992. 404 p.

173. Luria S.E., Delbruck M. //Genetics. -1943.-Vol. 28.-P. 491. (цит. по Стэнт, Кэлиндер 1981).

174. Maddox J. The genetic code by numbers. //Nature. - 1994. – Vol. 367. – P. 111.

175. Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms./Ed. By J. L. Kirschving, D.S. Jones, B.J. MacFadden. Plenum press New York and London, 1985. (Русск. перевод: Биогенный магнетит и магниторецепция./ Под ред. Дж. Киршвинка, Д. Джонса, Б. Мак-Фаддена. М.: Мир, 1989.- 2 т. -875 с.)

176. Matsuda N. et al. Gram-negative bacteria viable in ultrapure water: identification of bacteria isolated from ultrapure water and effect of temperature

on their behavior. //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 1996. – Vol. 5. – P. 279-289.

177. McAlister M.B., Kulakov L.A., O'Hanlon J.F., Larkin M.J. and Ogden K.L. Survival and nutritional requirements of three bacteria isolated from ultrapure water. //Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. – 2002. – Vol. 29. – P. 75-82.

178. McFeters G.A., Broadaway S.C., Pyle B.H. and Egozy Y. Distribution of bacteria within operating laboratory water purification systems. //Appl. Environ. Microbiology. – 1993. – Vol. 59. – P. 1410-1415.

179. Miller S.L. A production of amino acids under possible primitive earth condition. //Science.- 1953.- Vol. 117.-P. 528-529.

180. NAIR URL, 2001. http://web99.arc.nasa.gov/NAIRedesign/stories/doubts.cfm

181. Oliver J.D. Starvation in bacteria.- NY, 1993.

182. Negadi T. Cracking the genetic code(s) with a modular determinative degree: An Algebraic Approach. - 2002a. - PREPRINT LPTO/negadi/NoD3101/14/No01/ 2002.

183. Negadi T.. From the Schrodinger equation to the Genetic Code and Beyond. 24th meeting of the International Colloquim on Groop Theoretical Methods in Physics. – 2002b.- Paris, July 15-20.

184. Negadi T. On the Symmetries of the 16 Genetic Code-Doublets. -2003a.- PREPRINT LPTO/negadi/NoD3101/14/No02/ 2003.

185. Negadi T. Rumer's Transformation, in Biology, as the Negation, in Classic Logic. //Int. Journ. of Quant. Chem. - 2003b. – Vol. 94. P. 65-82.

186. Nicholson D.E. Пути метаболизма. Koch-Light Laboratories LTD. Colnbrook, Bucks, England. - 1968.

187. Nogami T., Ohto T., Kawaguchi O., Zaitsu Y. and Sasaki S. Estimation of bacterial contamination in ultrapure water: application of the anti-DNA antibody. //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 1996. – Vol. 5. – P. 279-289.

188. Palyi G., Zucchi C. and Hajdu C. Theories on the origin(s) of life. //Atti e Memorie Acc. Naz. Sci. Lett. Atti Modena, Ser.VIII.- 2000.- Vol. II.-P. 389-415.

189. Perera A.H. and Satterfield M.J. Micromasking of plasma etching due to bacteria: a yield detractor for ULSI. //IEEE Transactions on Semiconductor Manufacturing. –1996. – Vol. 9. – P. 577-580.

190. Saenger W. Structure and Dynamics of Water Surrounding Biomolecules. //Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.- 1987.-Vol. 16.-P. 93-114.

191. Sella G., Ardell D.H. The Impact of Message Mutation on the Fitness of a Genetic Code. //J. Mol. Evol. - 2002. – Vol. 54. – P. 638-651.

192. Shcherbak V.I. The co-operative symmetry of the genetic code. //J. theor. Biol. - 1988. – Vol. 132. P. 121-124.

193. Shcherbak V.I. The Rumer's rule and transformation in the context of the co-operative symmetry of the genetic code. //J. Theor. Biol.- 1989a.-Vol. 139.- P. 271-276.

194. Shcherbak V.I. Ways of wobble pairing are formalized with the co-operative symmetry of the genetic code. //J. Theor. Biol.- 1989b.-Vol. 139.- P. 277-281.

195. Shcherbak V.I. The "START" and "STOP" of the genetic code. Why exactly ATG and TAG, TAA? //J. theor. Biol. - 1989c. – Vol. 139. - P. 283-286.

196. Shcherbak V.I. The symmetrical architecture of the genetic code systematization principle. //J. theor. Biol. - 1993a. – Vol. 162. – P. 395-398.

197. Shcherbak V.I. Twenty canonical amino acids of the genetic code: the arithmetical regularities. Part I. //J. theor. Biol. - 1993b. – Vol. 162. – P. 399-401.

198. Shcherbak V.I. Sixty-four triplets and 20 canonical amino acides of the genetic code: the arithmetical regularities. Part II //J. Theor. Biol.- 1994.-Vol. 166.- P. 475-477.

199. shCherbak V. I. Arithmetic inside the universal genetic code. BioSystems. - 2003. – Vol. 70. – P. 187-209.

200. Shimizu M. Molecular basis for the genetic code. //J. Mol. Evol. - 1982. – Vol. 18. – P. 297-303.

201. Song Hi Lee. Preliminary Molecular Dynamics Simulations of the OSS2 Model for the Solvated Proton in Water. // Bull. Korean Chem. Soc. 2001, Vol. 22. P. 847-849.

202. Smith J.M. & Szathmary E. The major transitions in evolution. - Oxford University Press. Oxford, New York, Tokyo, 1995.

203. Stillinger F.H. Water Revisited. //Science. – 1980. – Vol. 209. – P. 451-457.

204. Taylor F.J.R. & Coates D. The code within the codons. //BioSystems. - 1989. – Vol. 22. – P. 177-187.

205. Vess R.W., Anderson R.L., Carr J.H., Bond W.W. and Favero M.S. The colonization of solid PVC surfaces and the acquisition of resistance to germicides

by water microorganisms. //Journal of Applied Bacteriology. – 1993. – Vol. 74. – P. 215-221.

206. Wager S.C. and Skipper H.D. Long-term storage of Bradyrhizobia in sterile water. //Canadian Journal of Microbiology. – 1993. – Vol. 39. – P. 998-1001.

207. Wallqvist A., Astrand P.-O. Liquid densities and structural properties of molecular models of water. //J. Chem. Phys. - 1995.-Vol. 102, N16.- P. 6559-6565.

208. Warshel A., Papazyan A. Energy considerations show that low-barrier hydrogen bonds do not offer a catalytic advantage over ordinary hydrogen bonds. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA.- 1996.-Vol. 93.- P. 13665-13670.

209. Watson J.D. & Crick F.H.C. A structure for deoxyribose nucleic acid. //Nature. - 1953. – Vol. 171. – P. 737-738.

210. Weber A.L., Lacey J.C. Jr. Genetic code correlations: amino acids and their anticodon nucleotides. //J. Mol. Evol. - 1978. – Vol. 11. – P. 199-210.

211. Weber A.L. & Miller S.L. Reasons for the occurrence of the twenty coded protein amino acids. //J. Mol. Evol.- 1981.-Vol.17.-P. 915-928.

212. Woese C.R. On the origin of the genetic code. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1965. – Vol. 54. – P. 1546-1552. **Введение I**

213. Woese C.R., Dugre D.H., Dugre S.A., Kondo M., Sexinger W.C. On the fundamental nature and evolution of the genetic code. //Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. - 1966. – Vol. 31. – P. 723-736.

214. Woese C.R. The genetic code. Harper & Row, New York. - 1967.

215. Wong J.T. A co-evolution theory of the genetic code. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. -1975. – Vol. 72. – P. 1909-1912.

216. Wong J.T. Role of minimization of chemical distances between amino acids in the evolution of the genetic code. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1980. – Vol. **77.** Gusev Page 204 1/12/2012– P. 1083-1086.

217. Wong J.T. Evolution of the genetic code. //Microbial. Sci. - 1988. – Vol. 5. – P. 174-182.

218. Yarus M. Amino acids as RNA ligands: A direct-RNA-template theory for the code's origin. //J. Mol. Evol. - 1998. – Vol. 47. – P. 109-117.

219. Zauner K.-P. and Conrad M. Molecular approach to informal computing. Soft Computing. - 2001. – Vol. 5(1). – P. 39-44.