

ОТ ОБРАЗУВАНЕТО НА ЗЕМЯТА ДО УСТАНОВЯВАНЕТО НА ЛУКА

Доц. д.п.н. Здравка Костова

Софийски университет „Св. Климент Охридски“

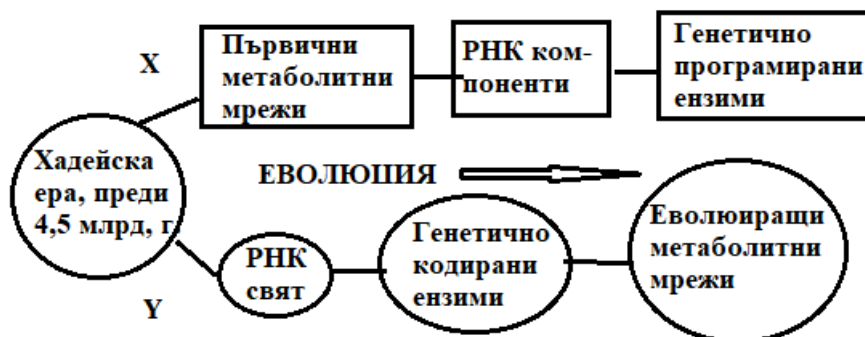
Резюме. Обсъждат се последователните етапи в еволюцията на живота до утвърждаването на прокариотната клетка, поставяйки акцент на преходите от предбиотична среда към органични предшественици, пре-РНК-РНК, РНП-протеини-ДНК, ДНК-ЛУКА. Те са спрегнати с развитие на предбиотични структурни предшественици на клетка – мицели, везикули, протоклетки, праклетки, два клона прокариоти. Движеща сила е естественият отбор (химичен, биохимичен и биологичен), поддържащ съответствието между възникващите структури и тяхната среда.

Ключови думи: предбиотична среда; полимеризация; еволюционни преходи; биоенергетични процеси; редокс потенциал

С развитието на природните науки и технологии и с по-дълбокото навлизане в биологията на съвременните организми изследванията върху появата на живота бележат нови успехи на експериментално и теоретично равнище. Изучаването на съвременните биологични, физични, химични, геологични, географски и астрономически процеси ни дава представа за аналогични процеси в далечното минало (принцип на актуализма на Чарлз Лайел). Тези знания и резултатите от целенасочени експериментални изследвания в симулирана предбиотична среда спомагат за реконструиране на процеси и структури през минали геологични времена, макар да няма пълна аналогия поради хода на историческото развитие на Земята.

От гледна точка на еволюцията на живота, времето от образуването на Земята до появата и утвърждаването на ЛУКА (последният универсален общ прародител на всички организми) преди 3,5 милиарда години, можем условно да разделим на няколко преходни етапа: геохимичен и предбиотичен, предрибонуклеинов и рибонуклеинов (РНК и РНК), рибонуклеопротеинов (РНП), дезоксирибонуклеинов (ДНК) и праклетъчен (ЛУКА). Всеки следващ етап запазва някои елементи от предишния, други променя, но добавя и нови. Това време обхваща около един милиард години (хадейска ера: 4,6 – 4 млрд. г. и част от архайска: 4 млрд. г. – 2,5 млрд. г.). на интензивни енергетични реак-

ции, движели еволюцията от неживи системи (биомолекули, биополимери) през компартментализация, саморепликация, метаболизъм, мутация и отбор до живи системи с динамична кинетична стабилност. Няма категорични отговори на въпроса „Кой е пътят от неживата към живата материя?“ (фиг.1)



Фигура 1. Непознатият път на метаболизма (Luisi 2014)

Първичност на метаболизма. Примитивни метаболитни цикли възникват спонтанно от прости предбиологични органични вещества или неорганични източници на въглерод. Образуват се сложни молекули за процесите на репликация и се конструира генетичният материал.

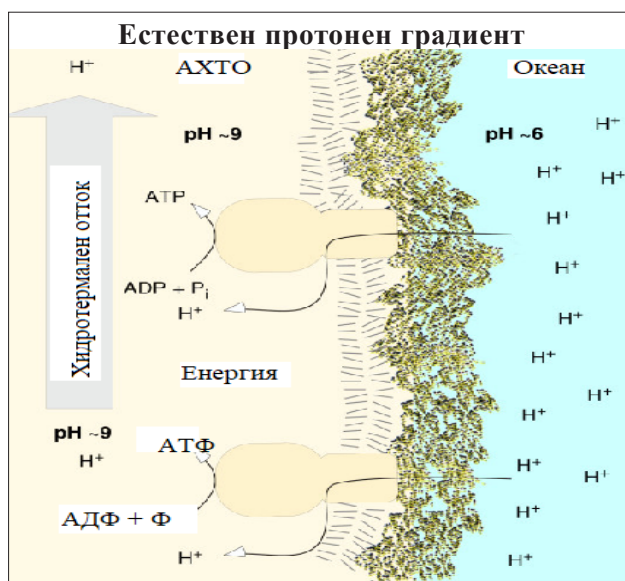
Първичност на гените. Полимер, носещ информация и способен на саморепликация, възниква спонтанно от предбиотични молекули. По-късно възниква метаболизмът като средство за получаване на енергия от околната среда по контролиран начин.

„Животът е овладяването на химическата енергия по такъв начин, че устройството за впрягане на енергия може да прави свое копие“ (Sousa et al. 2013), т.е. наследственост и термодинамика (Ервин Шрьодингер).

Геохимичен и предбиотичен етап. Обхваща процесите от образуването на Земята като планета до появата на реплицираща се молекула, предшественик на РНК. Характеризира се със създаване на необходимите условия за поява на жива материя: динамична земната кора, подложена на нагъвателни процеси, обстрелвана от астероиди и други небесни тела; високи температури, вулканични изригвания, изпарение и втечняване на водни пари, образуване на океани и суша и кръговрат на водата. Три геосфери – литосфера, хидросфера и атмосфера, твърде различни по състав от днешните. В пукнатини на дъното на океаните, където тектонските плочи се разделят, в резултат на вулканични изригвания се образуват алкални хидротермални отвори или отдушници (АХТО). Прегрялата вода с разтворени минерали при излизане от отдушниците се среща със студената морска вода. Минералите (сяра, метални сулфиди, силициеви окиси и други) в нея

се утаяват около отворите под формата на цилиндрични конструкции – комини. Утайките се наслагват и образуват минерални компартменти като стекове един над друг. Комините нарастват, някои достигат до 60 метра височина и създават условия за интензивни екзергонични реакции. Активният неизчерпаем процес на серпентинизация (1 m^3 дава 500 mol H_2) доставя H_2 – силен редуциращ фактор, донор на електрони, който с добри акцептори (Fe (III) , FeS , S , CO , CO_2 , NO/NO_2) става достъпен и непрекъснат източник на енергия. Създава се високореактивна среда с химично неравновесие, което възниква от контакта между редуциращия отток, съдържащ H_2 и по-окислената океанска вода, богата на CO_2 и разтворено желязо. Това неравновесие в предбиотичната химия е било много по-голямо от днес поради по-високата концентрация на CO_2 в атмосферата (Kostova 2021).

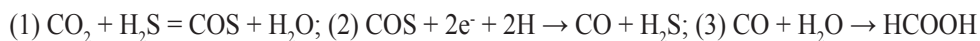
В АХТО се създават градиенти на редокс потенциал (в оттока преобладават отрицателни йони, а в океанската вода – положителни йони, предимно H^+), на температура ($\sim 50\sim 125^\circ\text{C}$) и на pH ($\sim 9\sim 6$) (фиг. 2). В тези термодинамично контролирани условия редуцирането на CO_2 и органичният синтез осигуряват натрупване на устойчиви продукти. Неорганичните стени на компартментите от преходни метали и техни сулфиди действат като катализатори и като порести прегради с външната среда. Те изпълняват ролята на естествени протомембрани за поддържане на концентрации от вещества и йони, необходими за автокатализа и саморегулация, характеризиращи живите системи.



Фигура 2. Използване на енергията на естествените редокс потенциал градиенти в АХТО (Martin 2011, 6)

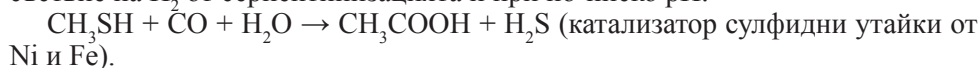
Образуване на малки органични молекули чрез абиотичен синтез. Първите биологични молекули възникват чрез метално базирана катализа върху кристалната повърхност на минералите в АХТО: метан, формиат, формалдехид, метанол, тиоформалдехид, метантиол, карбонови киселини и други. Появяват се системи на изграждане и разграждане на молекули: глина-зависима, пирит-зависима, цинк свят, сяра свят, железен свят, РНК свят (Lane 2015; Martin & Russell 2006). Те се извършват в предбиотични структури, предшествашки клетката – естествени компартменти, микрокапки, мицели, везикули, микросфери. Учените спорят за мястото на възникване на живота (плитки топли водни басейни или дълбините на океана), за използваната енергия (ултравиолетови лъчи, светкавици или протонен градиент), за характера на първоначалния метаболизъм (автотрофен или хетеротрофен). Не може да се отрече, че „първичната супа“ е резултат от извънземни (космически) източници и земен (ендогенен) синтез. Аминокиселините (АК) глицин, аланин и глутаминова киселина са открити в метеорити, което доказва, че могат да се синтезират без рибозоми. В метеоритите обаче не са открити протеини и нуклеинови киселини, което показва, че те са синтезирани първоначално на Земята.

В компартментите на АХТО се образуват железно-серни мехурчета, в които става фиксиране на въглерода (редукция на окисленото състояние на въглеродните атоми и образуване на въглеродни връзки), който е присъствал в атмосферата и в океана като въглероден оксид (CO) и въглероден диоксид (CO₂). Началните реакции са катализирани от метални сулфиди (FeS): (1) редуциране на CO₂ до междинно съединение карбонил сулфид (COS); (2) редуциране на COS до CO; (3) хидриране на CO с източник на електрони от хидротермален водород и образуване на органичното съединение мравчена киселина (Hutton 2013).



Тези процеси, означавани като *метаболизъм, движен от пирит*, вероятно са се осъществявали от отрицателно заредени съставки върху положително заредена минерална повърхност. Фиксацията на CO₂ се е осъществявала при температура 50 – 125°C, високо съдържание на H₂, силно редукираща среда и утайки от FeS и NiS. Електрони за фиксацията на CO₂ са идвали от H₂S при синтеза на пирит (FeS₂). Реакцията е термодинамично благоприятна, при което се образува органична молекула с един въглероден атом, използвана като основа за абиотичен синтез на поредица от прости органични съединения.

Образуването на нова органична молекула с 2 въглеродни атома (оцетна киселина) се е осъществявало чрез редуциране на CO₂ до метантиол в присъствие на H₂ от серпентинизацията и при по-ниско pH.



В резултат се образуват прости органични молекули, необходими за синтез на липиди, аминокиселини и въглехидрати. Химичният отбор започва, когато органични и неорганични молекули са адсорбирани върху твърди минерални повърхности (железен пирит) и остават във физическа близост. Те спонтанно образуват молекулни автокаталитични асоциации, за да асимилират въглерод и да произвеждат по-сложни органични молекули като използват редокс потенциална енергия, наричана протон-двигателна сила (ПДС = PMS – proton-motive-force). Редокspotенциалът е количествен израз на афинитета на веществата към електроните. АХТО са действали като генератор на ацетат, който е в основата на геохимичния синтез на енергетично богати ацетилтиоестери и разкрива връзката между геохимия и биохимия. В железосерните мехурчета на компартментите са били налице CH_3SH , CO и COS , а спонтанното взаимодействие между тях е било термодинамично възможно и е създавало нови органични съединения – тиоестери.



В съвременните организми тиоестерите са задължителни междинни продукти в ключови жизнени процеси, свързани с използване и регенериране на АТФ. Те участват в синтеза на естери, липиди, пептиди, мастни киселини, стероли, терпени, порфирины и други. Твърде възможно е тиоестерите да са участвали в много древни процеси, като например предшественици на АТФ, които са акумулирали използвана енергия за извършваните се реакции („Тиоестерен свят“). При взаимодействие на карбоксилна киселина с тиол или със сярна киселина се образуват тиоестери, R-CO-S-R (Francis 2015). Освен на хидролиза тиоестерите се подлагат неензимно на фосфорилиза с неорганичен фосфат, при което се образуват ацетилфосфат $\text{CH}_3\text{COOPO}(\text{OH})_2$ и пиропосфат $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_7\text{P}_2$. Неорганичният фосфат навлиза в реакциите, трасирайки пътя към появата на живот. Ацетилфосфатът се синтезира лесно неензимно от тиацетат и фосфорна киселина при $t^\circ 20 - 50^\circ\text{C}$ и pH неутрално или слабо алкално, поради което се приема за първичен преносител на енергия и на остатъци на CH_3COOH . Фосфатите около изригващите вулкани са осигурявали необходимия фосфор (P) за синтез на съединения с макроергични връзки. Появата по-късно на ензими в анаеробните автотрофи ускорява многократно съществуващите вече метаболитни процеси.

Основен метаболитен път за фиксиране на CO_2 е образуването на ацетил-КоА, който е присъщ на съвременните анаеробни микроорганизми (ацетогени, метаногени и сулфатредуциращи бактерии). Той се смята за реликва от химичните събития в ранната Земя, извършвани неензимно с неорганични катализатори (FeS , NiS , Ni^{2+}).



Това е линеен метаболитен път, включващ по-прости междинни продукти от редукционния цикъл на Кребс. В съвременните организми се извършва на

За разлика от катаболитния цикъл на Кребс за разграждане на глюкозата, редуccionният цикъл е анаболитен и автокаталитичен биохимичен път, възникнал чрез геохимични реакции в предбиотичната среда много преди образуването на ензимите, РНК и клетките. Метаболизмът се е извършвал в компартментите на АХТО, които са изпълнявали ролята на полуклетки („Железен свят“ на Г. Вахтерхаузер). Запазил се е в структурата на съвременния метаболизъм в микроорганизмите, в които протича с набор от ензими, кофактори и АТФ. При едно негово завъртане се образуват две молекули лимонена киселина, които отключват следващия цикъл. При екстремните условия в АХТО тези реакции са протичали неензимно с енергия от самите отвори (серпентинизация). Пълен цикъл не е осъществен в лабораторни условия, възпроизвеждащи тези в АХТО. Смесването между богата на CO_2 морска вода и богата на H_2 хидротермална течност създавало енергийно благоприятни условия за синтез на аминокиселини, особено в нискотемпературната си област (Sousa et al. 2013; Knoll 2003). От неорганични съединения като никелов хидроксид, циановодород, никелов цианид, въглероден оксид, железен хидроксид и сероводород са образувани органични съединения – *алкохоли*, *кетокиселини*. Първите синтезирани органични молекули с 4-въглеродни атома в примитивните клетки са оксалоцетна, малонова, янтарна и фумарова киселина. Карбоновите киселини и КоА са изграждали *естери*: ацетил-КоА, сукцинил-КоА, малил-КоА, а при взаимодействие с амоняк са дали *аминокиселини*. Ацетил-КоА ($\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_7\text{O}_{17}\text{P}_3\text{S}$) е доставял ацетилови групи към много биохимични реакции, включващи и образуването на мастни киселини.

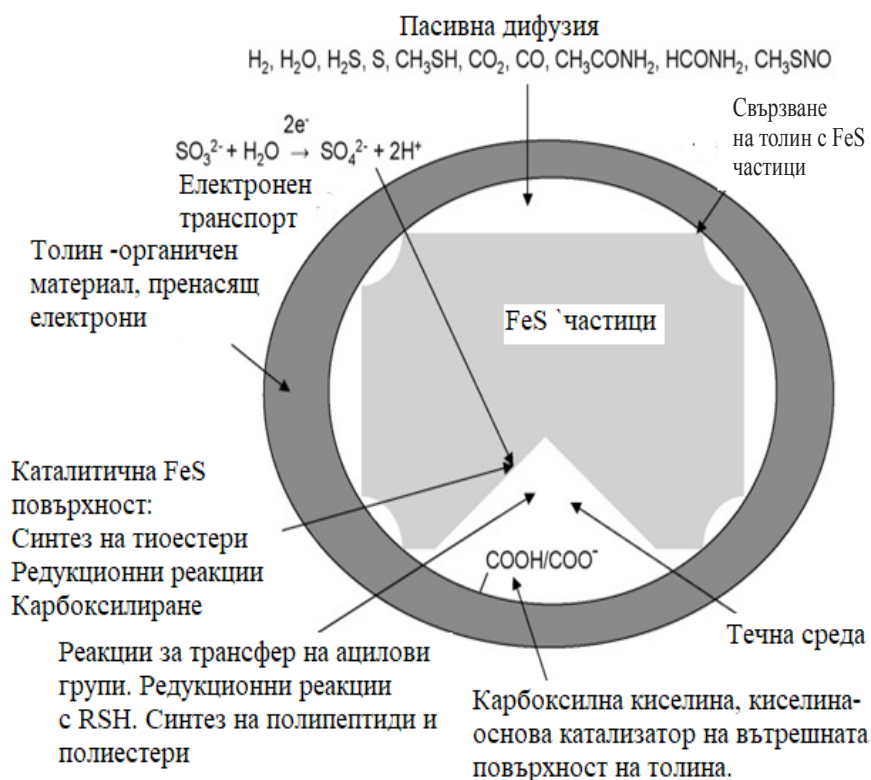
С помощта на трансаминиране и ацетилфосфат от трикарбоновите киселини глиоксалат, пируват, оксалацетат и α -кетоглутарат са образувани глицин, аланин, аспартат и глутамат. Пренасянето на ацилови (RCO^-), метилови (CH_3), фосфатни (PO_3^{2-}) и аминни (NH_2) групи е движело синтезата и е обогатявало компартментите в АХТО с органични съединения. Експериментално са доказани спонтанната реактивност и взаимното превръщане на междинни фосфорилирани продукти на гликолитичния и пентозофосфатния цикъл в симулирани условия на предбиотичната Земя (Keller et al. 2014). Особено необходими са C_2 - (ацетил-КоА) и C_1 -групи (едновъглеродни атомни отломки) и техните донори (Nikolov 1971). Главен донор на метилови групи е аминокиселината метионин. Този процес е свързан с предварително активиране на метиловата група (Martin & Russel 2006; Brazil 2017). Глицинът и аланинът са използвани за синтез на полипептиди, а малоновата киселина – за синтез на β -полиестери. Получени са олигомери на α -тиоглутаминова киселина и на тиюестер на глицерола (Maurel & Orgel 2000).

Полипептидни вериги са се синтезирали спонтанно чрез взаимна катализа или чрез случайна олигомеризация и са ускорявали биохимичната еволюция. Полимери, съдържащи аспарагинова киселина и глицин като мономери

в присъствие на метални йони, са действали като ензими. Предполага се, че ацетилфосфатът участва в активирането на взаимодействащите вещества при синтез на нуклеотиди (фосфорилиране на субстратно равнище). Преносител на метилови групи с по-голяма активност е коферментът S-аденозилметионин ($C_{15}H_{23}N_6O_5S^+$). Междинните продукти на много по-икономичния пентозо-фосфатен цикъл са важни за възстановяване на 2 молекули фруктозо-6-фосфат и една молекула глицералдехид-3-фосфат, който е изходен продукт за синтез на нуклеотиди.

Много от компонентите на обърнатия цикъл на Кребс и на пентозо-фосфатния цикъл са успешно синтезирани в предбиотични условия с катализатори железни йони. Първопоявилите се метаболитни цикли са имали нужда от генетични молекули, които да създават еволюционни предимства чрез множество едновременни мутации и отбор. Но моделът „първо метаболизъм“ предвижда по-късното появяване на нуклеинови киселини. Генетичните полимери позволяват акумулиране на благоприятни мутации за ензимното извършване и усложняване на метаболитните мрежи.

В модела на примитивна клетка (фиг. 4) мембраната е наречена толин (гр. мътна, кална) (Francis 2015). Тази примитивна мембрана се описва в едни случаи като изградена от неорганични вещества (Sausa et al. 2013), а в други – от прости въглерод съдържащи съединения (CO_2 , CH_4 , етан, в комбинация с азотни оксиди или вода. Това са подобни на полимери материали, съставени от въглеводороди, амини, фенилови групи, които се срещат на повърхността на ледени тела във външната Слънчева система. Произвеждат се и се изучават в лаборатории, като се предполага, че са играли важна роля в ранната Земя. Редокс реакциите се извършвали на повърхността на FeS – първичен акцептор на електрони, ограден от примитивната толин мембрана. Масни молекули покривали железно-сърната повърхност и спонтанно образували клетъчни мехурчета. Те били нетрайни образувания, често се разтваряли и реформирали. Някои от мехурчетата са затваряли самовъзпроизвеждащи се набори от молекули и не само са оцелявали, но се и размножавали под въздействие на външни стимули като периодична смяна на топла със студена вода.



Фигура 4. Модел на примитивна клетка (Francis 2015)

Синтез на въглехидрати. Простите органични съединения CO_2 , H_2O , N_2 и редуцирани въглеводороди (CH_4) са се превръщали в по-сложни под влияние на УВ лъчи, радиоактивни разпадания и електрически изпразвания. От тях чрез автокаталитична формозна реакция между формалдехид и гликоалдехид ($\text{HCHO} + \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$), открита от Бутлеров (1861), се образува рибоза по схемата: кондензация на две молекули формалдехид $\rightarrow$ гликоалдехид + формалдехид $\rightarrow$ глицералдехид + формалдехид $\rightarrow$ изомериране $\rightarrow$ дихидроксиацитон + формалдехид $\rightarrow$ рибулоза $\rightarrow$ изомериране $\rightarrow$ рибоза.

Извършването на формозната реакция в присъствието на борат (калциева сол на борната киселина) е много по-продуктивно, защото се образуват стабилни рибозо-боратни комплекси. Използван е и алтернативен път за образуването на рибоза от циановодород, облъчен от ултравиолетова светлина в присъствието на комплекси от меден цианид. Захари (пентози) са получени и чрез фотохимично и термично третиране на космически лед

(съставен от вода, метанол и амоняк) след облъчването му с ултравиолетова светлина.

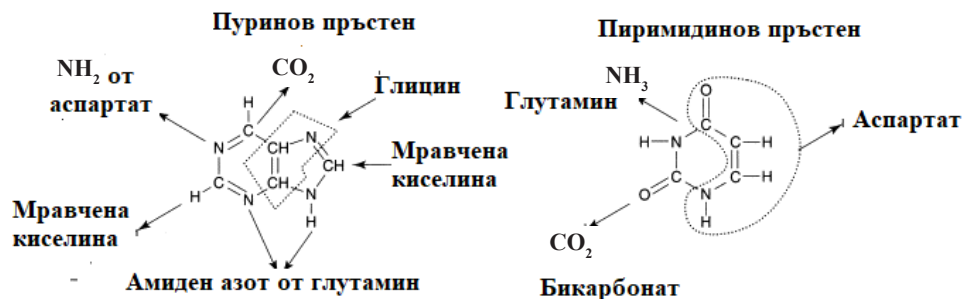
Синтез на нуклеотиди. Обсъждат се две предположения: а) образувани са от захар рибоза, нуклеобазы и неорганичен фосфат, които са възникнали самостоятелно и са се самосглобили; б) образувани са чрез едновременно синтезиране на захари и нуклеобазы при един и същ процес.

При взаимодействие на формалдехид и циановодород (HCN) са се образували захари, полиоли, хидроксисоединения и формамид (Neveu et al. 2013). При последователни реакции на амоняк, циановодород и формамид се синтезира пуриновата база аденин по схемата: амоняк + циановодород → формамид + тетрамер на циановодорода → 4-амино-5-циано-имидазол + формамид → аденин.

Под въздействие на електрически изпразвания, азотът и метанът образуват цианоацетилен (C_3HN или $H-C\equiv C-C\equiv N$), който се хидролизира до цианоацеталдехид (C_3H_3NO). Последният с цианатни йони, цианоген (C_2N_2) или карбамид дава пиримидини. Предполага се, че в концентриран разтвор на карбамид, който би могъл да бъде открит в изпаряваща се лагуна на ранната Земя, цианоацеталдехидът е образувал азотните бази цитозин и урацил. Пуринови и пиримидинови нуклеобазы са получени при загряване на чист формамид ($HCONH_2$) без катализатори чрез мрежа от взаимно свързани автокаталитични химични реакции с основни предбиотични предшественици (циановодород, вода, мравчена киселина, амоняк, изоцианова киселина, 2-амино-ацетонитрил, 2-амино-малонитрил, карбамид, гуанидин, глиоксал и формилцианид) (Slavova 2021). Формамидът е широко разпространено вещество във Вселената с важна роля в първите етапи от произхода на живота като източник на компоненти за първоначалните генетични и метаболитни процеси и е стабилизирал образуваните полимери.

Нуклеотидите са ключово събитие в появата на живота и неговата еволюция. Те участват в метаболизма, като доставят енергия под формата на нуклеозидни трифосфати. С появата им тиеостерната макроергична връзка е изместена от фосфатната макроергична връзка на АТФ (Nikolov 1971, 239). Те влизат в състава на кофакторите на ензимните реакции: коензим (CoA , $CoASN$), флавин моноклеотид (ФМН), никотинамид аденин динуклеотид ($НАД^+$), никотинамид аденин динуклеотидфосфат ($НАДФ^+$), S-аденозил метионини, гуанозинтрифосфат (ГТФ). Важни са и за клетъчната сигнализация като циклически аденозинмонофосфат – цАМФ, циклически гуанозинмонофосфат – цГМА. Те се приемат като „фосилни молекули“, съхранени от първичния РНК-базиран метаболизъм.

Нуклеотидите са синтезирани от въглехидрати, аминокиселини, амоняк и CO_2 (фиг. 5) в същата среда, в която са образувани техните предшественици.



Фигура 5. Произход на атомите на пуриновия и пиримидиновия пръстен (Martin & Russel 2007, фиг. 4b, стр. 1902)

Субстратите на ензимите, катализиращи синтеза на азотните бази, са съществували преди гените: CO_2 , C_1 -въглеродни съединения, метилови групи, ацетил-СоА, ацетил фосфати, смес от органични съединения – аминокиселини и пептиди. В състава на азотните бази на нуклеотидите влизат части от страничните вериги на аминокиселини (глицин, глутамин, аспартат), от мравчена киселина (формил фосфат) и карбамоил фосфат. Те са ароматни молекули и имат по-дълги метаболитни пътища. Пурините (аденин и гуанин) са хетероциклени ароматни азотни бази от имидазолов и пиримидинов пръстен, изградени от глицин, формиат, глутамин амид и аспартат амин и HCO_3^- . В съвременните организми, пуриновият синтез преминава през 11 ензимно катализирани стъпала. Пиримидините (цитозин, тимин и урацил) са по-прости съединения, техният синтез преминава през 6 стъпала, но и той се извършва от предварително изградени компоненти. Първата реакция включва образуване на карбамил фосфат ($\text{CH}_2\text{NO}_2\text{P}^{2-}$) от глутамин, HCO_3^- и аспартат. Пиримидините участват в синтеза на пурините. За синтеза на нуклеотиди е използван пентозофосфатният път, който е паралелен на гликолизата. В неговия ход се получават пентозофосфати, които могат да служат като изходен материал за синтеза на нуклеотиди и чрез тях за синтеза на НК. Той се използва и при синтеза на ароматни аминокиселини. Рибонуклеотидите – предшественици на РНК, трудно се синтезират неензимно и затова по този въпрос се търсят нови решения.

Пурините и пиримидините с пентози (рибоза или дезоксирибоза) образуват нуклеозиди, които при свързване с фосфорна киселина изграждат нуклеотиди – градивните единици на НК. В съвременните организми синтеза на пуриновия пръстен се извършва на основата на рибозо-5-фосфат, като едновременно с пръстена се формира цялата молекула на нуклеотида (Nikolov 1971, 430). Пиримидиновият пръстен се изгражда самостоятелно, след което се превръща в нуклеотид. Биосинтезата на птерин (хетероциклено съединение, със-

тавено от птеридинов пръстен, кето и amino групи) и неговите производни (птериновите кофактори) пренасят хидроксиметилнови и формилнови групи за синтезата на нуклеотиди.

Предбиотичната химия завършва с неензимната синтезa на органични предшественици (аминокиселини, захари и азотни бази) за синтезата на рибонуклеотиди. Химичният отбор е запазвал азотни съединения, устойчиви на УВ лъчи.

Рибонуклеинов етап (пре-РНК и РНК свят): **Рибозими**. За живата клетка са необходими молекули, които да служат като матрица и да катализират реакции, осигуряващи собственото им възпроизводство. Тези две свойства са характерни само за РНК, която в даден момент от еволюцията на живота е започнала да осъществява генетична непрекъснатост чрез саморепликация и е била запазена от химичния отбор.

1. Възникнала е проста автокаталитична система с ограничена наследственост – малко молекули могат да се самореплицират (Szathmary & Smith 1995). Извършва се случайна полимеризация до случайни РНК, рядко функциониращи като рибозими. Компоненти на РНК са били налични в пребиотичната супа и са се сглобили в самореплициращи се и еволюиращи олигонуклеотиди без наличието на макромолекули (Robertson & Joyce 2012). Това сглобяване е протичало въз основа на правилото за комплементарност на азотните бази, открито от Дж. Уотсън и Фр. Крик (цитозин-гуанин; аденин-урацил). Образоването на олигомерни РНК от нуклеотиди е станало чрез абиотичен синтез. Активирани нуклеозид-5/-трифосфати (енергетично богати фосфатни естери) са представлявали субстрат за полимеризация и за образуване на олигомерни РНК-и. Полимеризацията е катализирана неензимно от метални йони и киселинно-алкални катализатори. В присъствието на глинени минерали монтморилонит или хидроксипатит експериментално е осъществена олигомеризация на аденозин-5/трифосфати до 3/, 5/-свързани олигомери с 40 – 50 субединици. Активирани нуклеотиди образуват спонтанно олигонуклеотиди. Неензимно е осъществена полимеризация и на 4-те вида олигорибонуклеотиди на азотните бази аденин, гуанин, цитозин и урацил. Механизмът за полимеризация на активирани нуклеотиди в примитивната Земя е дал възможност за образуване на комплексна смес от олигонуклеотиди, различаващи се по секвенция и дължина на веригите. Те, на свой ред, са катализирали синтезата на повече РНК.

2. Олигонуклеотидите създават възможност за преход към полинуклеотиди чрез неензимна репликация въз основа на матричния принцип. Богати на цитозин-олигонуклеотиди служат като матрици за синтез на богати на гуанин-олигонуклеотиди. Матрично направляваното свързване на олигонуклеотиди е имало предимство пред олигомеризацията на активирани мономери и е покровителствано от естествения отбор. РНК е катализирала собственото си

реплициране и се е проявявала като РНК зависима РНК полимераза, наречена репликаза. Тя действа върху себе си, за да възпроизведе комплементарни РНК, след което действа върху комплементарните РНК, за да възпроизведе нови комплементи, т.е. свои копия. Полинурибонуклеотидните вериги са с неограничена наследственост. Точността на реплицирането зависи от редица фактори – непрекъснат приток на β -D-нуклеотиди от абиотичен синтез, достъп до катализатори, наличие на активатори (АТФ), концентрация и контакти на РНК-ите, условия на средата и други. Това са променливи величини, които водят до грешки при копирането. Възникват нови копия и се разпадат стари, едни копия са изгодни, други – не. Точността на копирането се отразява върху дължината на веригата на новото копие. При нисък праг на грешки реплицираният геном е по-голям, например при 99% точност дължината на веригата може да достигне 100 мономера. Важна е била и скоростта на копирането – при много бавна скорост, вероятността за възникване на грешки е по-голяма. Получава се омагьосан кръг – без самореplikация и химичен отбор няма еволюция, а без еволюция няма самореplikация.

Образуването на РНК изисква последователност от 3'-5' фосфодиестерни връзки, които се запазват трудно в условията на конкурентни реакции като хидролиза, образуване на 2'-5' и на 5'-5' връзки. Затова се допуска най-напред появата на полимер, подобен на РНК, но с химически по-проста структура – пре-РНК или прото-РНК. Тя се е образувала спонтанно, тъй като е притежавала повече варианти на предшественици и по-голяма гъвкавост при самосглобяване. Получени по експериментален път са няколко варианти на пре-РНК: глицерол (гликол)-НК, фуранозил-НК, пиранозил-НК, пептид-НК, аланил-НК, тиоестерна пептидна-НК. Те се означават като алтернативни генетични системи. Предполага се, че пиранозил нуклеинова киселина (ПНК) е изпълнявала ролята на матрица и на катализатор и вероятно е била най-ранната форма на генетична молекула. Тя е осъществила прехода на пре-РНК свят към РНК свят.

3. В много РНК-и са открити запазени къси двойноспирални участъци, мотиви (motifs), които са използвани като части от по-големи структури. РНК молекулата с подходящо нагъната форма (рибозим), подобно на ензимите, може да изпълнява каталитични функции като използва метални йони в активните си центрове. Катализата се постига чрез образуване на сложни третични структури, които осигуряват активно място с определена геометрична форма за напасване към субстрата. Реакциите, катализирани от рибозимите, се извършват с по-бавна скорост от белтъчно катализираните реакции. РНКите могат да претърпяват алостерични промени (извън активния център на молекулата). По-простата РНК е катализирала не само синтезата, но и зреенето (сплайсинга) на по-сложната РНК. Такива рибозими са намерени във вирионите – вируси, паразитиращи по растенията. РНК-и, които свободно ди-

фундират сред голяма популация от други РНК-и, могат да се кооперират с тях, като изграждат системи за репликация. Те, от своя страна, се конкурират за суровини с оригиналната РНК система. По този начин се е осъществявал биохимичен отбор на функционални РНК-и: с по-ефективно самовъзпроизвеждане – отначало с по-къси вериги, след това с по-дълги, по-устойчиви, по-точни и по-бързи в репликацията (Pianowski 2019). В създаването на разнообразие от РНК-и с различна секвенция и дължина водеща роля има откритият от Дарвин природен закон за изменчивост и естествен отбор, който движи еволюцията. Възникват рибозими с различни функции: а) рибозими, катализиращи РНК репликацията; б) рибозими, катализиращи биосинтез на нуклеотиди, и в) метаболитни рибозими (рекомбинази), намаляващи зависимостта от предшественици.

При репликацията са възниквали грешки, които са давали началото на нови варианти на полинуклеотиди. Така се създавала кооперираща се система от специализирани РНК-и, които взаимно се подпомагат във възпроизводството си и в индуциране на самореplikация на съседни молекули. Първичните рибозими и рибозимни комплекси подобряват катализата на биохимичните реакции. Скоростта на синтезата на нови копия на дадена РНК е пропорционална на концентрацията, която води до автокаталитичния ѝ растеж (Felsenstein 1988).

4. Рибозимите включват аминокиселини, които действат като коензими, подобряващи каталитичните им свойства и метаболизма и осигуряващи получаването на повече енергия отвън. С участието на аминокиселините се синтезират повече нуклеотиди и повече РНК. Увеличават се размерите на пептидните вериги в рибозимите, а частта на РНК намалява. Специфични аминокиселини се свързват със специфични рибозими чрез комплементарност на базите – начало на генетичен код. При навлизането на рибонуклеотиди от обкръжаващата среда през примитивната мембрана на протоклетката някои РНК създават копия на мембранно образуващи рибозими. Те превръщат проникналите предшественици в молекули, които се включват в мембраната. Образуването на мембрана променя вътрешната биохимия и създава условия за нови функции. В резултат на отбор на по-ефективни структурни промени и на по-ефективно въздействие върху другите молекули възникват рибозомни (рРНК), информационни (иРНК) и транспортни (тРНК) рибонуклеинови киселини с уникални секвенции в отделните протоклетки (Alberts et al. 2002). Някои протоклетки започват да използват АТФ, ацетилфосфат и пирофосфат. Появата на ензим, наречен пирофосфатаза, позволява на протоклетките да извлекат повече енергия от градиента между алкалната вентилационна течност и киселия океан. Този древен ензим все още се намира в много бактерии и археи – първите два клона на дървото на живота. Рибозими са запазени в генома на всички видове организми: малки рибозими са вирусът на хепатит

делта, чукоглава РНК; големи рибозими са сплайсозомата, рибозомът, група I и II интрони и рибонуклеопротеин Ф (R-nase P). Химичният отбор е запазвал РНК-и с по-дълги вериги, в които се увеличавали стекинг взаимодействията и РНК-и с двуспирални фуркетни участъци.

Рибонуклеопротеинов етап: рибозоми. Нуклеиновите киселини са много сложни полимери и в съвременните организми изискват много белтъчни ензими, за да бъдат синтезирани. Генетичният код за синтезата на белтъците е като кокошката и яйцето – кой е възникнал по-напред? За разгадаването на историята на генетичния код е важна синтезата на генетични полимери от техните компоненти. При автотрофните и хетеротрофните организми биосинтезата на нуклеотидите и нуклеиновите киселини се извършва по еднакви пътища и с еднакви възможности (Nikolov 1977). Белтъците с кофактори осъществяват цялата биологична катализа. Преходът от РНК катализиране на биохимичните реакции (РНК свят) към белтъчна катализа (свят на белтъците) в предбиотичната среда се е осъществил посредством рибонуклеопротеини. Пример за нуклеопротеин е *рибонуклеаза Ф* (RnaseP), древен универсален рибозим.

Рибонуклеаза Ф катализира зреенето на тРНК, като отстранява излишните нуклеотидни последователности в 5' и 3' краищата на тРНК-предшественика. В резултат се генерира 5' фосфатната група и 3'-ОН група на зрялата тРНК. Тя съдържа нуклеотидните триплети на генетичния код (антикодони), готови да носят специфичните аминокиселини (АК) до съответните кодони в информационната РНК за синтезата на полипептидните вериги. По този начин става транслацията на генетичния код (от езика на РНК на езика на белтъка) и се синтезират белтъци, които поемат каталитични и структурни функции в клетките. Рибонуклеаза Ф е универсална, среща се при всички организми, но се характеризира с голямо разнообразие, сложност и специфичност в отделните филогенетични групи. Тя е изградена от главна РНК субединица и различен брой белтъчни субединици (1 при бактерии, най-малко 4 при археи и най-малко 9 при еукариоти). РНК субединицата разпознава субстрата (тРНК) и извършва катализата, а белтъчният компонент стабилизира активността и увеличава 2 – 3 пъти скоростта на реакцията. РНК се състои от два домейна – S и C. Специфичният домейн S съдържа консервирани нуклеотиди, които разпознават съответната бримка в тРНК предшественик и се свързват с нея. Каталитичният домейн C изгражда активния център и осъществява сплайсинга (изрязване на интрони и съшиване на екзони), в резултат на което се образува зряла тРНК. Неговата активност зависи от наличието на магнезиеви йони. Компонентите на рибонуклеазата изграждат комплекс с тРНК, в който РНК изпълнява ролята на груба матрица за полимеризация на АК, а тРНК служи като адаптор между нейните кодони и АК. Отборът е запазвал РНК-и, насочващи синтезата на полезни пептиди. РНК е възникнала, използвайки ацетил-КоА метаболитния път в средата, а свойството ѝ на самовъзпроизвеж-

дащ се катализатор ѝ е дало възможност да образува комплекси с белтъци. Примитивната рибозома е рибозим (Steitz & Moore 2003). Едни рибозими са катализирали метаболизма, други са управлявали размножаването и усложняването на мембраната. С увеличаването на броя и разнообразието на АК са възниквали нови тРНК адаптори, рибозимът е ставал по-голям и тРНК антикодонът е пасвал по-точно на иРНК кодона.

С появата на рибозими на пептидилтрансфераза става кодиране на протеини от РНК и сглобяване на рибонуклеопротеинови комплекси (РНП). Те притежават по-високи каталитични активности в транслацията на тРНК върху проторибозоми. По-късно някои РНП ензими еволюират чрез добавяне или изхвърляне на някои РНК субединици и усъвършенстват настройката на тяхната каталитична активност. Първичен пептидил трансферазен *рибозим* с течение на времето се е разраснал и се е превърнал в съвременен *рибозом*, осъществяващ транслацията и синтеза на разнообразни белтъци. Рибозоми-те стават незаменим компонент на всяка жива клетка.

В експериментална селекция на иРНК-и са получени варианти, които се свързват избирателно с подходящи АК. Нуклеотидната последователност на такива иРНК-и съдържа висока честота на кодони за разпознаване на конкретни АК: за аргинин РНК има предимно Arg кодони, а за тирозин – предимно Tyr кодони. Това предполага, че ограничен генетичен код би могъл да възникне от директното свързване на АК със специфични последователности на РНК-и, при което РНК-ите служат като матрица за насочена полимеризация на някои АК. Предполага се, че кодът е започнал с основни белтъци, изградени от малък брой АК. С увеличаването на буквите в азбуката на АК (днес те са 20 аминокиселини) белтъците са се усложнявали и са придобивали свойството да изграждат по-сложни молекули (по аналогия с обогатяване азбуката на езика). Глицин, аланин и глутаминова киселина са първите букви, а триптофан е една от последните букви, добавена в АК азбуката. Приликата в аминокиселинната последователност на два белтъка – триптофанил тРНК синтетаза и тирозил тРНК синтетаза, показва, че те са прибавени последни и са еволюирали от един общ белтък, който малко преди появата на ЛУКА е мутирал в двата белтъка с различни функции. Триптофанът, тирозинът и фенилаланинът са незаменими циклични АК и не могат да се синтезират в бозайниците. Това означава, че в еволюцията не само са възниквали нови гени, но и вече възникнали гени са били загубвани.

В съвременните клетки съчетаването на АК с кодоните на иРНК се осъществява от тРНК, а протеините катализират тРНК аминокиселинирането (свързване на тРНК със съответната ѝ аминокиселина). Вероятно аминокиселинирането на тРНК е възникнало още в РНК свят и е подобрило съпадението между аминокиселините и информационната РНК. Това е ускорило матричния протеинов синтез. Възникнала е катализата на пептидната връзка, която и в днешните клетки се извършва от рРНК. Еволюцията на протеиновия синтез води

до поемане на катализата от протеините, които са по-гъвкави, защото имат 20, а не 4 различни субединици. Белтъците постепенно са изместили всички рибозими и са поели освен каталитична и структурна роля. Биохимичният отбор е запазил рибозими с определени функции във всички клетки – РНК сплайсинг, РНК разцепване, образуване на пептидна връзка и други.

Дезоксирибонуклеинов етап: ДНК. Протоклетките от РНК свят са били по-прости и по-неефективни в размножаването от най-простите съвременни клетки, защото РНК катализата е много по-несъвършена от протеиновата катализа. РНК кодира синтезата на ДНК и протеини. Еволюцията на протеините измества РНК като катализатор и създава ензими за катализата на ДНК репликацията и транскрипцията. Благодарение на голямата ѝ стабилност ДНК поема ролята на РНК като главна генетична молекула, но ѝ отрежда ролята на посредник между нея и протеините. Това е дало възможност да се натрупват допълнителни протеинови катализатори, които по-ефективно да катализират химичните реакции за освобождаване на повече енергия (Alberts et al. 2002).

Съвременността е ключ към миналото и химичните разлики между РНК и ДНК са доказателство за последователното им възникване. Рибозата например, подобно на глюкозата и другите прости въглехидрати, може да се образува от формалдехид (НСНО). Дезоксирибозата е по-трудна за производство и в днешните клетки тя се произвежда от рибоза в реакция, катализирана от протеинов ензим. Това показва, че появата на рибозата е предхождала дезоксирибозата в клетките. ДНК се е появила на сцената по-късно, но след това се е оказала по-подходяща от РНК като хранилище на генетична информация. По-специално, дезоксирибозата в нейния захарно-фосфатен скелет прави веригите на ДНК химически по-стабилни от веригите на РНК, така че много по-големи дължини на ДНК могат да се поддържат без разрушаване. Максималният размер на геном на базата на РНК достига размери 3000 – 5000 нуклеобазы (ХИВ, вирусът на Западен Нил). Максималният размер на ДНК е неограничен. Използването на тимин вместо урацил и двойноспиралната структура са подобрили стабилността на ДНК.

ДНК, РНК, белтъци и АК в днешните организми работят заедно в последователните процеси на репликация, транскрипция и транслация. Така се осъществява централната догма: ДНК → РНК → белтък. Автокаталитичната система е свързана с нарушаване на симетрията, в резултат на което в изграждането на протеините се включват само L-аминокиселини. Те катализират реакциите в клетката, както и синтезата на самите L-аминокиселини (автокатализа). Осъществяват също така катализа на много други хирални молекули (молекули, които не са идентични с огледалния си образ, имат въглероден атом, свързан с 4 различни групи), включително на D-рибоза в РНК и на D-дезоксирибоза в ДНК. Катализата се дължи на аминоксил-тРНК синтетази (Francis 2015).

НК и белтъците са аperiодични молекули, които нямат стриктно повтаряща се структура и действат като код-сценарий. ДНК като аperiодичен кристал носи информация посредством последователността на четирите си нуклеотида – аденозин, гуанозин, цитозин и тимин. Гените и белтъците в живите организми не се образуват спонтанно, а са продукт на биологични структури. Генетичният код е реален и съвместим със законите на физиката и химията, но не е продиктуван от тях. Той е набор от правила, който осъществява кореспонденцията между два независими свята (подобно на Морзовата азбука) и не е просто биохимия, а сложна система за регулация. Всички процеси в живата клетка се регулират от ензими. Металоензимите са възникнали по време на прехода от предбиотична химия към генетично насочен метаболизъм. По същия начин кофакторите на ензимите, съдържащи нуклеотиди, отразяват предшестващо състояние, в което същата реакция е катализирана от рибозим. Химичната еволюция е започнала със синтеза на прости органични съединения с участието на неорганични катализатори и е продължила със синтеза на мономери на белтъци, въглехидрати и НК отначало чрез кодиран синтез без НК, следван от кодиран синтез с рибозими и накрая – кодиран синтез с рибозоми с последващо усложняване на биохимията на протоклетките. На преден план идва биологичният отбор. Според автокаталитичната хипотеза за произхода на живота компонентите на клетката са резултат на коеволюция (Fransis 2015).

Клетъчната мембрана е играла изпреварваща роля в еволюцията на протоклетките. Началната форма, адсорбция на реагенти по повърхността на частици, бива заменена с по-сложни контейнери (железно-серни мехурчета, коацервати, липозоми). Те са изместени от спонтанно самосъбиращи се амфипатични молекули, които изграждат мембрана от двоен липиден слой. Някои протоклетки с протеин в мембраната използват естествения протонен градиент за усвояване на енергията чрез синтеза на АТФ (аденозинтрифосфат) и фиксиране на CO_2 (фиг. 2).

Ранните мембрани са били пропускливи и в присъствие на малки органични молекули са разсейвали протоните. Използвайки геохимично създадения градиент, протоните са преминавали през АТФ синтеза и през липидната мембрана. В океанските води, излишъкът от H^+ се балансираше от HCO_3^- , а излишъкът на OH^- се балансираше от Mg^{2+} . Всеки преминал през мембраната протон, реагирал с OH^- и образувал вода. Непрекъснатата циркулация на хидротермални течности и океански води отстранявала натрупването на заряд и поддържала едновременно окислително-редукционно и рН неравновесие. Протон-двигателната сила можела да съществува само при наличие на пропускливи мембрани и отворена система. Намаляването на пропускливостта на мембраните поставяло необходимостта от усъвършенстване на транспорта през тях. Това е станало чрез Na^+/H^+ антипорт, белтък, който прехвърля

вещества през клетъчната мембрана в противоположна посока противно на симпорт, прехвърлящ веществата в една посока – само навътре в клетката или само навън. Скоростта на пренасяне се контролира от участниците в транспорта. Пропускливостта за H^+ е 2 – 3 пъти по-висока, отколкото за Na^+ , тъй като малките органични киселини разединяват H^+ градиенти, но не и Na^+ градиенти. Антипортът преобразува естествения протонен градиент в биохимичен натриев градиент, който осъществява спрегнатия процес без никакви енергийни разходи в условията на АХТО. Прехвърлянето на Na^+ се задвижва от свободния геохимичен протонен градиент, а не от активно изпомпване. Енергията вместо за изпомпване се използва за асимилация на CO_2 .

В живата природа са познати три механизма за съхраняване на енергия. Първите два са хемиосмоза и субстратно фосфорилиране. Третият, *електронната бифуркация*, е открит най-късно в задължителни анаеробни микроорганизми (Muller et al. 2018). Предполага се, че той е предшествал останалите два. Ензимните системи при него имат много редокс-центрове, съдържат редокс кофактори от флавин и FeS клъстери. При създадения естествен протонен градиент на границата на алкален хидротермален отвор (pH 9 вътре и pH 6 отвън) се осъществява базирана на флафин електронна бифуркация. Отделените от донора два електрона тръгват към два акцептора, като се образува нископотенциален редуциран фередоксин (Fdred) и високопотенциален редуциран НАДН (никотинамид аденин динуклеотид) или молекулен водород (H_2). Електронната бифуркация е енергийно много по-икономичен електронен донор за синтеза на АТФ от хемиосмозата и затова е от съществено значение за автотрофния метаболизъм в началото на живота. Дава предимство и на хетеротрофен метаболизъм върху нискоенергийни субстрати. Процесът е открит при ацидофилни желязни бактерии (Cooper 2017).

Хемиосмозата е процес, при който енергията от един протонен градиент се използва за синтез на макроергично съединение. Движението на йоните през мембраната зависи от два фактора: 1. силата на дифузията през мембраната по концентрационния градиент; 2. електростатичната сила по градиента на електрическия потенциал – катиони, като протони, дифундират по електрическия потенциал от положителната към отрицателната страна на мембраната. Анионите се движат спонтанно в обратната посока. Редукционна реакция направлява електроните през мембранни белтъци и кофактори, като намалява протоните в цитозола и създава химичен и електрохимичен градиент. Връщането на протоните в цитозола минава през АТФ синтаза, като АДФ се фосфорилира до АТФ. Характерна е за фотоавтотрофи и хемоавтотрофи. В хемиосмозата в съвременните прокариоти се различават два компонента: 1. аденозин трифосфатаза белтък от два типа: А-тип и F-тип; 2. мембранно свързана протеин-кофакторна система, която извършва окислително-редукционната реакция и пренася електрони между донора и адцептора.

Появата на аденозинтрифосфат (АТФ) и изместването на ацетилфосфата като акумулатор на енергия е ключов момент в биоенергетичната еволюция. За неговата синтеза е необходим ензимът АТФ-синтаза – универсален белтък в мембраните на клетките. АТФ-синтазата е сложен ензим от много субединици, който преобразува геохимично генериран йонен градиент в използваема химична енергия. Функцията на АТФ-синтазата наподобява дейността на турбините във водноелектрическите централи, но вместо вода се включва от H^+ . При всяко завъртане към вътрешната или външната страна на мембраната ензимът изпомпва H^+ или Na^+ . Този механизъм се е запазил и до днес като F-тип в еубактерии и А-тип в археи.

АТФ-азата е използвала естествено съществуващ протонен градиент на границата отвор/океан за синтеза на формил птерин преди генерирането на протонен градиент, определян от гените. Хемииосмозата в днешните организми е спрегната и се извършва през мембрана, непроницаема за йони. Изпомпаните йони се връщат в клетката само през АТФ синтазния комплекс, при което се синтезира АТФ. Ако мембраната изпуска, йоните се връщат обратно в клетката през липидния слой, а част от енергията при изпомпване се разсейва като топлина. В този случай синтеза на АТФ не е спрегната и е по-малко ефективна. Преминаването на протоните през АТФ синтазата е 4 – 5 пъти по-бързо, отколкото през липидната фаза на мембраната. Синтезата на АТФ с помощта на енергията от естествения електрохимичния градиент се усъвършенства с еволюцията на ензима АТФ синтаза, който е запазен в целия жив свят. Белтъци ензими поемат катализата на метаболизма и откриват възможността за приемане на вещества от околната среда като източник на енергия. Размерите на протоклетките се увеличават до удвояване на генома, след което те се разделят на две дъщерни протоклетки. Всяка от тях притежава характеристиките на жива клетка: а) копиране на информационни макромолекули, б) изпълнение на специфични каталитични функции за извършване на метаболизъм, в) свързване на енергията от околната среда в използваеми химични форми, г) оградена е с мембрана с повърхностни преносители (вериги от електронни донори и акцептори), но остава затворена в компартмента, в който е създадена от генетичния полимер. Натриевата протонно-градиентна помпа (SPAP) съпътства образуването на по-плътни мембрани.

Всички клетки днес използват аденозин 5'-трифосфат (АТФ) като източник на метаболитна енергия, за да стимулират синтеза на клетъчните съставки и да извършват други ендергонични дейности. Смята се, че механизмите, използвани от клетките за генериране на АТФ, са се развили на три етапа, съответстващи на еволюцията на гликолизата, фотосинтезата и окислителния метаболизъм. Развитието на тези метаболитни пътища е променило земната атмосфера, като по този начин е променило и хода на по-нататъшната еволюция.

Праклетъчен етап ЛУКА (Kostova 2021). *Първа фаза:* прикрепен анаеробен прокариот с мембрана и цитозол, съдържащ немембранни органели рибозоми и прокариотен геном. Той има 355 белтъчни фамилии, общи за бактерии и археи, които участват в биогенезата на рибозоми, в тРНК синтетазы и в субединица на Na-зависима АТФ-синтаза, при която йонните градиенти се доставят геохимично чрез Na^+/H^+ антипортер, а фосфорилирането е субстратно от ацетил-КоА. Има механизми за ефективно коригиране на грешки в кръговата ДНК и модифициране на РНК. Притежава ензими за синтеза на кофактори, много от които са S-аденозин метионин зависими и твърде чувствителни към кислорода. Използвал е W-L (Wood – Ljungdahl) метаболитен път, редукиционен цикъл на Кребс (редуциращ път на ацетил-КоА). Има обратна гираза, специфична за хипертермофилни организми и хемолитоавтотрофни ензими. Отсъстват хемоорганотрофни ензими, което показва, че е бил автотрофен организъм. Има бифуркационна хидрогеназа за обратимо катализиране на окисляването на H_2 , както и нитрогенази, които заедно с глутамин синтетазы катализират редукцията на молекулен азот до амоняк. Генът за двуфункционалния ензим въглерод монооксид дехидрогеназа/ацетил-КоА синтаза (CODH/ACS) е присъствал и е функционирал в ЛУКА. *Втора фаза:* поява на независим биосинтез на липидна мембрана, разширяване на биохимичните процеси, генетични мутации, които водят до дивергенция на два вида популации, използващи различни кофактори в метаболитните пътища. Гените и протеините за пътищата на метилсинтезата са възникнали независимо в двете популации в АХТО. *Трета фаза:* независима поява на биохимията на клетъчната стена. *Четвърта фаза:* съхраняване на редоксхимията в клетъчната мембрана. *Пета фаза:* свободно живеещи анаеробни хемоавтотрофи – ацетогени и метаногени (Sousa et al. 2013). И при двата клона се е запазила електронната бифуркация. Ацетогените (еубактерии) образуват ацетат чрез редукция на CO_2 (акцептор на електрони) с помощта на H_2 (донор на e^-) до ацетил КоА. Метаногените (предимно археи с метилтрансфераза) редуцират CO_2 до CH_4 .

Ацетогенезата и метаногенезата са процеси, характеризиращи въглеродния и енергийния метаболизъм на първите свободно живеещи еубактерии и археобактерии (Sousa 2013). Ранната биоенергийна еволюция е преминала през следните преходни етапи: (1) субстратно равнище на фосфорилиране, зависимо от тиоестери; (2) овладяване на естествено съществуващи протонни градиенти на границата „отвор-океан“ посредством АТФ-синтазата; (3) овладяване на градиенти на Na^+ , генерирани чрез антипорт движение на йони H^+/Na^+ през естествена мембрана (йонни помпи); (4) генериране на протонен градиент чрез базирана на флавин електронна бифуркация; (5) генериране на протонен градиент, базиран на хинон. Първите четири преходни етапа са извършени в АХТО преди ЛУКА да напусне компартментите (Sousa et al. 2013).

Ранната микробна еволюция е ерата на анаеробите. Дори да е имало известно присъствие на кислород от фотолизата на вода преди Голямото кислородно събитие (2,3 – 2,5 млрд. г.), той е бил толкова малко, че е нямал значение за микробната физиология и еволюция. Кислородната фотосинтеза възниква след аноксигенната фотосинтеза.

Днес живеещи бактерии, представители на тип Firmicutes, най-вероятно водят началото си от общия прародител на бактерии и археи (ЛУКА), от който е тръгнало обособяването на двата клона. Много от приликите и различията между тях са резултат на ендосимбиоза, трансформация, трансдукция, конюгация и загуба на гени (Martin 2011). Науката дава отговор на много въпроси, свързани с произхода на живота, но няма категорични отговори и не може да повтори точно създаването на живота.

ЛИТЕРАТУРА

- Костова, З., 2021. Развитие на хипотезите за биохимичния произход на живота. *Обучение по природни науки и върхови технологии*. **30** (3), 305 – 316.
- Николов, Т., 1977. *Обща биохимия*, София: Наука и изкуство, 528 стр.
- Славова, С., 2021. Механизми на пребиотични реакции на основата на формамид – ab initio моделиране. *Автореферат за получаване на образователната и научна степен „доктор“*. Институт по обща и органична химия, БАН.

REFERENCES

- Alberts, Br., Johnson, Al., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P., 2002. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition, New York: Garland Science; ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9
- Brazil, R., 2017. *Hydrothermal vents and the origins of life*. NOAA Office of Ocean Exploration and Research.
- Cooper, K., 2017. Looking for LUCA, the last universal common ancestor. *Astrobiology at NASA. Life in the Universe*, 30th of March
- Felsenstein, J., 1988. Phylogenesis from molecular sequences: Inference and reliability. *Annual Review of Genetics*, **22**, 521 – 565.
- Francis, B. R., 2015. The hypothesis that the genetic code originated in coupled synthesis of proteins and evolutionary predecessors of nucleic acids in primitive cells. *Life (Basel)*, 2015, Mar; **5**(1), 467 – 505. <https://doi.org/10.3390/life5010467>
- Hatton, B., 2007. *The emergence of nucleic acids in an iron-sulphur world*. Cardiff University School of Earth, Ocean and Planetary Sciences.

- Keller, M. A., Turchyn, A. V. & Ralser, M., 2014. Non-enzymatic glycolysis and phosphate pathway-like reactions in a plausible Archaean ocean. *Molecular System Biology*, **10**, 725, <https://doi.org/10.1002/msb.20145228>
- Knoll, A., H., 2003. *Life on a young planet: The first three billion years of evolution on Earth*. Princeton: Princeton University Press. [Google Scholar]
- Lane, N., 2015. *The Vital Question: Why is life the way it is?* London: Profile Books
- Luisi, P. L., 2014. Prebiotic Metabolic networks. *Molecular Systems Biology*, **10**, 729
- Martin, W., 2011. Early evolution without a tree of life. *Biology Direct*, **6**, 1 – 36
- Martin, W. F. & Russell, M. J., 2006. On the origin of biochemistry at an alkaline hydrothermal vent. <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rstb.2006.1881>
- Martin, W. F. & Sousa, F., 2016. Early microbial evolution: The age of anaerobes. *Gold Spring Harbor Perspect Biology*, **8** (2): a018127, doi: 10.1101/cshperspect.a018127 Perspect Biol
- Maurel, M.Ch. & Orgel, L., 2000. Oligomerization of thioglutamic acid. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **30**, 423 – 430.
- Müller, V., Chowdhury, N. P. & Basen, M., 2018. Electron bifurcation: A Long-hidden energy-coupling mechanism. *Annual Review of Microbiology*, **72**, 331 – 353.
- Neveu, M., Kim, H. J. & Benner, S. A., 2013. The “Strong” RNA world hypothesis: Fifty years old. *Astrobiology*, **13**(4), 391 – 403. Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/ast.2012.0868
- Orgel, L. E., 1968. Evolution of the genetic apparatus. *Journal of Molecular Biology*, **38** (3): 381 – 393: doi:10.1016/0022-2836(68)90393-8
- Pianowski, Zb., 2019. *The molecular origins of life* [L3 SoSe 2019 HD (block course) Microsoft PowerPoint – HD L3 2019 MOL RNA world Metabolism LUCA.pptx (kit.edu)]
- Robertson, M. P., Joyce, G. F., 2012. The origin of the RNA world. *Cold Spring Harbor Laboratory Press. Perspect, Biol.* **4**(5). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a003608>
- Sousa, F.L., Thiergart, T., Landan, G., Nelson-Sathi, S., Pereira, I.A., Allen, J.F., Lane, N. & Martin, W.F., 2013. Early bioenergetic evolution. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **368**(1622). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0088>.
- Szathmary, E., Smith, J.M., 1995. The major evolutionary transitions. *Nature*, **374**, 227 – 231.

- Wächtershauser, G., 2000. Origin of life as we do not know it. *Science*, **289** (5483). <https://doi.org/10.1126/science.289.5483.1307>
- Weiss, M.C., Sousa, F. L., Mrnjavac, N., Neukirchen, S., Roettger, M., Nelson-Sathi, S. & Martin, W. F., 2016. The physiology and habitat of the last universal common ancestor. *Nature Microbiology*, **1**, article number 16116

FROM THE FORMATION OF THE EARTH TO THE ESTABLISHMENT OF LUCA

Abstract. The article discusses successive stages in the evolution of life up to the establishment of the prokaryotic cell emphasizing the transitions from pre-biotic environment to organic precursors, pre-RNA-RNA, RNA-proteins-DNA, DNA-LUCA. They are paired with the development of pre-biotic structural progenitors of a cell - micelles, vesicles, protocells, prokaryotic ancestor, two prokaryotic branches – Eubacteria and Archaeobacteria. The driving force is the natural selection (chemical, biochemical and biological), maintaining the correspondence between the emerging structures and their environment

Keywords: pre-biotic environment; polymerization; evolutionary transitions; bioenergetic processes; redox potential.

✉ **Assoc. Prof. Zdravka Kostova, DSc.**

ORCID iD: 0000-0001-8879-7680

Department of Information and In-service Teacher Training

Sofia University

Sofia, Bulgaria

E-mail: zdravkako@abv.bg.