

Präbiotische Chemie

Simulation einer präbiotischen Bildung von Aminosäuren in einer neutralen Atmosphäre durch elektrische Funkenentladungen**

*Kristof Plankensteiner, Hannes Reiner,
Benjamin Schranz und Bernd Michael Rode**

Die Bildung von Aminosäuren in einem präbiotischen Szenario ist die erste Voraussetzung für den Aufbau von Peptiden, Proteinen und ersten lebenden Organismen. Aminosäuren können durch unterschiedliche Prozesse entstanden sein; sie wurden bislang im Labor in einer reduzierenden Atmosphäre mit diversen Energiequellen synthetisiert.^[1,2] Die Synthese gelang bisher nicht in einer neutralen oder

[*] K. Plankensteiner, H. Reiner, Prof. Dr. B. M. Rode
Abteilung für Theoretische Chemie
Institut für Allgemeine, Anorganische und Theoretische Chemie
Universität Innsbruck
Innrain 52a, 6020 Innsbruck (Österreich)
Fax: (+43) 512-507-2714
E-mail: bernd.m.rode@uibk.ac.at

B. Schranz
HTL Innsbruck, Anichstraße
Anichstraße 26–28, 6020 Innsbruck (Österreich)

[**] Wir danken T. Jakschitz für die Herstellung der Elektroden und des Gehäuses der Hochspannungsquelle. Diese Forschungen wurden durch das Österreichische Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Kultur (bm: bwk, Projekt N 45.530/1-VII/B/7a/2002) unterstützt.

schwach oxidierenden Atmosphäre, die nach heutigem geochemischem Wissensstand für die Uerde angenommen werden muss.^[3,4] Für die Entstehung des Lebens waren mehrere Arten von Biomolekülen notwendig, darunter Proteine, Nucleinsäuren, Lipide und Saccharide. Alle diese Substanzen mussten sich unter den Bedingungen der Uerde bilden und zu Aggregaten und schließlich zu lebenden Organismen zusammenfügen.

Unsere Experimente waren vor allem auf Peptide und Proteine ausgerichtet, für die bereits mehrere präbiotisch relevante Synthesewege bekannt sind, z.B. die salzinduzierte Peptidkondensation (SIPF-Reaktion), die Bildung an der Oberfläche von Tonmineralien (Montmorillonit, Hectorit), Siliciumdioxid und Aluminiumoxid^[5] oder die Bildung unter vulkanischen oder hydrothermalen Bedingungen mit (Fe,Ni)S-Katalysatoren.^[6,7] Alle diese Reaktionen brauchen Aminosäuren als Edukte, deshalb ist ihre Bildung unter präbiotischen Bedingungen der grundlegende, buchstäblich „lebenswichtigste“ Schritt in der langen Kette von Ereignissen auf dem Weg zum ersten Leben. Früher wurde für die präbiotische Erde eine reduzierende Atmosphäre angenommen. Deshalb basierten die bahnbrechenden Experimente von Miller und Urey auf einer reduzierenden Gasmischung aus Methan, Wasserstoff, Ammoniak und Wasser, in der mit elektrischen Entladungen Aminosäuren und andere organische Verbindungen erzeugt werden konnten.^[1] Miller und andere Wissenschaftler wiederholten die Experimente mit unterschiedlichen Arten der Energiezufuhr und unterschiedlichen Atmosphärenzusammensetzungen,^[8–16] aber keiner von ihnen konnte Aminosäuren ohne reduzierende Gase synthetisieren.^[8,17,18]

Neueren geochemischen Erkenntnissen zufolge wurde die Sekundäratmosphäre auf der Erde vor 4 Milliarden Jahren hauptsächlich durch vulkanisches Ausgasen gebildet, nachdem Wasserstoff und Helium wegen des schwachen Gravitationsfelds der Erde zum großen Teil ins All entwichen waren. Aufgrund der geringen Stabilität von Ammoniak und Methan im UV-Licht der Sonne^[3,19] waren die Hauptkomponenten der Uratmosphäre daher wahrscheinlich Wasser, Kohlendioxid und Stickstoff,^[3,4] neben viel kleineren Mengen an Kohlenmonoxid, Methan, Wasserstoff, Schwefeldioxid^[20–22] und Sauerstoff.^[19,23–25] Letzterer konnte sich durch Zersetzung von Wasser und Kohlendioxid gebildet haben. Kontinuierlich gebildetes Ammoniak (z.B. durch Synthese aus den Elementen) wäre teilweise durch das UV-Licht der Sonne in der Gasphase zersetzt worden und teilweise, aufgrund seiner guten Wasserlöslichkeit, in den Ozeanen gelöst worden, wo es mit anderen Verbindungen weiterreagieren konnte.^[8]

In unseren Experimenten wurde – über flüssigem Wasser – eine simulierte präbiotische Atmosphäre elektrischen Entladungen ausgesetzt. Die Atmosphäre in unserem Reaktor (Abbildung 1) wurde durch kontinuierlich zugeführtes Kohlendioxid und zugeführten Stickstoff sowie Wasserdampf aus der flüssigen Phase bei 80 °C gebildet. Durch Gaswaschflaschen mit hochreinem HPLC-Wasser auf beiden Seiten konnte ein geschlossenes System gewährleistet werden. Ein Kühler auf der Auslassseite verhinderte den Austritt weniger flüchtiger Substanzen. Die Frequenz der Entladungen (ca. 60 kV, 30 mA) zwischen der Elektrode in der Gasphase und

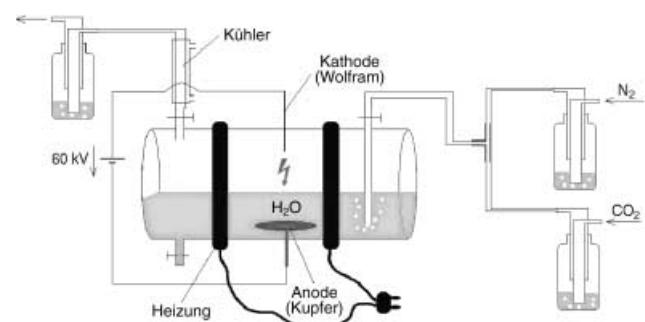


Abbildung 1. Aufbau zur Simulation elektrischer Entladungen in einer Atmosphäre aus Stickstoff, Kohlendioxid und Wasserdampf über flüssigem Wasser.

der Wasseroberfläche wurde auf 20 Hz eingestellt. Videobilder der Entladungen zeigten Mehrfachblitze und eine starke Lumineszenz in der Umgebung, was auf eine Ionisierung der Gasphase hinweist.

Nach zwei Wochen wies die Kupferelektrode erste Anzeichen von Oxidation zu CuO an ihrer Oberfläche auf, was die Entstehung von Sauerstoff durch die Entladungen belegt. Die Flüssigkeit färbte sich im Laufe des Experiments grün, was auf die Bildung von Cu^{II}-Ionen hinweist. Diese waren, wie an der Farbe erkennbar, teilweise mit anderen Liganden als Wasser komplexiert. Nach zwei Wochen wurde die Flüssigkeit abgelassen, eingeengt und durch Umkehrphasen-HPLC mit aminospezifischer Vorsäulenderivatisierung auf gelöste Produkte untersucht.^[26] In diesem Identifizierungslauf wurden die Reaktionsprodukte mit den reinen Standards der einfachsten Aminosäuren Glycin und Alanin verglichen. Zwei unterschiedliche Gradientenmethoden zeigten die Anwesenheit dieser Substanzen (Abbildungen 2a und b). Mehrere bisher nicht identifizierte Banden zeigen, dass neben Glycin und Alanin signifikante Mengen weiterer Substanzen entstanden. Außerdem nehmen wir an, dass intermedial während der Experimente Ammoniak gebildet wurde, das in Folgereaktionen zu den oben genannten Produkten weiterreagierte.

Die Verfügbarkeit von Aminosäuren in einem, auf dem derzeitigen Wissensstand über die urzeitliche Sekundäratmosphäre beruhenden, präbiotischen Szenario ermöglicht, wie in unserem Experiment angedeutet, die Bildung von Peptiden und Proteinen – grundlegenden Komponenten lebender Organismen. Außerdem spielt die Entstehung von Cu²⁺-Ionen unter diesen Bedingungen eine wichtige Rolle. Cu²⁺-Ionen sind essenziell für die Kondensation von Aminosäuren zu Peptiden in der SIPF-Reaktion^[5] und damit für die Bildung von Biopolymeren. Die Bildung von Sauerstoff unter den Reaktionsbedingungen ist eine mögliche Erklärung für seine Verfügbarkeit in einer frühen Phase der chemischen Evolution. Auch wird durch den entstandenen Sauerstoff das kontinuierliche Auftreten von Cu²⁺-Ionen zumindest im Experiment erklärt, da diese schon durch geringe Mengen an Sauerstoff in ihrer Oxidationsstufe gehalten werden.^[27]

Ein Ausfallen der Cu²⁺-Ionen als CuS war nur lokal möglich, z.B. in der Umgebung hydrothermalen Unterwasserschlotes mit erhöhter H₂S-Konzentration. Die Gesamtkon-

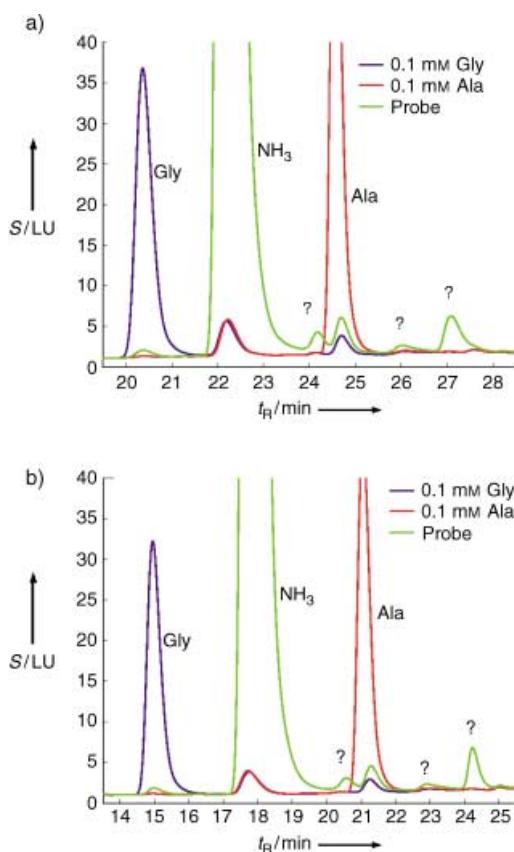


Abbildung 2. Chromatogramme der Probe mit den Standards a) Gradient 1. b) Gradient 2. FLD-Signal S, Retentionszeit t_R .

zentration von H_2S auf der Uerde war wahrscheinlich eher gering,^[3,4] was die großen Mengen an Cu-Mineralien wie Malachit und Azurit in so genannten Grünsteinzonen in präkambrischen Gesteinen belegen könnten.^[28,29] Diese könnten aus gediegenem Kupfer oder aus anderen Kupfermineralien durch Oxidation mit atmosphärischem O_2 entstanden sein. Auch das Auftreten oxidierter gestreifter Eisenformationen, die sich auf die älteste bekannte geochemische Periode datieren lassen,^[30] spricht für geringe H_2S -Vorkommen auf der Uerde. Außerdem waren Sauerstoffvorkommen auf der Uerde wichtig für die Bildung der ersten Elektronentransferproteine mit FeS-Clustern als Cofaktoren.^[31]

Experimentelles

Die verwendeten Gase (CO_2 4.8, N_2 5.0) stammen von Messer Austria. Als Gaszuleitung wurde hochinerter Tygon-Schlauch verwendet. Hochreines HPLC-Wasser ($18.5\ \Omega$) wurde mit einer Barnstead-Wasseraufbereitungsanlage erzeugt. Die Lösung wurde auf $\frac{1}{7}$ des ursprünglichen Volumens eingeengt und durch einen hydrophilen Polypropylen-GHP-Membranfilter ($0.2\ \mu\text{m}$ Porengröße, Pall Gelman) filtriert. Die erhaltene Lösung sowie die Standards (p.a., Fluka) wurden nach der Waters-AccQ-Tag-Methode für Aminosäuren derivatisiert.^[26] Hierfür wurden $70\ \mu\text{L}$ des Waters-Boratpuffers zu $10\ \mu\text{L}$ der Lösung in einem 2-mL-HPLC-Probenröhren mit $250\text{-}\mu\text{L}$ -Niedrigvolumeneinsatz gegeben. Nach kurzem Schütteln wurden $20\ \mu\text{L}$ des Waters-AccQ-Fluor-Reagens zugegeben.

Nach weiterem einminütigem Schütteln wurde das HPLC-Probenröhren verschlossen und 10 min bei 55°C inkubiert. Die so erhaltenen Lösungen wurden mit einem Agilent-1100-System mit einer Agilent-Säule ($5\ \mu\text{m}, 2.1 \times 200\ \text{mm}$) unter folgenden Bedingungen analysiert: Gradient 1: 0 min 0 % B (100% A), 0.5 min 2 % B, 15 min 7 % B, 19 min 13 % B, 33 min 32 % B, 34 min 100 % B, 39 min 100 % B, 40 min 0 % B, Ende 50 min; Gradient 2: 0 min 0 % B (100% A), 0.5 min 5 % B, 15 min 10 % B, 19 min 16 % B, 33 min 37 % B, 34 min 100 % B, 39 min 100 % B, 40 min 0 % B, Ende 50 min. Für beide Gradienten wurde ein Fluss von $0.45\ \text{mL}\ \text{min}^{-1}$ verwendet, die Säule war auf 37°C vorgewärmt. Das Injektionsvolumen betrug $10\ \mu\text{L}$. Die FLD-Detektion erfolgte bei $250\ \text{nm}$ Anregungswellenlänge und $395\ \text{nm}$ Emissionswellenlänge. Lösung A: $140\ \text{mM}$ wässrige Natriumacetatlösung mit $17\ \text{mM}$ TEA, pH 5.05 (Chemikalien p.a. von Fluka). Lösung B: 60 % Acetonitril (super gradient grade für HPLC, Fluka) in hochreinem HPLC-Wasser.

Eingegangen am 22. Oktober 2003 [Z53135]

Stichwörter: Aminosäuren · Kupfer · Oxidationen · Präbiotische Chemie · Redoxchemie

- [1] S. L. Miller, *Science* **1953**, *117*, 528–529.
- [2] J. B. S. Haldane, *Science and Human Life*, Harper Bros., New York, **1933**.
- [3] H. D. Holland, *The Chemistry of the Atmosphere and Oceans*, Wiley, New York, **1978**.
- [4] J. F. Kasting, T. P. Ackerman, *Science* **1986**, *234*, 1383–1385.
- [5] B. M. Rode, *Peptides* **1999**, *20*, 773–786.
- [6] C. Huber, G. Wächtershäuser, *Science* **1997**, *276*, 245–247.
- [7] C. Huber, G. Wächtershäuser, *Science* **1998**, *281*, 670–672.
- [8] S. Miyakawa, H. Yamanashi, K. Kobayashi, H. J. Cleaves, S. L. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 14628–14631.
- [9] A. Bar-Nun, N. Bar-Nun, S. H. Bauer, C. Sagan, *Science* **1970**, *168*, 470–473.
- [10] K. Harada, S. W. Fox, *Nature* **1964**, *201*, 335–336.
- [11] J. G. Lawless, C. G. Boynton, *Nature* **1973**, *243*, 405–407.
- [12] C. Sagan, B. N. Khare, *Science* **1971**, *173*, 417–420.
- [13] J. Oró, *J. Br. Interplanet. Soc.* **1968**, *21*, 12–25.
- [14] D. Yoshino, R. Hayatsu, E. Anders, *Geochim. Cosmochim. Acta* **1971**, *35*, 927–938.
- [15] K. Bahadur, S. Ranganayaki, L. Santamaria, *Nature* **1958**, *182*, 1668.
- [16] K. Kobayashi, M. Tsuchiya, T. Oshima, H. Yanagawa, *Origins Life Evol. Biosphere* **1990**, *20*, 99–109.
- [17] S. W. Fox, K. Dose, *Molecular Evolution and the Origin of Life*, Freeman, San Francisco, **1972**.
- [18] G. Schlesinger, S. L. Miller, *J. Mol. Evol.* **1983**, *19*, 376–382.
- [19] J. S. Levine, T. R. Augustsson, M. Natarajan, *Origins Life* **1982**, *12*, 245–259.
- [20] J. F. Kasting, *Science* **1993**, *259*, 920–926.
- [21] J. W. Delano, *Origins Life Evol. Biosphere* **2001**, *31*, 311–341.
- [22] J. C. G. Walker, *Origins Life Evol. Biosphere* **1985**, *16*, 117–127.
- [23] J. H. Carver, *Nature* **1981**, *292*, 136–138.
- [24] J. F. Kasting, *Origins Life* **1984**, *14*, 75–82.
- [25] K. M. Towe, *Precambrian Res.* **1983**, *20*, 161–170.
- [26] S. A. Cohen, D. P. Michaud, *Anal. Biochem.* **1993**, *211*, 279–287.
- [27] E. Ochiai, *Origins Life* **1978**, *9*, 81–91.
- [28] H. J. Hofmann, K. Grey, A. H. Hickman, R. I. Thorpe, *Geol. Soc. Am. Bull.* **1999**, *111*, 1256–1262.
- [29] A. P. Nutman, V. R. McGregor, C. R. L. Friend, V. C. Bennett, P. D. Kinny, *Precambrian Res.* **1996**, *78*, 1–39.
- [30] S. Moorbat, R. K. O’Nions, R. J. Pankhurst, *Nature* **1973**, *245*, 138–139.
- [31] A. Müller, N. H. Schladerbeck, *Naturwissenschaften* **1986**, *73*, 669–670.