

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Chemie



Jana Hrnčířová

Vznik biomolekul na površích jílu v prostředí raných terestrických planet
Origin of biomolecules over clays under conditions of early terrestrial planets

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Martin Ferus, Ph.D.

Praha, 2018

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Martinu Fergusovi, Ph.D. za vedení této práce a velkou trpělivost. Za pomoc při experimentech bych ráda poděkovala Ing. Adamu Pastorkovi, všem kolegům v týmu a panu Mgr. Lubošovi Jankovičovi, Ph.D. za přípravu a charakterizaci jílů. Za odbornou diskuzi a pomoc děkuji Judit E. Šponerové, Ph.D. a prof. RNDr. Svatopluku Civišovi, CSc.

Práce byla vypracována na Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského Akademie věd České republiky. Ráda bych také poděkovala projektu financovaného Grantovou agenturou ČR, č. 17-05076S a 14-12010S.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci na téma Vznik biomolekul na povrchích jílů v prostředí raných terestrických planet vypracovala samostatně a veškerou použitou literaturu jsem řádně citovala v seznamu referencí na konci této práce.

V Praze dne

.....
Jana Hrnčířová

Obsah

1. Abstrakt.....	6
2. Úvod.....	8
3. Teoretická část.....	9
3.1. Vznik života napříč historií.....	9
3.1.1. Evoluční teorie.....	11
3.1.2. Alexandr Ivanovič Oparin.....	11
3.1.3. Millerův-Ureyův experiment.....	12
3.1.4. Objasnění struktury DNA a život založený na RNA.....	14
3.1.5. Teorie Panspermie.....	15
3.1.6. Vznik života na dně moře.....	15
3.1.7. Buňka a vznik života.....	16
3.1.8. Meteority a vznik života.....	17
3.2. Teorie živých jílů.....	17
3.3. Terestrické planety.....	19
3.4. Formamid.....	19
3.4.1. Chemické a fyzikální vlastnosti formamidu.....	20
3.5. Syntéza nukleových bází účinky velkých laserových jisker ⁵³	21
3.6. Nukleové báze.....	21
4. Experimentální část.....	22
4.1. Použité detekční metody.....	22
4.1.1. Spektrometr s Fourierovou transformací.....	22
4.1.2. GC/MS.....	23
4.2. Provedení experimentů.....	28
4.3. Jíly použité při experimentech.....	30
4.3.1. Elementární analýza jílu.....	30
4.3.2. Rentgenová difrakce.....	31
4.3.3. Infračervená spektra.....	32
4.4. Postup termolýz.....	33
4.5. Měření meziproduktů.....	35
4.5.1. Formamidin.....	35
4.5.2. Aminoacetonitril.....	36

4.5.3. Dimer formamidu	36
4.6. Příprava vzorků pro analýzu na hmotnostním spektrometru	38
5. Výsledky a diskuze.....	39
5.1. Výsledky analýzy plynné a kapalné fáze	39
5.2. Detekce meziproductů	45
6. Závěr.....	53
7. Seznam použité literatury.....	55
8. Seznam zkratk.....	60

1. Abstrakt

Otázkou původu života na zemi či ve vesmíru se lidstvo zabývá již od nepaměti. Na počátku dvacátého století nahradila metafyzický přístup vysvětlující božím zásahem vznik života i základních stavebních kamenů biogenních látek, jako jsou aminokyseliny, báze a cukry, Oparinova teorie¹ o syntéze těchto chemikálií z abiogenní směsi jednoduchých plynů a následné formování živých struktur v tzv. koacervátech. Syntézu aminokyselin potvrdily experimenty Millera a Ureye². Následně se však problém prebioticky relevantní syntézy nukleových bází stal základním rozporem mezi představami evolučních a molekulárních biologů a závěry výzkumu chemiků. Z biologického pohledu se zdá vysoce pravděpodobné, že prvotní živé struktury byly založeny na sebeplicující entitě ribonukleové kyseliny (RNA). Z chemického hlediska se však jevila syntéza nukleových bází značně problematická, takže favorizovány byly modely živých struktur založené na aminokyselinách. To však odporuje základnímu dogmatu molekulární biologie, které klasicky postuluje jednosměrnou transkripci sekvence bází nukleové kyseliny do sekvence aminokyselin. V našich experimentech navazujeme na představu jednoduchého vzniku nukleových bází z molekuly formamidu za možných prebiotických podmínek. Směs formamidu s různými druhy všudypřítomných minerálů, v tomto případě řady jílu, byla vystavena teplotě 160° C v přítomnosti hoblin železného meteoritu. Cílem bylo zjistit, zda čisté meteorické železo, hrající důležitou úlohu v mechanismech syntéz navržených Sutherlandem a kol.³, nemá ve scénářích zahrnujících formamidovou syntézu spíše opačný efekt pozorovaný v celé řadě našich předchozích prací. Ukázalo se, že meteorit skutečně spíše potlačuje vznik základních biomolekul. Nicméně jestliže je železo interkalováno v jílu, výtěžnost reakcí roste. Lze předpokládat, že pakliže bylo prostředí rané Země bohaté na železo, které bylo působením eroze interkalováno do porézních materiálů (tak jako je tomu např. v případě dnešního Marsu), mohly být katalytickým účinkem takových minerálů zefektivněny syntetické reakce vedoucí ke vzniku nukleových bází. Tyto pochody mohly být prvním krokem při tvorbě složitějších biogenních látek, nezbytných pro samotný vznik života na naší planetě.

Klíčová slova

Formamid, vznik života, jíly, abiogeneze

Abstract

The mankind has always been interested in the origin of life on Earth or in the universe. The Oparin's theory¹ replaced creationist metaphysical theories (of gods' actions on Earth to create life) in the beginning of the twentieth century. This theory explained production of basic building blocks of life like amino acids, nucleobases and sugars from abiogenic mixture of gases and subsequent formation of so-called coacervates. The synthesis of amino acids was then confirmed by experiments of Miller and Urey². Especially the theory of simple formation of nucleobases became an essential contradiction between evolutionary and molecular biologists and chemists. From biological point of view it seems very probable that primal life structures were based on the self-replicating molecule of RNA. From chemical point of view the synthesis of nucleobases seemed very problematic, therefore the models of life structures based on amino acids were favorited. This opposes the basic dogma of molecular biology, which postulates one-way transcriptions of nucleobases' sequence into amino acids' sequence exclusively. In our experiments we follow the idea of simple production of nucleobases from formamide molecule in possible primordial conditions. The mixture of formamide with different types of clays was exposed to heating of 160 °C in the presence of NiFe meteorite. The aim of this was to observe the dependency of the yield of nucleobases in the presence of this meteorite, which was recently proclaimed by biochemist J. Sutherland³ to have positive effect on abiogenic syntheses. It turned out the presence of iron meteorite has significant negative effect on nucleobases' yield. Nevertheless, if the iron atom is intercalated in the clay molecule, the yield of nucleobases is increasing. It can be presumed that if early Earth's environment was rich on iron, which was intercalated into porous minerals by erosion (like on Mars nowadays), the synthetic reactions leading to the creation of nucleobases could have been favorited by catalytic effects of such minerals. These reactions could be the first step of production of more complex biogenic substances, which are necessary for the origin of life on Earth.

Key words

Formamide, origin of life, clays, abiogenesis

2. Úvod

Původ života představuje velmi komplikovanou otázku. Dlouho převládal názor, že tvůrcem celého vesmíru i veškerého života na naší planetě je Bůh. S příchodem osvícenství a širokým nástupem moderního pojetí bádání založeného na čistě vědeckých postupech, empirii a exaktní interpretaci výsledků, se však během 19. století začalo uvažovat o vzniku života chemickou cestou, byť iniciovanou z Boží vůle. První zcela vědeckou teorií moderní abiogeneze formuloval teoreticky ruský biolog Alexandr Ivanovič Oparin¹ v roce 1924. V roce 1953 byla experimentálně ověřena Stanleyem Millerem ve spolupráci s Haroldem Ureyem⁴. Tato teorie předpokládá vznik organických látek (podle tehdejších představ zejména aminokyselin a bílkovin) nezbytných pro život z abiotických látek, většinou jednoduchých plynů a jednoduchých organických sloučenin.

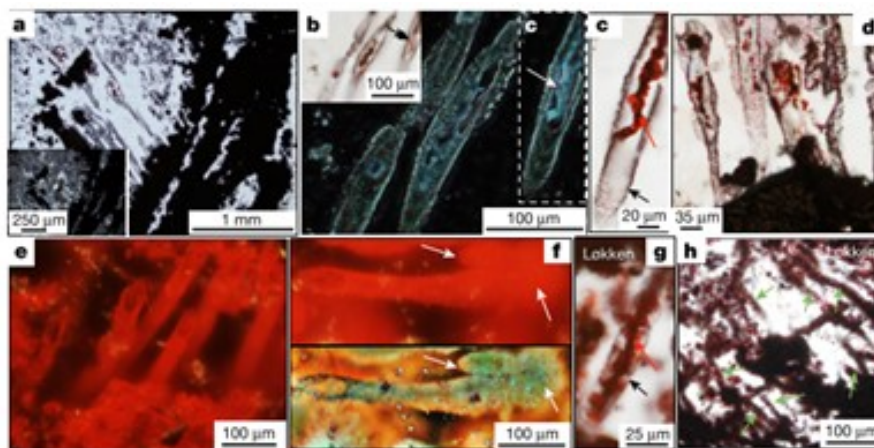
Ačkoliv definic života je celá řada, v pojetí moderní vědy lze popsat jako živé ty chemické (biochemické, biologické) systémy, které mají především schopnost rozmnožování (tvorby kopií s jistou variabilitou), čímž se rozumí schopnost asimilace hmoty z okolí, která je poté využita pro zmnožení vlastní živé hmoty. To se může projevat buď růstem původního jedince, nebo může dojít ke vzniku nových jedinců, kteří vykazují podobnost vůči původnímu jedinci. Zmiňme na okraj, že v počátcích vývoje života hrála velkou roli pravděpodobně nepřesná replikace⁵, které vedla ke spoustě chyb, nicméně nepřesné „kopie“ pak byly natolik variabilní, že vždy existovala taková, která se mohla přizpůsobit velmi proměnnému a dynamickému prostředí rané Země. Tedy, díky chybám v replikaci vznikali velmi variabilní potomci a alespoň část z nich měla naději, že se lépe přizpůsobí rychle se měnícímu prostředí. Základním rysem života je také evoluce, jako schopnost postupného vývoje a schopnost se přizpůsobovat okolnímu prostředí. Živé organismy se také projevují reakcemi na vnější prostředí, regulací vnitřních dějů a v neposlední řadě stálostí vnitřního prostředí⁶.

Koncem dvacátého století byla navržena teorie, která předpokládá, že existoval společný předchůdce organismů, ze kterého se všechny nynější organismy vyvinuly. Tento předchůdce byl tvůrcem teorie Carlem Woese nazván LUCA (Last Universal Common Ancestor) a jeho existenci lze ověřit pouze studiem genomů dnešních organismů⁷. LUCA pravděpodobně představoval jednobuněčný organismus⁸. V současné době je vnímán spíše jako hypotetický prapředek, vzhledem k možnostem horizontálního přenosu genomu, který vykazují bakterie.

3. Teoretická část

3.1. Vznik života napříč historií

První známky života se datují do doby před 4.1 miliardy let na základě izotopových analýz uhlíkových inkluzí v krystalech zirkonu⁹, jak ukazuje obrázek č. 1, kde (a) značí vlákna spojená s oxidy železa, (b) je hloubková rekonstrukce vláken s hematitickým filamentem (ukazuje šipka), (c) je vlákno demonstrující zkroucený filament (červená šipka) a stěny (černá šipka), (d) je silně zdeformovaná vlákna, (e) je hloubková rekonstrukce vláken, (f) jsou dvě vlákna přichycená ke koncovému uzlíku, (g) a (h) jsou vlákna a løkkenských jaspisů). Kromě mikrofosilií buněk navázaných na pyritových krystalech starých 3,4 miliard let¹⁰, existují také hypotetické mikrofosilie v hematitu staré až 4.3 miliard let¹¹. Když tedy vezmeme v potaz nalezené fosilie a jejich stáří, je zřejmé, že se život vyvíjel z jednodušších forem organismů, až se dostal do složitější formy života, jak ji známe dnes.



Obrázek č. 1: Obrázky hematitových vláken v NSB a løkkenských jaspisů

Historie teorií o vzniku života sahá až do starověku. Jedna z prvních teorií, která se objevila už ve 4. století před naším letopočtem, je známá jako teorie naivní abiogeneze a jejím nejznámějším představitelem je Aristoteles. Předpokládá, že živé organismy vznikají spontánně z nejbližšího materiálu. Například raci a měkkýši se rodí z vlhké půdy. Na tuto teorii navazuje i dominikánský mnich Albert von Bollstedt, který teorii samozrození ještě obohatil o oživující síly hvězd (země rodí houby, rostliny a trávu díky teplu, vlhku a světlu hvězd).

Ve středověku byla velmi rozšířená teorie o homunkulovi. Ta předpokládá vznik malého človíčka homunkula pouhým smícháním a zahřátím určitých chemických látek¹. Teorie klasické abiogeneze⁵ založená na představě, že z neživé hmoty se tvoří živé organismy, byla téměř vyvrácena až v 60. letech 17. století díky Francescovi Redimu. Ten vyvrátil domněnku, že se červi rodí sami od sebe z hnijícího masa, díky jednoduchému experimentu. Syrové maso bylo překryto mušelinem, díky kterému se na maso mouchy z vnějšího prostředí nemohly dostat, a v hnijícím mase se pak červi neobjevili, protože do něj mouchy nenakladly vajíčka a zabránilo se tak vzniku mušich larev (červů). Teorie klasické abiogeneze se na čas vrátila ještě v 18. a 19. století, kdy byly objeveny mikroorganismy. Právě jim bylo přisuzováno, že vznikají z hnijících látek a vznikají tak samy od sebe. Tato teorie byla definitivně vyvrácena až v druhé polovině 19. století, a to díky biologovi Louisovi Pasteurovi. Pasteur se zásadním způsobem podílel na zmapování míst, kde se mikroorganismy vyskytují (ve vodě, na našem těle, ve vzduchu) a byl pravděpodobně první, kdo si uvědomil jejich hojné zastoupení a s tím související rychlé množení. Zcela vyvrátil myšlenku, že zkažené nálevy samy plodí mikroorganismy a objasnil, že pouze tvoří vhodné prostředí pro vznik mikroorganismů, které se do nálevů dostaly z vnějšího prostředí. Ověření tohoto faktu dosáhnul díky jednoduchému experimentu. Do speciální baňky s dlouhým a zahnutým hrdlem, které připomínalo labutí krk, nalil vývar, který přivedl k varu. Varem se tak zničily všechny přítomné mikroorganismy a další se z venčí nemohly do vývaru dostat, právě díky speciálnímu tvaru hrdla baňky, ve kterém se zachytily. Bez mikroorganismů zůstal vývar do té doby, než byla baňka umístěna do vodorovné polohy a mikroorganismy uvězněné v křivce hrdla se do vývaru dostaly a ten se pak začal velmi rychle kazit¹².

Německý fyziolog, lékař a fyzik Hermann von Helmholtz prosazoval teorii, že na naši Zemi se zárodky života dostaly prostřednictvím meteoritů (tzv. litopanspermie). Ty se na povrchu zahřívají, když prochází atmosférou, ale uvnitř jejich teplota nedosahuje tak vysokých hodnot, takže cesta atmosférou by nemusela zabít zárodky života. Tato teorie byla však zamítnuta, protože v tehdejší době nebyly v meteoritech nalezeny kultivovatelné bakterie. Navíc materiál, ze kterého jsou zformovány, vznikl za podmínek, které nejsou vhodné pro život. V moderním pojetí se však tzv. teorie (lito)panspermie často vrací a teoretizuje se o přenosu života např. rychle se pohybujícími prachovými částicemi či asteroidy.

3.1.1. Evoluční teorie

Charles Darwin je zakladatelem evoluční teorie, která sice nevysvětluje, jak život vznikl, ale jeho poznatky úzce souvisejí s tímto tématem a přivedly vědce k úvahám o vzniku života v souvislosti s evolucí hmoty. Své poznatky shrnul v díle O vzniku druhů přírodním výběrem, které bylo vydáno v roce 1859¹³. Další práce a výzkumy navazující na Darwinovu teorii pracovaly s hypotézou, že díky evoluci život musel vzniknout za specifických podmínek z anorganických látek, které se díky (chemické) evoluci za podmínek rané Země přeměnily na organické až protobiologické látky. Charles Darwin také otevřel cestu ke zcela novým úvahám, ve kterých již nebylo místo pro takové koncepce, jako jsou teorie věčného života a vznik života výhradně Božím zásahem. Samotné připuštění faktu, že život musel někde vzniknout v podstatě chemickou evolucí (v moderním smyslu slova), bylo ve své době revoluční. Na této cestě bylo také důležité uvědomění si, že organismy jsou složeny ze základní sady biogenních prvků, které se také objevují volně v přírodě a dokonce i ve vesmíru (například uhlík).

3.1.2. Alexandr Ivanovič Oparin

První vědeckou práci o moderní abiogenezi a o vzniku života v podmínkách, jaké panovaly na Zemi krátce po jejím vzniku, publikoval Oparin v roce 1924 v knize Původ života¹. Oparin předpokládal, že v podmínkách panujících na naší rané Zemi, mohly chemické sloučeniny velmi dobře reagovat s dalšími chemickými látkami a vytvářet nespočet nových sloučenin a právě tímto způsobem se například i biomolekuly mohly zformovat. Teoretizoval o možné podobě prvotního života na bázi tzv. koacervátů, protože některé chemické látky se například nerozpouští ve vodě a pokud se s vodným prostředím dostanou do styku, vytváří malé shluky molekul – jaké si ohraničené zárodečné až živoucí útvary, které Oparin nazývá koacerváty. Oparin zdůrazňoval významnost bílkovin a aminokyselin, které se podílejí na stavbě hmoty, ale i na důležitých procesech nezbytných pro život (v jeho době nebyla role RNA a DNA jasná a za základ živé hmoty byly považovány bílkoviny). Je známo, že vlastnosti bílkovin závisí na jejich struktuře a právě prvotní bílkoviny se díky svým volným postranním řetězcům různých aminokyselin mohly slučovat a shlukovat s dalšími molekulami a mohly tak vznikat globuly a vodné roztoky obsahující bílkoviny se staly koloidními roztoky. Bílkoviny jsou jedinečné právě díky prostorové organizaci a svému organickému vývoji, který mohl podle Oparina vést ke vzniku prvních zárodků života. Koloidní látky se v roztoku shlukují a vytváří skupinky malých částíček, které mezi

sebou mohou navzájem interagovat. Může dojít také k vysrážení koloidních částic z roztoku (koagulace). Shluky bílkovin v libovolném objemu kapaliny se nazývají koacerváty (slovo koacerváty vzniklo odvozením slova acervus, což v překladu znamená hromada nebo kupa). Oparin tvrdil, že studiem bílkovin ve vodných roztocích zjistíme, že skoro všechny bílkoviny se nacházejí v koacervátech a v okolním roztoku je skoro čistá voda. Tato vlastnost je velmi podobná protoplasmě buňky, která má stejnou tendenci ke shlukování ve vodném roztoku. Koacerváty vykazují také známky vnitřní uspořádanosti, která je ovšem nestálá a je ovlivněna působením okolních sil. Díky koacervátům se tedy shluky organických látek oddělují od okolí a dokonce s dnešní protoplasmou má koacervát stejné fyzikálně chemické vlastnosti. Z výše uvedených skutečností můžeme koacerváty považovat za jakési předchůdce buněk, které se díky evoluci mohly přeměnit právě na buňky, jak je známe dnes, které jsou velmi důležitým a nepostradatelným rysem živých organismů. Důležitá je také jakási podobnost koacervátů a dnešních buněk. Buňky mění tvar a dokážou se i dělit. Podle Oparina se uvnitř koacervátů také mohou koncentrovat látky z okolních vodných roztoků.

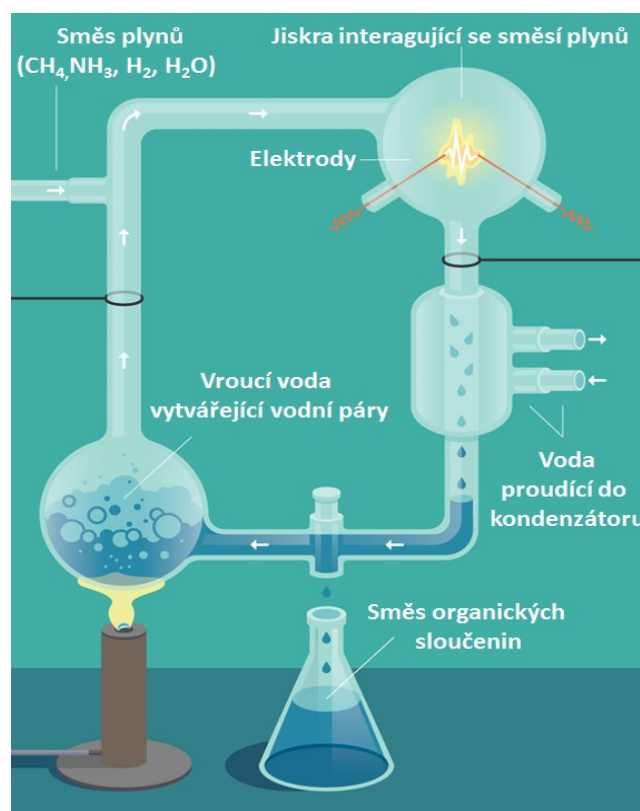
Ačkoliv takovéto shluky chemických látek pro život nestačí, neboť buňky jsou dokonale synchronizované a organizované systémy, myšlenky Oparina představovaly nový pohled na problematiku vzniku života bez Božího zásahu. Tehdejší vědecká veřejnost tuto teorii nicméně nepřijímala s nadšením. Dodejme, že Oparin se také zajímal o okolní vesmír a především o to, co se dělo krátce po zformování solárního systému. Navrhnul hypotézu, že krátce po vzniku naší planety nebyl v její atmosféře kyslík – panovalo zde anoxické redukční prostředí (v dnešní terminologii), což podporovalo jeho teorii, protože je známo, že při kontaktu s kyslíkem by se mohly ještě nestálé organické a protobiologické sloučeniny rozložit. Na teorii s redukční atmosférou navázali Miller a Urey v roce 1952. Byli první, kdo Oparinovu teorii experimentálně ověřil.

3.1.3. Millerův-Ureyův experiment

Stanley Miller a Harold Urey byli první, kdo experimentálně ověřil teorii moderní abiogeneze, přičemž navazovali na práci Alexandra Ivanoviče Oparina z roku 1924. Schéma aparatury použitou v jejich experimentech ukazuje obrázek č. 2.

Jich pokus odrážel tehdy platné představy o podmínkách na rané Zemi. Redukční atmosféru simulovali směsí vodní páry, methanu, amoniaku a vodíku. Plyny a vodní páry byly po ohřátí převedeny do místa, kde byl generován elektrický výboj, který simuloval úder blesku, které se na naší planetě hojně vyskytovaly. Následně směs

zkondenzovala a byla znovu perkolována aparaturou. Celý experiment tímto způsobem nechali probíhat 7 dní a následně byly produkty analyzovány pomocí chromatografie na tenké vrstvě. Výsledkem experimentu bylo nalezení 2-aminobutanové kyseliny, glycinu, kyseliny asparagové, α -alaninu a β -alaninu. Výsledek svého experimentu vědci publikovali v roce 1953 v časopisu Science². Experiment byl poté ještě několikrát proveden a podrobněji analyzován¹⁴. Kromě sloučenin nalezených při prvním experimentu byla následně detegována například močovina, kyselina mléčná, kyselina mravenčí, serin nebo valin⁴. Základní problém pro uznání této formy abiogeneze jako teorie relevantní pro vznik života byla nepřítomnost nukleových bází, jejichž sekvence se považují za nositele dědičné informace. Vznik života pouze z aminokyselin odporoval tehdy rozvíjející se teorii RNA světa, podle níž musela být první živá struktura založena na molekulách dědičné informace. Výsledky odporují základnímu dogmatu molekulární biologie, které definuje přenos genetické informace do sekvence aminokyselin a nikoliv opačně. Aminokyseliny tak z tohoto pohledu nemohly tvořit první živoucí struktury, protože by nebylo možno „otisknout“ jejich pořadí do genetické sekvence. Ta se může přenášet z DNA na RNA, procesem zvaným transkripce, a z RNA na proteiny (procesem zvaným translace neboli proteosyntéza).



Obrázek č. 2: Schéma aparatury pro Millerův-Ureyův experiment¹⁵

3.1.4. Objasnění struktury DNA a život založený na RNA

V roce 1953 zveřejnili Crick a Watson v prestižním časopise Nature¹⁶ objev týkající se objasnění a identifikace struktury deoxyribonukleové kyseliny, jako nositelky dědičné informace. Tento významný výsledek spolu s popisem transkripce a translace mimo jiné vedl vědce ke zjištění, že život a celá jeho chemie jsou daleko komplikovanější, než předpokládali. Oparinova teorie se tak pro některé stala ještě méně uvěřitelná, protože je těžko představitelné, že tak komplikovaná molekula jako je DNA, vznikne spontánně abioticky jednoduchou čistě chemickou cestou, s jakou pracuje teorie abiogeneze.

Přesto tento objev vedl k formulování teorie RNA světa – prvotní živé struktury založené na relativně jednoduché molekule ribonukleové kyseliny. Mezi významné osobnosti spojované s touto teorií patří Leslie Orgel. V roce 1968 publikoval článek, kde jasně formuloval, že první zárodky života byly tvořeny z velké části RNA a nikoli DNA¹⁷ a složitých proteinů. Výhodou RNA je její schopnost se sama replikovat mechanismem párování bází obdobným,

jako je párování v DNA. Replikace a tedy přenos dědičné informace je jedním z důležitých projevů života, jako například i metabolismus, který je pro mnohé biology jako důkaz života stejně důležitý.

V 60. letech 20. století převládaly 3 skupiny vědců s různým názorem na vznik života. Jedni věřili, že počátky života začaly formací shluků biomolekul, obdobou dnešních buněk. Druhá skupina se zaměřila na metabolismus a podle nich replikace a přenos genetické informace byly až na druhém místě. Poslední skupina prosazovala vznik života na bázi RNA světa a zkoumala, jak první replikace mohla vypadat.

V roce 1982 přispěl do teorie RNA světa Thomas Cech objasněním katalytické aktivity RNA¹⁸. Krátce poté došlo k objevu ribozomu¹⁹. Tyto objevy tedy podporovaly teorii vzniku života prostřednictvím RNA. Thomas Steitz v roce 2000 uvedl svoji práci popisující detailně strukturu ribozomu²⁰, díky které zjistil, že právě RNA je katalyzátorem ribozomu²¹. Díky všem těmto událostem a objevům se teorie o vzniku života založená na RNA stala jasným favoritem. V současném pojetí se spekuluje o tom, že právě ribozom patří mezi vývojově nejstarší části buňky – je památkou, na dávný čistě molekulární svět RNA, a ačkoliv je základní funkční částí současných buněk včetně těch lidských, ve skutečnosti možná představuje prvotní záblesk života na naší planetě.

3.1.5. Teorie Panspermie

Teorie Panspermie se v historii objevila již dříve, ale teprve ve 20. století byla dopodrobna rozvedena a to díky švédskému fyzikálnímu chemikovi Svantemu Arrheniovi. Její podstatou je hypotéza, že život byl na Zemi zanesen z vesmíru prostřednictvím těles mezihvězdné či meziplanetární hmoty, které na Zemi dopadají téměř neustále. Jedním z argumentů bylo, že ranou Zemi navíc ještě nechránila atmosféra, ve které dnes shoří velké množství meteoroidů a asteroidů (nicméně současné poznatky spíše předpokládají, že raná atmosféra Země byla oproti té dnešní naopak velice hustá). Z hlediska teorie panspermie se jeví nejvíce problematicky otázka, zda jakýkoliv zárodek života mohl přežít podmínky v mezihvězdném prostoru a transport vesmírem, za podmínek vakua, velmi nízkých teplot a zejména velmi tvrdého záření, např. UV a gama, které mají prokazatelný germicidní vliv například na bakterie, mikroorganismy a dokonce i jejich spory, které jsou rezistentní například i vůči vysokým teplotám. Negativní vliv UV záření je prokázán i u bílkovin. Existuje však i bakterie, známá jako *Deinococcus radiodurans*, která je odolná vůči ionizujícímu záření²².

I přesto z těchto úvah vyplývá, že jestli se k nám určitá forma života dostala z vesmíru, musela být něčím chráněna. Jinou verzí této teorie je předpoklad, že na ranou Zemi mohly být doneseny jen potřebné chemické látky – zde hovoříme o tzv. chemické panspermii²³. Teorie panspermie neřeší otázku vzniku života, protože neupřesňuje, jak mohl zárodek života vzniknout na jiném místě ve vesmíru.

3.1.6. Vznik života na dně moře

Günter Wächtershäuser²⁴ navrhl úplně nový pohled na vznik života. Podle něj prvotní zárodky života nebyly založené na DNA ani RNA a neměly ani enzymy a dokonce ani buňky. Ke zrodu života došlo v proudící horké vodě pocházející ze sopky. Tato horká sopečná voda obsahovala amoniak i další rozpuštěné plyny a vulkanické minerály. Takovýto roztok se dostával do styku s horninami bohatými na železo, které mělo sehrát roli katalyzátoru, a mohly tedy započít první chemické reakce prvotního života. Energie, nezbytná pro tvorbu nových látek, měla být získávána například ze siřičitanů kovů, které se kolem černých kuřáků hojně nacházejí.

Michael Russel na základě výše uvedených teorií předpokládá, že život v takovém případě mohl vzniknout na dně moře, kde jsou podmínky popsány Wächtershäuser. Tak jako v minulosti i dnes se na dně oceánů nacházejí hydrotermální průduchy

s teplotou okolo 400 °C zvané černí kuřáci. Poblíž nich žijí mikrobi, takzvaní termofilové²⁵. Teplota se vzdáleností od průduchu rychle klesá, nicméně podle výše zmíněné teorie právě tento teplotní gradient je výhodný například pro vznik nukleových bází, protože adenin a guanin vznikají spíše za nižších teplot než uracil a cytosin²⁶. Povrch kuřáků je tvořen minerály, vnesenými horkou vodou z podzemí. Tyto minerály po ochlazení sedimentují a krystalizují. Horká voda je bohatá například na sulfidy a je značně kyselá. Černí kuřáci se vyskytují v Atlantickému Tichém oceánu (poprvé byly objeveny poblíž Galapág²⁷). Hydrotermální průduchy mohly být vhodným místem pro vznik života jednak díky stálým podmínkám vzhledem k okolní rané Zemi, a také díky minerálům obsaženým ve vyvěrající vodě. Hydrotermální průduchy jsou zajímavé také pro jejich schopnost vytvářet nanočástice pyritu²⁸, které se mohou volně pohybovat v okolí hydrotermálních průduchů a na rozdíl od větších částic pyritu nesedimentují na dnech moří. Železo obsažené v pyritu tak mohlo sloužit jako katalyzátor při specifických reakcích. Objev také vysvětluje původ železa v organismech žijících na dně moří. Touto cestou by mohl tedy vzniknout život navržený Wächtershäuserem.

3.1.7. Buňka a vznik života

Některé definice života považují buňku za základní charakteristickou jednotku živých struktur²⁹. Buňka představuje v podstatě místo výskytu nezbytných látek pro život dokonale oddělené od okolního prostředí. Přitom sama funguje jako malý stroj.

Pier Luigi Luisi je zastáncem názoru, že metabolismus ani samoreplikující RNA nemohou fungovat, pokud nedojde k nahromadění potřebných chemických látek ve vhodném prostředí a právě toto nahromadění látek zajišťuje buňka, která navíc vytváří homogenní a vhodné podmínky³⁰. Touto myšlenkou se ovšem Pietr Luigi Luisi vrací zpátky k teorii koacervátů, které navrhnul již Oparin. Právě lipidy vytváří ve vodném prostředí jakési shluky a existuje i teorie, která právě lipidy považuje za prvotní chemické sloučeniny, které stály u vzniku života³¹. Dnešní buňky dokáží regulovat tok látek z buňky a do buňky. Předpokládá se, že prvotní buněčné struktury tento mechanismus neměly plně funkční. Musely tedy vzniknout na místě, kde bylo chemické složení podobné, jako je vnitřní chemické složení dnešních buněk, což vylučuje vznik života na dně moří a oceánů. Jako vhodné místo pro zformování a vznik prvotních prabuněk ukazují například okolí vulkánů (například geotermální rybníčky, které obsahují hodně draslíku a fosfátu). Právě tyto prvky se dnes hojně vyskytují v našich buňkách³².

3.1.8. Meteority a vznik života

Přibližně před 3,8 až 4 miliardami se naše raná Země nacházela v období zvaném Pozdní velké bombardování (Late Heavy Bombardment), kdy na ní hojně dopadaly různé objekty z meziplanetárního prostoru ve spojitosti s evolucí orbitálních trajektorií planet. Z hlediska fyzikálních účinků impaktů lze zmínit například fakt, že náraz mimozemského tělesa na povrch rané Země mohl narušit i zemskou kůru. To mohlo mít vliv na geotermální aktivitu a kráter, vzniklý po impaktu, pravděpodobně byl místem, kde docházelo ke styku mnoha chemických látek, které se mohly rozpouštět, vyluhovat nebo macerovat. Pravděpodobně tu vznikalo mnoho organických látek díky různorodým chemickým reakcím. A právě na takovémto místě mohla vzniknout první prabuňka. Je to totiž ideální prostor na zkoncentrování a nashromáždění všech potřebných chemikálií. Ke všem výše zmíněným teoriím John Sutherland přispívá další teorií, která se týká právě střetu naší Země s meteoritem nebo asteroidem³. Jeho práce nenavrhuje přímo pochody syntézy účinky rázové vlny tak, jako je tomu v případě výzkumů publikovaných naším týmem^{33,34,35}, ale navazuje na předešlé teorie a snaží se mezi nimi hledat logický, sjednocující prvek a prostřednictvím spojitostí řešit jejich nedostatky. Ať už tedy život vznikl podle jakéhokoli scénáře, všechny vědecké poznatky poukazují na to, že při tom docházelo k velmi specifickým chemickým reakcím. Na otázku vzniku života je tedy nutné pohlížet komplexněji z několika úhlů. Musíme brát v úvahu například podmínky na rané Zemi, plausibilitu chemických dějů za těchto podmínek a v neposlední řadě i poznatky biologické. Ukazuje se také, že jako v celém vývoji člověka jako takového, hraje nenahraditelnou roli evoluce, nebude tomu jinak i u vzniku života.

3.2. Teorie živých jílů

Podle teorie živých jílů, jejímž autorem je Graham Cairns-Smith se i samotné jíly dají považovat za živé. Autor tuto teorie více rozvedl ve své knize *Seven Clues to the Origin of Life*³⁶. Kniha popisuje vznik metabolických drah, které jsou v dnešní podobě dost složité, na základně chemie jílů. Podle knihy metabolické dráhy vznikaly tím, že jednotlivé metabolické kroky byly postupně vytvořeny a jiné zase zanikaly a byly nahrazeny jednoduššími. Tímto způsobem tak vznikl celkem snadno složitý organismus s pochody, které lze přirovnat ke katabolickým a anabolickým reakcím v živých systémech a umožnil vznik rychlejších a efektivnějších metabolických cyklů. Cairns-Smith zde také blíže popisuje pojem organismus. Podle něj tento pojem označuje všechno, co podléhá selekci a evoluci a je schopno nést genetickou informaci. Pojem

organismus se tedy podle této knihy neomezuje pouze na živé struktury a organismy složené z uhlíkatých řetězců. Jíl se dokáže replikovat a přenášet například pomocí větru, a dokonce je schopen přenášet i svoje nepravidelnosti v krystalové mřížce. Jíly se díky svému složení řadí mezi hlinitokřemičitany, které jsou typické svojí kovalentní strukturou, která spojuje pravidelně rozmístěné ionty kovu. U těchto struktur velmi často dochází k poruchám v krystalové mřížce a původní ion kovu se ocitne mimo pravidelné uspořádání nebo se vymění za jiný iont kovu. Následnou replikací vznikají i zcela nové defekty a vznikají tak nové mutace. Jíly zbavené vody si uchovávají svoji strukturu a vytvoří se z nich velmi jemný prach, který se tak může snáze přenášet na jiná místa prostřednictvím větru a svojí strukturou jíly mohou ovlivnit strukturu jiných krystalů, popřípadě jejich struktura může být zcela předána jiným jílům. Tento jev se dá považovat za náznak replikace.

Dalším charakteristickým znakem jílu, který může být pokládán za náznak projevu charakterizující živé organismy, je schopnost aktivního působení na své okolí a schopnost ho měnit. Proudící vodu jíly ovlivňují vytvářením hrází a slepých ramen, kde může docházet například k odpařování vody nebo ke zvyšování koncentrace daných látek, které jsou ve vodě rozpuštěné. Jíly také mohou interagovat s organickými látkami. Ty se v jílech mohly koncentrovat a mohlo zde docházet také k lepšímu a častějšímu kontaktu různorodých chemických látek a jíly tak mohly napomoci vzniku prekurzorům života, jako jsou například nukleové báze. Kniha také uvádí, že vznik složitějších organických látek, vedoucích k prekurzorům života, se odehrával právě na povrchu jílu v tenkých vrstvičkách a nikoli v oceánech či v atmosféře. Křemík jako prvek obsažený v jílech se hojně nachází ve vesmíru a je i odolnější vůči vyšším teplotám oproti uhlíku. Tato teorie má však určité nedostatky, díky kterým je sporné jíly považovat za živé. Skutečnost, že život se nakonec vyvinul na základě organických sloučenin a nikoliv na základě jílu, může souviset i s faktem, že uhlík v organických sloučeninách je stabilnější než křemík, který je hlavní složkou jílu. Další výhodou organických sloučenin na bázi uhlíku je jejich velká variabilita a schopnost se snadno přeměňovat na jiné sloučeniny specifickými reakcemi.

James Ferris se zabýval vlivem jílu na anorganické reakce a v roce 1986 potvrdil experimentem, že právě montmorillonit funguje jako katalyzátor při chemických organických reakcích³⁷. Jeho další výzkum směřoval k objevu, který ukázal, že montmorillonit katalyzuje také vznik RNA³⁸. Také v předkládané bakalářské práci se zabýváme katalytickým působením jílu. Celá řada výsledků v naší laboratoři zcela

jednoznačně ukazuje, že jíly jsou vynikajícími katalyzátory v prebiotických podmínkách.

3.3. Terestrické planety

Naše Země, stará přibližně 4,6 miliard let, se řadí spolu s Merkurem, Venuší a Marsem k terestrickým planetám, které vznikly především z plynu a prachu v globuli, která se díky vlastní gravitaci smršťovala a také rotovala. Ve středu globule vznikl zárodek Slunce obklopený proto-planetárním diskem. Díky slunečnímu větru vymizely ze středu proto-planetárního disku plyny (například helium a vodík). Sluneční vítr způsobil, že v okolí přibližně 700 milionů kilometrů od naší mateřské proto hvězdy zbyla pouze hustá prachová vrstva, která dala základ pro vznik terestrických planet. Právě toto prostředí bylo ideální pro vzájemné srážky prachových částic a zrnka se tak mohla navzájem spojovat a zvětšovat až vznikly zárodky planet zvané planetesimály, které se začaly přitahovat díky gravitační síle. Takto vznikly první protoplanety, které se do dnešní podoby, tedy do tvaru koule s pevnou kůrou na povrchu planety a horkým jádrem ve středu, dostaly díky ohřevu, způsobeného například impaktem dalších planetesimálů, radioaktivnímu rozpadu a díky dalšímu smršťování. Na okrajích proto-planetárního disku se díky slunečnímu větru nahromadily lehké plyny a došlo tak ke vzniku obřích planet jako jsou Jupiter, Saturn, Uran, Neptun³⁹.

3.4. Formamid

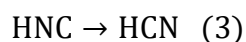
V experimentech předkládaných v této bakalářské práci byl za výchozí chemickou látku vybrán formamid. Tato jednoduchá sloučenina je složena pouze ze 4 prvků, ovšem důležité je, že všechny jsou biogenní: uhlík, kyslík, vodík a dusík. Formamid se řadí mezi nejjednodušší amidy, který se volně nachází v přírodě a dokonce i ve vesmíru nebo vesmírných objektech. Například v kometách (Hale-Bopp⁴⁰), v jádrech galaxií a v mezihvězdném prostoru. Ve vesmíru může vznikat například fotolýzou či radiolýzou různých ledů, například HCN, H₂O a NH₃⁴¹, která svým složením simulují komety. Klasickou cestou syntézy formamidu, nikoliv však nerelevantní k prebiotické chemii, je i pyrolýza mravenčanu amonného či jednoduché směsi vodní páry, oxidu uhelnatého a amoniaku⁴². Je známo, že HCN, který se řadí mezi nejméně zastoupené organické látky v mezihvězdném prostoru⁴³, může reakcí s H₂O, která je také hojně zastoupena ve vesmíru, vytvářet formamid. Ve Sluneční soustavě lze formamid najít například na Europě a na Titanu^{44,45,46}.

Z jistého úhlu pohledu tak formamid reprezentuje „ideální“ prebiotickou sloučeninu – základní mateřskou chemickou látku pro prebiotickou syntézu. Tuto myšlenku podporují i experimenty, při kterých bylo prokázáno, že z formamidu vznikají za prebiotických podmínek biomolekuly. Je známá syntéza purinu, adeninu, cytosinu po zahřátí formamidu v přítomnosti CaCO_3 a dalších minerálů⁴⁷. Díky UV-záření a teplotě 130°C vzniká z formamidu adenin, hypoxanthin a guanin⁴⁸. V přítomnosti borátových minerálů a vysoké teploty formamid poskytuje purinové a pyrimidinové báze, kyselinu mléčnou nebo kyselinu glykolovou⁴⁹. Aminokyseliny (například glycin, alanin, prolin), nukleové báze, ale i karboxylové kyseliny, nukleosidy a další biomolekuly byly získány ozařováním formamidu protony v přítomnosti meteoritu⁵⁰.

Cílem této práce bylo především zjistit, jaký vliv na vznik nukleových bází má NiFe meteorický prach v podmínkách panujících na naší rané Zemi. Formamid se tu zřejmě hojně vyskytoval v lagunách, které postupně vysychaly. Díky svojí tepelné stabilitě a vysoké teplotě varu se mohl zakoncentrovávat ve vodných roztocích. Za prebiotických podmínek působením UV záření, vysoké teploty či plazmatu z něj mohly vznikat prebiotické molekuly. Jestli však tyto vlivy byly spouštěčem nebo spíš inhibátorem chemických procesů vedoucích ke vzniku života, je velmi komplikovanou otázkou, kterou se zabývají mnozí vědci na celém světě.

3.4.1. Chemické a fyzikální vlastnosti formamidu

Formamid je bezbarvá kapalina s teplotou varu ${}^{51}t_v = 210^\circ\text{C}$ a s hustotou ${}^{51}\rho = 1,1133 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Formamid se rozkládá procesy dehydratace, dekarboxylace a dehydrogenace. Jedná se o termolýzy za teplot 160°C . Při dehydrataci vznikne kyanovodík, voda nebo isokyanovodík a voda. Isokyanovodík je však nestabilní a při laboratorní teplotě se zpátky přeměňuje na kyanovodík (rovnice č. 1, č. 2 a č. 3).



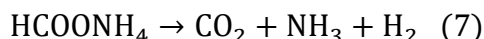
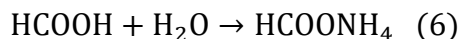
Při dekarboxylaci vzniká oxid uhelnatý a amoniak (rovnice č. 4).



Dehydrogenací vzniká vodík a kyselina isokyanatá (rovnice č. 5).



Reakcí formamidu s vodní parou vzniká methanal amonný, který se následně rozkládá na oxid uhličitý, amoniak a vodík (rovnice č. 6 a č. 7)⁵².



3.5. Syntéza nukleových bází účinky velkých laserových jisker⁵³

Formamid na rané Zemi byl vystavován různým druhům energií z různých zdrojů. Jednalo se například o velmi silné UV-záření. Tuto teorii formulovali Saladino a Di Mauro ve svojí práci⁴³. Náš tým se zaměřil mimo jiné i na výzkum chemických účinků impaktů mimozemských těles v souvislosti se vznikem života¹⁹. Naše Země byla před asi 4,6 až 3,8 miliardami let vystavena četným dopadům mimozemských těles během období nazývaného Early a Late heavy bombardment (EHB a LHB). Ty byly simulovány pomocí vysoce výkonného laseru PALS (Prague Asterix Laser System), který se řadí mezi 3 největší lasery v Evropě. Dokáže generovat laserovou jiskru o energii až 1000 J a výkonu v řádu TW, nicméně v našich experimentech byla použita energie 150 J, která postačila k laboratorní simulaci dopadu mimozemského objektu, například metrového meteoroidu (co se týká jeho energie, ve skutečnosti dosažená teplota kolem 5000 K i hustota plazmatu postačují k napodobení impaktu i velkých asteroidů, teplota je totiž parametrem nezávislým na velikosti impaktoru⁵⁴). Naše experimenty dokazují, že plazma vygenerované těmito impakty iniciuje vznik nukleových bází z formamidu, tedy dochází ke vzniku základních stavebních kamenů RNA světa.

3.6. Nukleové báze

Sekvence nukleových bází se považují za nositelky genetické informace⁶. Mezi nejdůležitější báze nukleových kyselin se řadí adenin a guanin, které jsou odvozené od purinu (purinové báze). Dalšími bázemi jsou cytosin, uracil a thymin, které se odvozují od pyrimidinu (pyrimidinové báze). Mezi minoritní báze se řadí například ještě hypoxantin. Nukleové báze jsou součástí nukleotidu, kde se kromě báze nachází ještě zbytek kyseliny fosforečné a cukr (u DNA deoxyribóza). Nukleotidy tvoří základní prvek v molekule DNA i RNA.

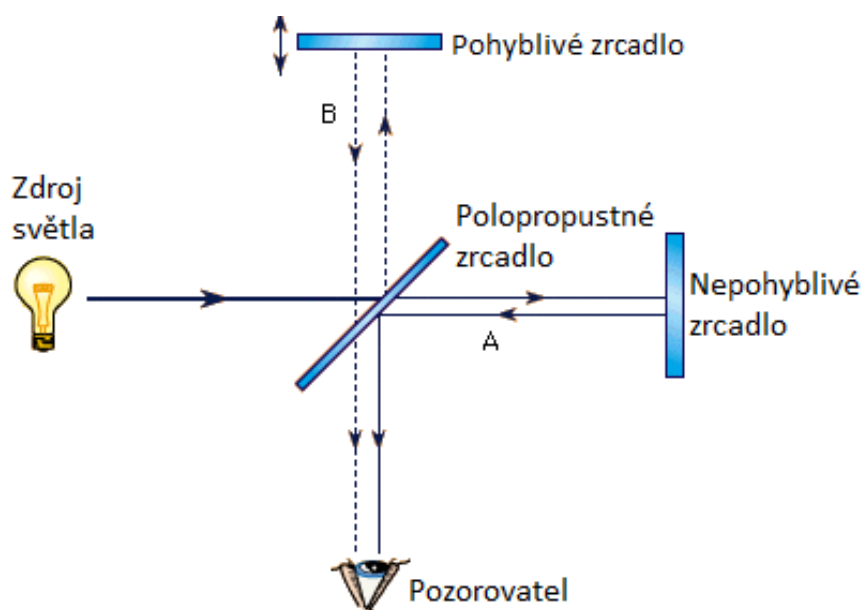
4. Experimentální část

4.1. Použité detekční metody

Při zpracovávání výsledků našeho experimentu jsme používali dvě metody. Pro detekci látek v plynné fázi, jsme využili infračervený spektrometr s Fourierovou transformací bez časového rozlišení. Dále jsme analyzovali i kapalnou fázi a to po odpaření roztoků pomocí plynové chromatografie s online hmotnostní detekcí.

4.1.1. Spektrometr s Fourierovou transformací

Spektrometrie FTIR⁵⁵ je nedestruktivní a velmi citlivá metoda, která se v minulosti používala například při astronomickém měření spekter planet a i dnes se hojně využívá v mnoha oblastech včetně analytické. Základním komponentem celého zařízení je interferometr, jehož schéma je znázorněno na obrázku č. 3. Obrázek ukazuje Michelsonův interferometr, ve kterém paprsek vycházející ze zdroje dopadá na dělič paprsků, který část paprsku odrazí na pohyblivé zrcadlo a část paprsku odrazí na nepohyblivé fixní zrcadlo. Po dopadu paprsku na jednotlivá zrcadla, se obě frakce paprsků opět odrazí a na dělič paprsků dojde k jejich interferenci. Díky pohyblivému zrcadlu je paprsek od něj odražený posunutý o dráhový rozdíl δ . Nakonec oba paprsky dopadají na detektor a získaná data jsou zpracována pomocí počítače.



Obrázek č. 3: Základní geometrické uspořádání Michelsonova interferometru⁵⁶

Výsledkem experimentu při použití FTIR spektroskopie je interferogram. Ten se dá vyjádřit jako funkce, která je popsána rovnicí č. 8. $S(\delta)$ pak vyjadřuje intenzitu záření, které detektor zpracuje, symbol k charakterizuje vlnový vektor světla a veličina I_k představuje intenzitu k -té monochromatické složky záření.

$$S(\delta) = \int_{-\infty}^{\infty} I_k(k) \exp(ik\delta) dk \quad (8)$$

Klíčovou vlastností FT je její schopnost převést interferogram $S(\delta)$, který je zaznamenán detektorem, na spektrum zdroje $I(\nu)$ a právě tato skutečnost je vyjádřena v rovnici č. 9.

$$I(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} S(\delta) \cos(2\pi\nu\delta) d\delta \quad (9)$$

Je nutné si upřesnit, čím je vytvářený interferogram limitován a ovlivněn. Jedná se především o minimum dráhového rozdílu, které představuje nulová hodnota a maximum dráhového rozdílu. Ten je dán délkou dráhy pohyblivého zrcadla a je tedy ovlivněn přístrojovým uspořádáním. Vznikající interferogram je tvořen z N bodů, které sbírá detektor.

Polohu pohyblivého zrcadla lze sledovat díky He-Ne laseru. Ten vysílá paprsek, jehož optická dráha se neliší od optické dráhy, kterou urazí paprsek ze zdroje. Paprsek z laseru nakonec doputuje na fotodiodu, která ho vyhodnotí jako pilovitý signál.

4.1.2. GC/MS

Pro zjištění kvantity a kvality látek v kapalně fázi po termolýze jsme používali metodu GC/MS. Jde o spojení plynové chromatografie jako separační metody a hmotnostní spektrometrie jako metody detekční⁵⁷. Výsledkem je chromatogram, tj. chromatografický časový záznam a hmotnostní spektrum, které představuje závislost relativní intenzity iontového proudu na poměru hmotnosti a náboje m/z (viz níže).

Spojení těchto metod je velmi efektivní a analyticky víceúčelové; plynová chromatografie umožňuje separaci složek daného vzorku, která je následována jejich analýzou pomocí hmotnostního spektrometru.

4.1.2.1. Plynová chromatografie

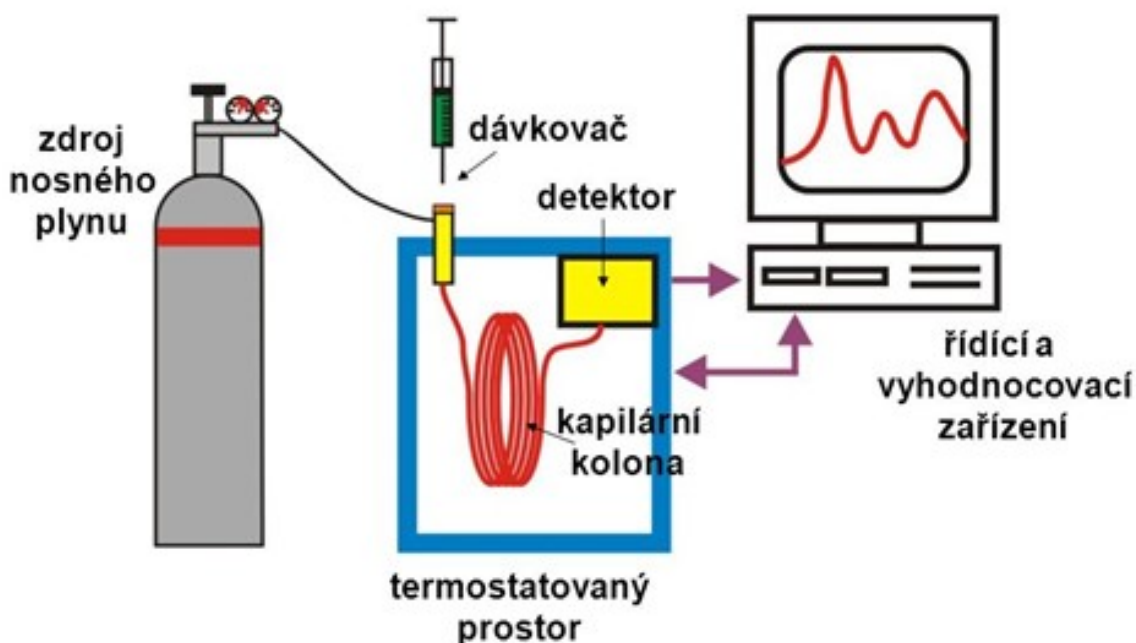
U všech typů chromatografických separací se látky rozdělují mezi stacionární a mobilní fázi. V případě plynové chromatografie je mobilní fází nosný plyn. Ten prochází kolonou, na jejíž vnitřní straně se nachází stacionární fáze. Vzorek, který představuje nejčastěji roztok analyzované látky v těkavém rozpouštědle, je vstříkovan do proudu plynu, přičemž je zapotřebí, aby již před vstupem do kolony přešel zcela do plynné fáze. To je možné pouze u takových vzorků, které obsahují látky s molekulovou hmotností nižší než ~1000 a jsou tepelně stálé. Jednotlivé látky obsažené ve vzorku jsou během průchodu kolonou separovány a opouštějí ji po různé době, charakterizované na chromatogramu retenčním časem. Vzorky jsou v některých případech nejprve podrobeny derivatizaci, jejímž účelem je zejména snížení teploty varu analyzovaných látek, tj. usnadnění jejich přechodu do plynného stavu. Za kolonou chromatografu je umístěn detektor (viz níže). Ten umožňuje, abychom na základě retenčního času a intenzity signálu mohli určit, o jakou látku se jedná, případně stanovit její množství. Samotný plynový chromatograf se skládá z několika částí. Příslušné schéma je znázorněno na obrázku č. 4.

Vlastní zdroj nosného plynu představuje v plynové chromatografii tlaková lahev s inertním plynem, jímž jsou nejčastěji helium, dusík, vodík nebo argon. Před samotným vstupem do kolony prochází nosný plyn čistícím zařízením, které zbaví nosný plyn nečistot, stop atmosférického kyslíku a vlhkosti. Minimalizuje se tak poškození kolony a snižuje pozadí chromatogramu. Konstantní průtok nosného plynu na vstupu do kolony je zajištěn a regulován redukčním ventilem. Součástí plynového chromatografu je dávkovací zařízení, kterým aplikujeme vzorek do prostředí nosného plynu. Dávkování se provádí skleněnou injekční stříkačkou přes pryžové septum. Je tak zaručeno, aby se vzorek v co nejkratším čase odpařil. Je vhodné, aby horní část kolony byla o 10 - 30 °C chladnější než je teplota varu rozpouštědla, ve kterém je rozpuštěna analyzovaná látka.

Výhodnou vlastností pro manipulaci s kapilární kolonou je její co největší pružnost, proto bývá obalena polyimidovou vrstvou. Tato vrstva zároveň podporuje odolnost kolony vůči vyšším teplotám (cca do 350 °C). Důležitý je i výběr stacionární fáze. Tou bývá stacionární kapalina, která však musí být teplotně stálá, málo těkavá a měla by dobře rozpouštět detekované látky. Většinou bývá zesíťovaná a kovalentně navázaná na kapiláru.

Pokud se týká náplňových kolon, obsahují nejčastěji sorbenty pokryté kapalnou fází, obvykle s charakteristickou velikostí zrna 2–3 mm. Důležitou součástí plynového

chromatografu je termostat, který zajišťuje vhodnou teplotu pro dávkovač i celou kolonu, aby byl vzorek po celou dobu v plynném stavu. Na plynový chromatograf navazuje detektor. Mezi nejpoužívanější patří v plynové chromatografii plamenoionizační detektor (FID), detektor elektronového záchytu (ECD), plamenofotometrický detektor (FPD), tepelně vodivostní detektor (TCD) a hmotnostní detektor (MS), tvořený hmotnostním spektrometrem. Vyhodnocení signálu detektoru je, společně s řízením průběhu chromatografické analýzy, zabezpečeno počítačem, který je vybaven specializovaným software.

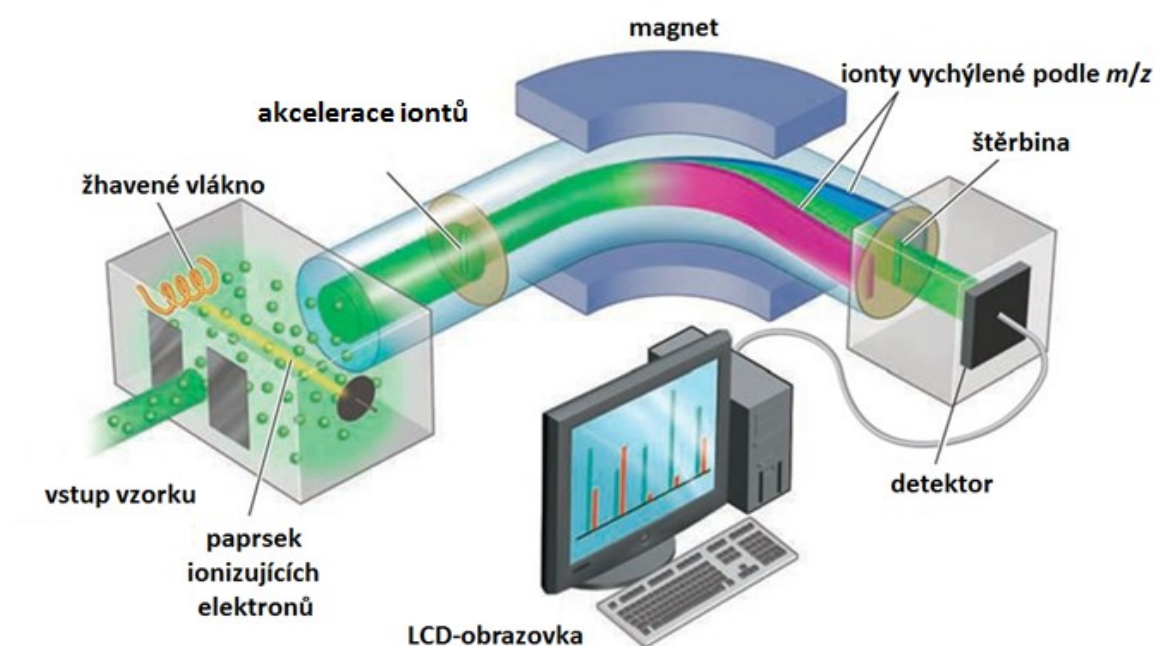
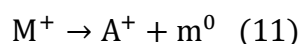
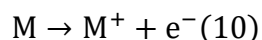


Obrázek č. 4: Schéma plynového chromatografu⁵⁸

4.1.2.2. Obecný princip hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je velmi citlivá detekční metoda, v současné době hojně používaná v chemii, lékařství, materiálové vědě a velmi často také v biologii. Obecné schéma hmotnostního spektrometru znázorňuje obrázek č. 5. Metoda je založena na elektromagnetické separaci ionizovaných molekul podle podílu hmotnosti a náboje. Molekuly vzorku (vystupující například z kolony plynového chromatografu a nesené inertním plynem jako mobilní fází) jsou nejprve ionizovány (například elektronovou nebo chemickou ionizací) za vzniku molekulárních iontů. Ty jsou dále akcelerovány v evakuovaném prostoru hmotnostního analyzátoru. V hmotnostním spektrometru se udržuje vakuum nejčastěji v rozmezí 10^{-4} až 10^{-8} Pa, aby nedocházelo k nežádoucím mezimolekulárním kolizím. Molekuly vzorku vstupují spolu s nosným plynem nejprve

do prostoru iontového zdroje. Zde dochází k jejich ionizaci v paprsku ionizujících elektronů. Poté dochází k akceleraci a následné separaci iontů v magnetickém poli a nakonec k jejich detekci. Typickým příkladem ionizace molekul jsou reakce, které jsou uvedeny v rovnicích č. 10 a 11. Molekula se při ní přemění na molekulární ion M^+ , a ten se následně rozpadne na elektroneutrální částice a fragmenty, které jsou pro výchozí molekulu charakteristické:



Obrázek č. 5: Schéma uspořádání hmotnostního spektrometru⁵⁹

Kationty jsou urychlovány v akcelerační komoře napětím v rozmezí 3 – 10 kV. Napětí U urychlí ionty o hmotnosti m a náboji z na rychlost v , která odpovídá kinetické energii E_k podle vztahu, jenž je vyjádřen rovnicí č. 12.

$$E_k = zU = \frac{mv^2}{2} \quad (12)$$

Takto urychlené kationty vstupují do hmotnostního analyzátoru, ve kterém dochází k jejich rozdělení podle poměru hmotnosti a náboje m/z . Dále jsou přivedeny do magnetického pole o indukci B a začnou se pohybovat po kruhové dráze o poloměru r .

Na pohybující se ionty působí výslednice odstředivé a magnetické síly. Jestliže jsou tyto síly v rovnováze, platí vztah, který lze vyjádřit rovnicí č. 13.

$$Bzv = \frac{mv^2}{r} \Rightarrow \frac{mv}{r} \quad (13)$$

Na detektor dopadají pouze ionty o určitém poloměru kruhové dráhy. Tento fakt umožňuje regulaci jejich pohybu nastavením hodnoty magnetické indukce B, neboť při její změně se mění i poloměr jejich dráhy. V závislosti na poměru m/z dopadne každá částice na detektor tehdy, jestliže dosáhne vhodného poloměru své dráhy, a to podle rovnice č. 14.

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2U} \quad (14)$$

Vlastní detekce iontů musí mít především vysokou účinnost sběru signálu, stejnou odpověď pro různé ionty, velké zesílení signálu a nízký šum. Za tímto účelem se používají například elektronové násobiče nebo konverzní dynody.

4.1.2.3. Hmotnostní analyzátory

Mezi hmotnostní analyzátory řadíme například magnetické sektorové analyzátory, kvadrupólové analyzátory, iontové pasti a analyzátory doby letu. Kvadrupólové analyzátory lineární konstrukce jsou tvořeny čtyřmi rovnoběžnými, v prostoru přesně rozmístěnými a rozměrově stejnými tyčovými elektrodami. Napětí vložené na tyčové elektrody má stejnosměrnou složku napětí a složku radiofrekvenčního pole. Stabilní trajektorii tak mají jen ionty s poměrem hmoty a náboje m/z , který je dán stejnosměrným napětím, amplitudou a frekvencí radiofrekvenčního pole. Dochází tedy k nepřetržitému vstupu iontů do kvadrupólu a k detektoru dojdou ionty s určitým poměrem m/z .

V našem případě jsme jako hmotnostní analyzátor použili 3D-kvadrupólovou iontovou past, ve které dochází k akumulaci iontů, které putují k detektoru. Detekovány jsou ty ionty, které jsou selektivně vypuzeny v důsledku nestabilních trajektorií. Jedná se tedy o pulsní analýzu. Velká výhoda kvadrupólové iontové pasti je její velká citlivost, automatizovatelnost a malý rozměr. Při jejím použití je však třeba počítat s poněkud nižším rozlišením.

Analyzátor doby letu TOF (Time of flight) využívá různou dobu rychlosti letu iontů. Všechny ionty ze vzorku jsou urychleny v akcelérátoru a je jim tedy (bez ohledu na hmotnost) udělena stejná energie. Lehčí ionty dosahují v (evakuované) letové trubici vyšší rychlosti a na detektor dopadnou jako první. Takto jsou analyzovány všechny ionty. TOF analyzátoři jsou velmi citlivé a vyznačují se velkým rozsahem měřených hmotností.

4.2. Provedení experimentů

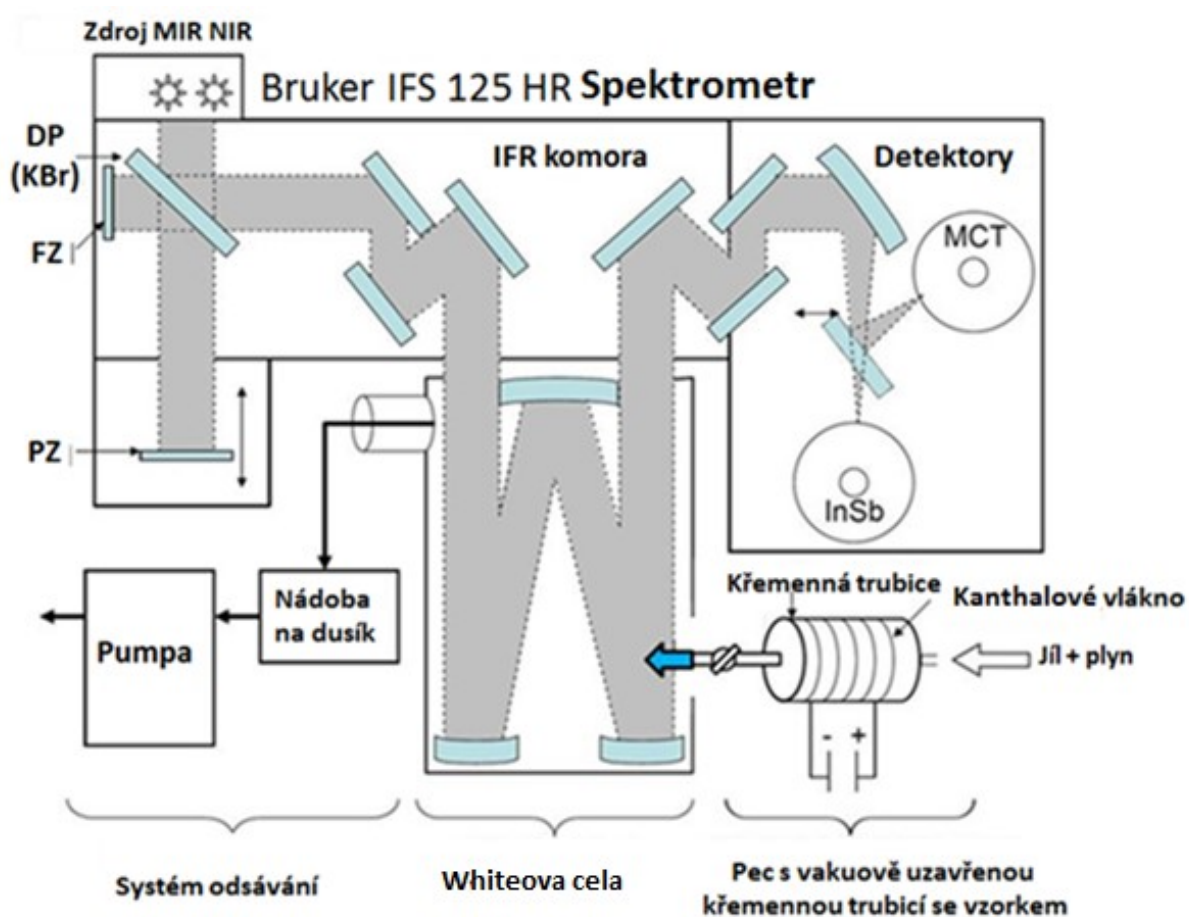
Plynná fáze vzorků byla detekována pomocí spektrometru s Fourierovou transformací Bruker IFS 125 HR s děličem paprsků vyrobeného z KBr. Tento spektrometr je vybaven detektory MCT (Hg/Cd/Te), který se používá pro měření v rozsahu $680\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ a InSb pro oblast nad 1800 cm^{-1} do cca $10\,000\text{ cm}^{-1}$. Efektivní rozsah za použití děliče svazku KBr je vak do 5500 cm^{-1} . Oba detektory jsou chlazeny kapalným dusíkem. Při experimentech bylo měření prováděno s rozlišením $0,02\text{ cm}^{-1}$ a počet skenů byl nastaven na 300. Schéma spektrometru ukazuje obrázek č. 6. Pro kvantitativní stanovení detekovaných plynů byla provedena kalibrace s čistými plyny, které byly měřeny při různých tlacích (0,051 torr, 0,13 torr, 0,49 torr a 1 torr). Pro kalibraci byly použity plyny HCN (Messer Technogas, 186 ppm/He), CO (Linde Gas, 5.3), CO₂ (Linde Gas, 5.3) a NH₃ (Linde Gas, 3.8). Při měření meziproductů jsme použili aminoacetonitril (> 98 %) a formamidin hydrochlorid (> 97 %). Obě chemikálie byly zakoupeny u firmy Sigma Aldrich.

Při experimentech byl také používán formamid také od firmy Sigma Aldrich (Molecular Biology Grade > 99,5 %). Při vyhodnocování a interpretaci dat byl použit program OPUS 6.0 při integraci vybraných absorpčních linií a program Origin 8.0.

Kapalná fáze byla analyzována pomocí GC/MS. Evaporované vzorky byly po silylaci (postup silylace je popsán níže) analyzovány plynovým chromatografem Thermo Scientific Trace 1300 v tandemu s hmotnostním spektrometrem Thermo Scientific MS 1100 s iontovou pastí. K separaci látek byla použita nepolární kapilární kolona Trace GOLDTG-5 MS o délce 30 m a složení 95 % dimethylpolysiloxanu a 5 % fenylmethylpolysiloxanu.

Tabulka č. 1: Shrnutí použitých chemikálií (*čistoty jednotlivých chemikálií byly převzaty z katalogu výrobců)

Název chemikálie	Výrobce	Čistota*
Kyanovodík	MesserTechnogas	186 ppm
Oxid uhelnatý	Linde Gas	100 %
Oxid uhličitý	Linde Gas	100 %
Amoniak	Linde Gas	100 %
Aminoacetonitril	Sigma Aldrich	> 98 %
Formamidinhydrochlorid	Sigma Aldrich	> 97 %
Formamid	Sigma Aldrich	> 99,5 %
Pyridin	Sigma Aldrich	99,8 %
MTBSTFA	Sigma Aldrich	> 97%

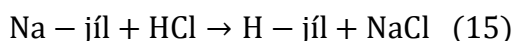


Obrázek č. 6: Vnitřní uspořádání spektrometru Bruker IFS 125 HR⁵²

4.3. Jíly použité při experimentech

Při experimentech byly použity různé druhy jílu: sodný, železitý a kyselý jíl. Sodný jíl (dále Na-jíl) pochází z Japonska (Kunimine Industries) a jedná se o přírodní sodný montmorillonit. Aby došlo k separaci agregovaných částic, byla jemná frakce o velikosti menší než 2 μm louhována v deionizované vodě a následně podrobena sedimentaci a centrifugaci, kdy došlo ještě k preciznějšimu rozdělení částic. Aby bylo dosaženo velikosti zrn menších než 2 μm , byla provedena násobná fragmentace sedimentů se vzorky Na-jílu. Nakonec bylo potřeba jíl hydratovat. Celkem 10 g přečištěného Na-jílu se suspendovalo 24 hodin v 500 ml deionizované vody. Celá tato směs byla míchána pomocí magnetické míchačky.

Kyselý jíl byl připraven podobně jako Na-jíl, ovšem po hydrataci jílu v deionizované vodě byla směs ještě hodinu promíchávána společně s 500 ml HCl o koncentraci $c = 2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ za teploty $t \sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$. Vzniklá suspenze byla 10 minut centrifugována rychlostí 4000 rpm a získaný supernatant byl podroben dekantaci. V 1 dm^3 deionizované vody byla provedena resuspendace sedimentu. Pro odstranění zbývající HCl a nově vzniklé NaCl, jak ukazuje rovnice č. 15, se suspenze centrifugovala, dekantovala a nakonec přečistila.



Další jíl, který jsme používali, byl železitý Fe-jíl. Ten pochází z Centrálního úložiště jílu Centrální mineralogické společnosti v Grand County sídlící ve Washingtonu v USA. Složení tohoto jílu se výrazně liší od sodného a kyselého jílu, nejen proto, že se jedná o železitý smektit, ale hlavně díky hojnému zastoupení Fe_2O_3 . Tabulka č. 2 shrnuje složení jednotlivých jílu.

4.3.1. Elementární analýza jílu

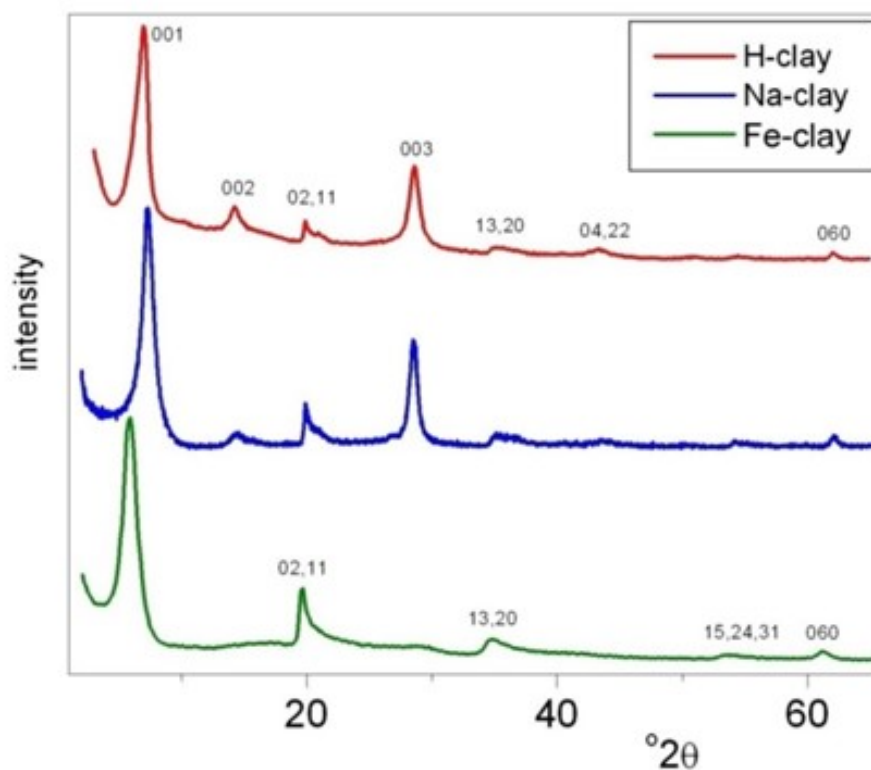
Elementární analýza jílu byla provedena pomocí atomové absorpční spektrometrie provedené na spektrometru Perkin-Elmer 3030 na Slovenské Akademii věd. Z tabulky č. 2 lze vyčíst, že v sodném jílu se nachází významně více hořčíku, který nahradil hliník. Kyselý jíl, který byl připraven ze sodného jílu reakcí s HCl, obsahuje stejné množství prvků, jako jsou Mg, Al, Si a Fe, jako je tomu u sodného jílu.

Tabulka č. 2: Shrnutí složení jednotlivých jíílů získané pomocí atomové absorpční spektrometrie⁶⁰

Sloučenina v jíílů	Na-jííl [%]	H-jííl [%]	Fe-jííl [%]
SiO ₂	61,67	63,98	51,63
Al ₂ O ₃	22,18	22,12	9,18
Fe ₂ O ₃	1,96	1,92	26,47
MgO	2,78	2,64	1,46
CaO	0,15	0,02	2,76
Na ₂ O	3,52	0,08	0,09
Ztráta zahřátím	7,67	8,96	8,34

4.3.2. Rentgenová difrakce

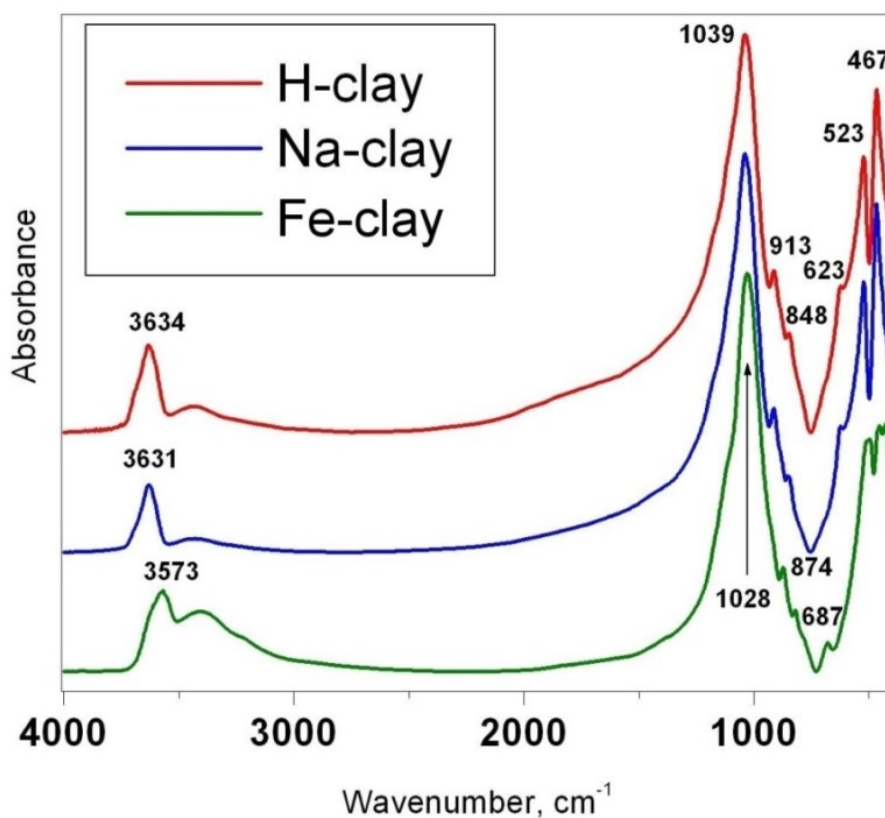
Dále byla provedena rentgenová difrakce (XRD) difraktometrem D8 Advance od firmy Bruker. Ten využívá emisních linií Cu K α (40 kV, 40 mA, $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$). Tímto byla ověřena čistota jíílů. Výsledky, které ukazuje obrázek č. 7, nepoukazují na krystalické nečistoty. Difraktogram sodného jíílů má silnou linii 001, která ukazuje odezvu na povahu kationů ve vnitřních krystalických vrstvách. Dále zde můžeme vidět dvě reflexe vyšších řádů (003 a 04) a čtyři vedlejší difrakční linie.



Obrázek č. 7: Výsledek rentgenové difrakce jíílů⁶⁰

4.3.3. Infračervená spektra

Infračervená spektroskopie byla použita pro objasnění vlastností používaných jíílů. Vzorky jíílů (1 mg) byly lisovány společně s KBr (200 mg) do tablet, které se 12 hodin ještě sušily při teplotě $t = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby bylo odstraněno maximum vody ze vzdušné vlhkosti. Poté byly vzorky měřeny při spektrálním rozlišení 4 cm^{-1} na 128 skenů. Z obrázku č. 8 ukazujícího velmi podobná infračervená spektra jednotlivých jíílů, měřená v oblasti MIR spektrometrem Nicolet 6700 FTIR, lze vyčíst, že vzorky jíílů byly velmi čisté. FTIR spektrum H-jíílů a Na-jíílů jsou téměř shodná. Menší rozdíly však vidíme u Fe-jíílů. Pás v oblasti 3631 cm^{-1} je známkou přítomnosti stretching bandu hydroxylové skupiny. Výměnu hliníku za hořčík lze rozpoznat díky pásům 913 cm^{-1} a 848 cm^{-1} . Zbylé pásy, které ve spektru vidíme 523 cm^{-1} a 467 cm^{-1} , jsou důsledkem vibrace Si-O-Al a Si-O-Si, pás 623 cm^{-1} je typický pro montmorillonity bohaté na hliník a charakterizuje vibrace Al-O-R (R=Mg, Al) atomů oktaedru a pás 3400 cm^{-1} poukazuje pouze na vodní páru. Pokud se zaměříme na spektrum Fe-jíílů, vidíme zde ještě pás při 3573 cm^{-1} typický pro hydroxylové skupiny, který poukazuje na hojný počet železa umístěného v osmistěnech.



Obrázek č. 8: FTIR spektra jíílů⁶⁰

4.4. Postup termolýz

Abychom si ověřili, jaký vliv má železo obsažené v meteorickém prachu a železo obsažené v jílech v prostředí formamidu na vznik nukleových bází, připravili jsme celkem 7 vzorků. Ty se vždy skládaly z 0,1 g určitého druhu jílu a 2 ml formamidu. Do daných vzorků jsme přidali také meteorické železo NiFe. Složení jednotlivých vzorků ukazuje tabulka č. 3.

Všechny vzorky byly zahřívány po dobu 24 h na teplotu 160 °C a chlazeny pod zpětnými chladiči vodou. Po termolýzách měly vzorky charakteristické červenohnědé až žluté zabarvení. Schéma aparatury ukazuje obrázek č. 9. Po dokončení termolýzy byly vzorky macerovány pomocí methanolu po dobu 2 hodin. Následně byly evaporovány a napuštěny vzduchem na tlak cca 1 torr. Schéma aparatury pro evaporaci ukazuje obrázek č. 10. Evaporační aparatura také obsahovala vymrazovačku pro zachycení případných nečistot.

Tabulka č. 3: Shrnutí obsahu jednotlivých vzorků, které byly podrobeny termolýze⁶⁰

Číslo vzorku	Použitý jíl	Přidaný katalyzátor
1	-	-
2	Fe-jíl	-
3	Na-jíl	-
4	H-jíl	-
5	Fe-jíl	NiFe
6	Na-jíl	NiFe
7	H-jíl	NiFe



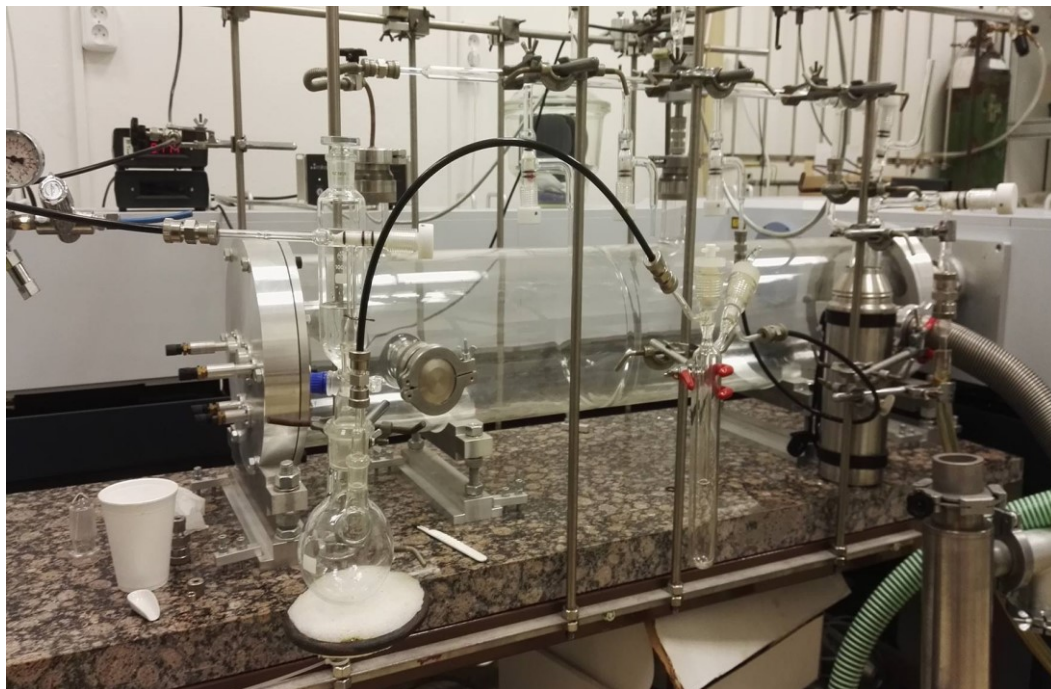
Obrázek č. 9: Fotografie aparatury pro termolýzu



Obrázek č. 10: Fotografie aparatury pro evaporaci vzorků po termolýze

4.5. Měření meziproduktů

Pro potvrzení navrženého reakčního mechanismu a na základě kvantově mechanických výpočtů byla změřena plynná fáze několika meziproduktů a jejich FTIR spektra byla porovnána s FTIR spektry termolyzovaných vzorků. Jednalo se o formamidin, aminoacetonitril a dimer formamidu. Schéma aparatury pro měření meziproduktů ukazuje obrázek č. 11.



Obrázek č. 11: Fotografie aparatury pro měření meziproduktů

4.5.1. Formamidin

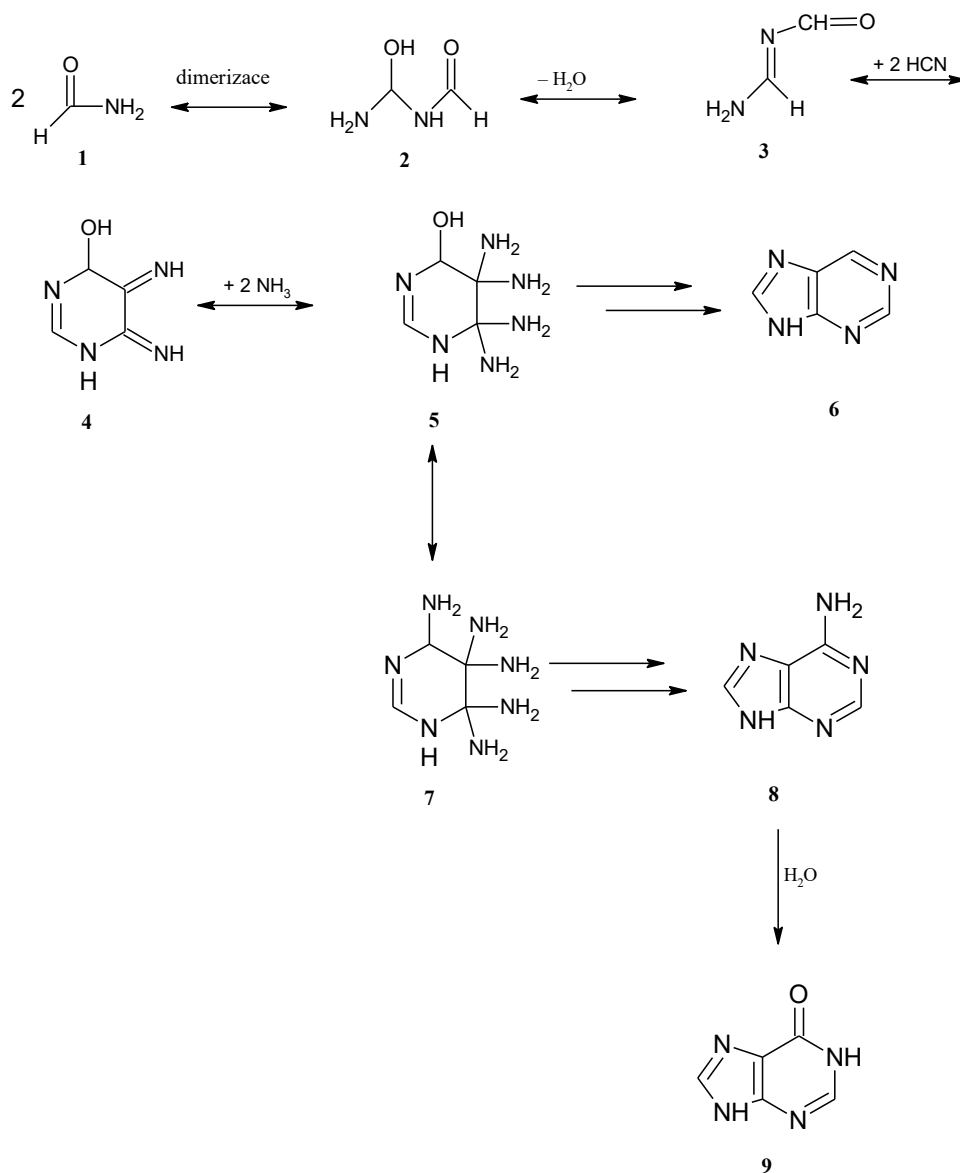
Analýza plynné fáze formamidinu byla změřena zahřátím formamidinu hydrochloridu. Formamidin hydrochlorid je pevná, bílá, krystalická látka s bodem tání kolem $t = 160$ °C. Formamidin byl nalezen ve FTIR spektru Fe-jílu. Příprava spočívala v zahřátí cca 0,01 g formamidinu hydrochloridu na teplotu 90 °C a následně byla změřena plynná fáze na FTIR použitím detektoru MCT.

4.5.2. Aminoacetonitril

Aminoacetonitril je kapalná, tmavě hnědá a toxická látka. Tato látka nebyla nalezena v žádném spektru termolytických vzorků. Změření plynné fáze bylo provedeno s 0,2 ml aminoacetonitrilu⁶¹. Molekula aminoacetonitrilu je prekurzorem glycinu, který z aminoacetonitrilu vzniká prostřednictvím Streckerovy syntézy.

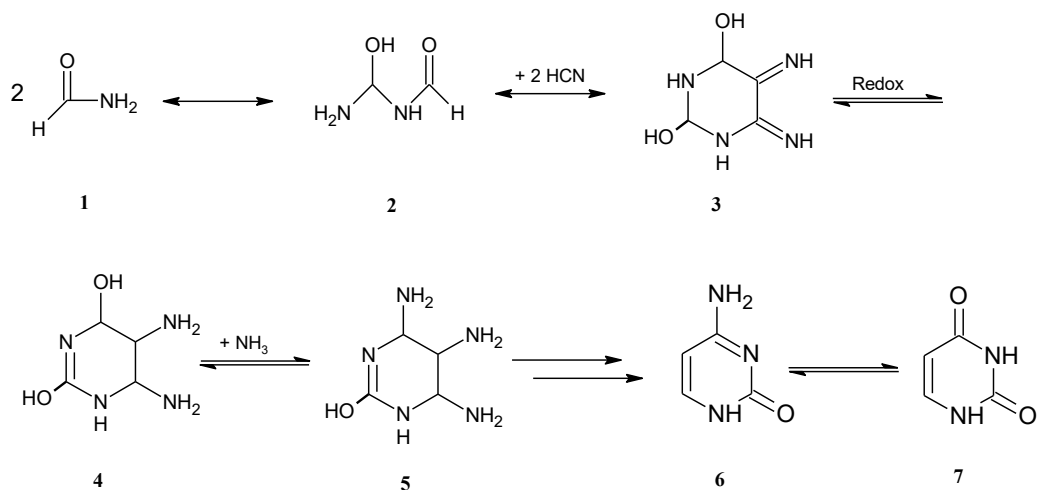
4.5.3. Dimer formamidu

Z formamidu vzniká dimer formamidu, který dále může podléhat reakcím, které vedou až k syntéze adeninu popřípadě k hypoxanthinu. Dehydratací přechází na N-(iminomethyl) formamidu, ze kterého po reakci s kynovodíkem vzniká 1,4,5,6-tetrahydro-5,6-diiminopyrimidin-4-ol. Ten tvoří adukt s amoniakem, který může pocházet společně s HCN z rozkladu formamidu, a vzniká 6-hydroxy-4,4,5,5-tetraimino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidin, ze kterého pomocí adice a následné eliminace formamidu vznikne purin. Pokud je v 6-hydroxy-4,4,5,5-tetraimino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidine NH₂ skupina nahrazena OH skupinou a vzniklý meziprodukt podroben polymerizace, vzniká adenin. Následnou hydrolytickou deaminací vzniká hypoxanthin⁶². Schéma celé syntézy je ukázáno na obrázku č. 12.



Obrázek č. 12: Reakční schéma vycházející z formamidu (1), vedoucí přes dimer formamidu (2), N-(iminomethyl)formamidu (3), 1,4,5,6-tetrahydro-5,6-diiminopyrimidin-4-ol (4), 6-hydroxy-4,4,5,5-tetraamino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidin (5), purin (6). Z 6-hydroxy-4,4,5,5-tetraamino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidinu (5) může reakční cesta vést přes 6-amino-4,4,5,5-tetraamino-3,4,5,6-tetrahydropyrimidin (7) na adenin (8) a následně na hypoxanthin (9)⁶²

Dimer formamidu podléhá i reakce, která vede přes hexahydro-5,6-diiminopyrimidin-2,4-diol, který podléhá redoxnímu procesu na hexahydro-5,6-diaminopyrimidin-2,4-diol. Ten reakcí s amoniakem přechází na hexahydro-4,5,6-triaminopyrimidin-2-ol a následnou eliminací a přeskupením skupin vzniká cytosin, který se může hydrolyzovat na uracil⁶². Vznik uracilu i cytosinu ukazuje obrázek č. 13.



Obrázek č. 13: Reakční schéma vedoucí od formamidu (1), přes dimer formamidu (2), hexahydro-5,6-diiminopyrimidin-2,4-diol (3), hexahydro-5,6-diaminopyrimidin-2,4-diol (4), hexahydro-4,5,6-triaminopyrimidin-2-ol (5) ke vzniku cytosinu (6) a uracilu (7)⁶²

4.6. Příprava vzorků pro analýzu na hmotnostním spektrometru

Vzorky po termolýze byly podrobeny analýze pomocí GC/MS, bylo je však nejprve třeba derivatizovat silylací. Za tímto účelem bylo k evaporovaným vzorkům přidáno 150 μl pyridinu a 50 μl MTBSTFA (N-tert-butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamid). Takto připravené vzorky byly zahřívány po dobu 2 h při teplotě 110°C, přičemž tyto reakční parametry byly zvoleny na základě předchozí optimalizace metody. Silylace patří k derivatizačním metodám, jež velmi účinně snižují teplotu varu analytů, a umožňuje kompletní odpaření analyzovaných látek při nástřiku vzorku do kolony. Vzorky byly ponechány 20 minut k vychladnutí, kdy dosáhly teploty laboratoře. Následně byl do plynového chromatografu Thermo Scientific Trace 1300 aplikován 1 μl vzorku pomocí skleněné injekční stříkačky. Celá analýza trvala 14 minut, přičemž GC/MS byl přednastaven na teplotní režim v rozmezí teplot 180-280 °C.

5. Výsledky a diskuze

Nejprve jsme analyzovali složení plynné fáze vzorků formamidu termolyzovaných v přítomnosti různých druhů jílu a meteorického železa. Plynná fáze byla podrobena analýze absorpční spektrometrií pomocí spektrometru s Fourierovou transformací. Kapalná fáze byla analyzována pomocí GC/MS.

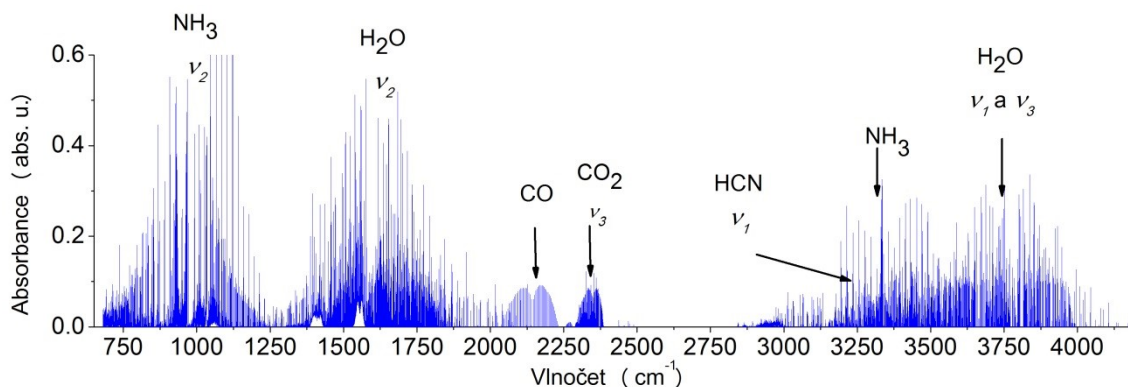
5.1. Výsledky analýzy plynné a kapalné fáze

Z výsledků uvedených v tabulce č. 4 vidíme, že v plynné fázi vznikl kyanovodík HCN, amoniak NH_3 a oxid uhelnatý CO. Nejméně bylo detegováno právě HCN a to u všech jílu použitých ve vzorcích. Jak bude později diskutováno, HCN se patrně sorbuje na povrchu jílu. Ve skutečnosti je typickým produktem rozkladu formamidu.

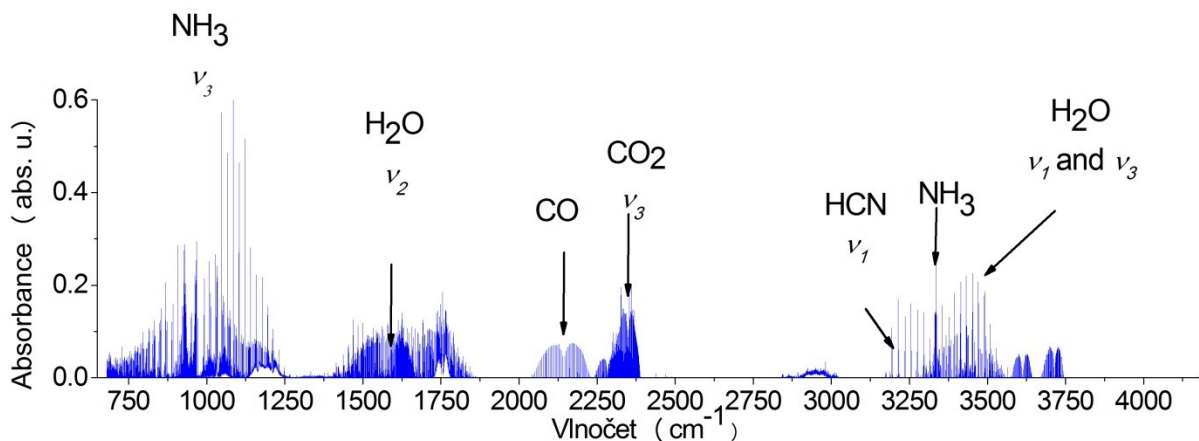
Co se týká jednotlivých jílu a výtěžků vzhledem k detekovaným produktům, největší výtěžky vykazovaly vzorky termolyzované ve formamidu, ve kterých byl použit jako příměs železitý jíl a hned po něm kyselý jíl. Nejmenší výtěžky vykazoval sodný jíl. Pokud srovnáme vzorky s použitím meteorického železa NiFe jako katalyzátoru, je vidět, že výtěžky NH_3 a CO klesají, ale v případě HCN je to právě naopak. Tento efekt lze vysvětlit tím, že meteorické železo inhibuje reakce vedoucí ke vzniku dalších produktů z HCN a tento tak není spotřebováván a v systému se hromadí. Jak bude později ukázáno v této práci, podobný efekt byl zaznamenán též v případě některých meziproduktů. V již publikovaných pracích také dokladujeme detekci meziproduktů vzniku nukleových bází z formamidu účinky laserového plazmatu. Zatímco meziprodukty těchto reakcí lze snadno detegovat, samotné nukleové báze vykazují nižší výtěžky^{63,52}. FTIR spektra jednotlivých vzorků reprezentujících jejich plynnou fázi shrnují obrázky č. 14 až č. 16.

Tabulka č. 4: Výsledné množství produktů temolýzy kapalného formamidu v plynné fázi

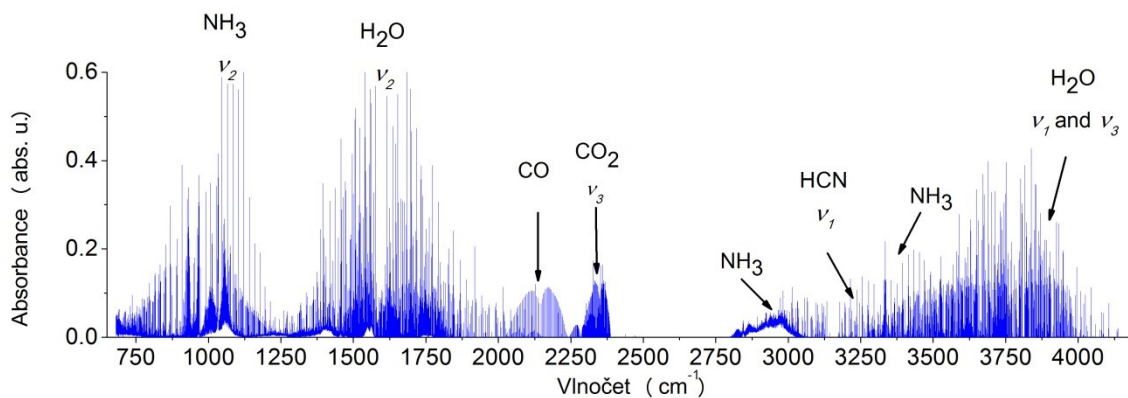
<i>p</i> [torr]	Fe-jíl + NiFe	Fe-jíl	H-jíl + NiFe	H-jíl	Na-jíl	čistý FMA
HCN	0.059	0.053	0.031	0.022	0.001	0.015
NH ₃	0.254	0.280	0.166	0.179	0.133	0.148
CO	0.236	0.256	0.273	0.299	0.196	0.300



Obrázek č. 14: FTIR spektrum směsi formamidu s Fe-jílem

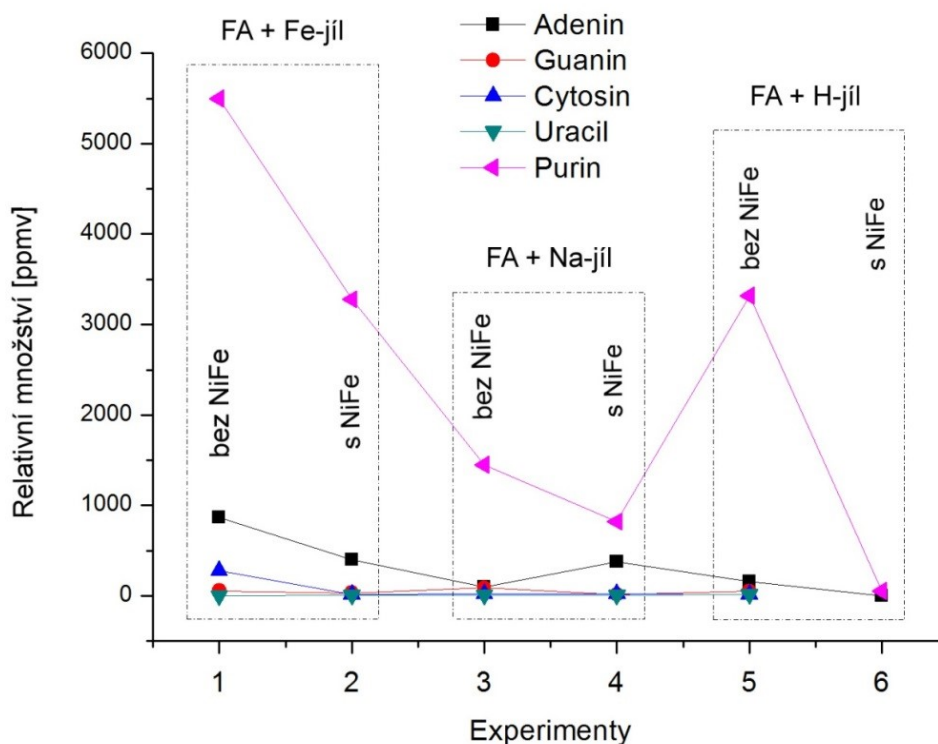


Obrázek č. 15: FTIR spektrum směsi formamidu s Na-jílem



Obrázek č. 16: FTIR spektrum směsi formamidu s H-jílem

Výsledky analýzy kapalně fáze pomocí GC/MS ukazuje tabulka č. 5 a tabulka č. 6. Po termolýze měl každý vzorek jinou charakteristickou barvu. Tabulka č. 5 ukazuje, v kterých vzorcích byly nalezeny jaké báze, a ukazuje zároveň jejich kvantitu. Ve vzorcích byly detekovány všechny nukleové báze kromě thyminu, tedy adenin, guanin, cytosin a uracil. Nejvíce bází bylo nalezeno ve směsi, která obsahovala železitý jííl bez katalyzátoru NiFe. Směs s železitým jíílem a s NiFe vykazuje naopak menší výtěžky bází. Tento trend, schematicky znázorněný obrázkem č. 17, se objevuje i v dalších směsích. Výsledek tedy popírá, že by meteorický prach, konkrétně železo obsažené v něm, katalyzovalo vznik nukleových bází při termolýze vzorků. Teorie J. Sutherlanda³ nicméně předpokládá právě akumulaci HCN na povrchu železa uvolněného impaktem asteroidu a následnou prebiotickou syntézu. Naše výsledky jednoznačně ukazují, že na vznik nukleových bází má pozitivní vliv především železo obsažené v jíílech, zatímco železo obsažené v meteorickém prachu tento vznik spíš inhibuje.



Obrázek č. 17: Ukázka vlivu přidání meteorického prachu NiFe⁶⁰

Tabulka č. 5: Množství nukleových bází obsažených v termolyzovaných vzorcích detekovaných pomocí GC/MS

	Katalyzátor	Nalezené báze [ppmv]					Purin [ppmv]
		Adenin	Guanin	Cytosin	Thymin	Uracil	
Formamid	-	62	5	20	-	25	365
Formamid + Fe-jíl	-	870	55	280	-	5	5500
Formamid + Na- jíl	-	100	90	24	-	6	1450
Formamid + H- jíl	-	160	52	18	-	18	3320
Formamid + Fe- jíl	NiFe	400	35	18	-	12	3280
Formamid + Na- jíl	NiFe	380	15	22	-	10	820
Formamid + H- jíl	NiFe	4	-	-	-	-	55

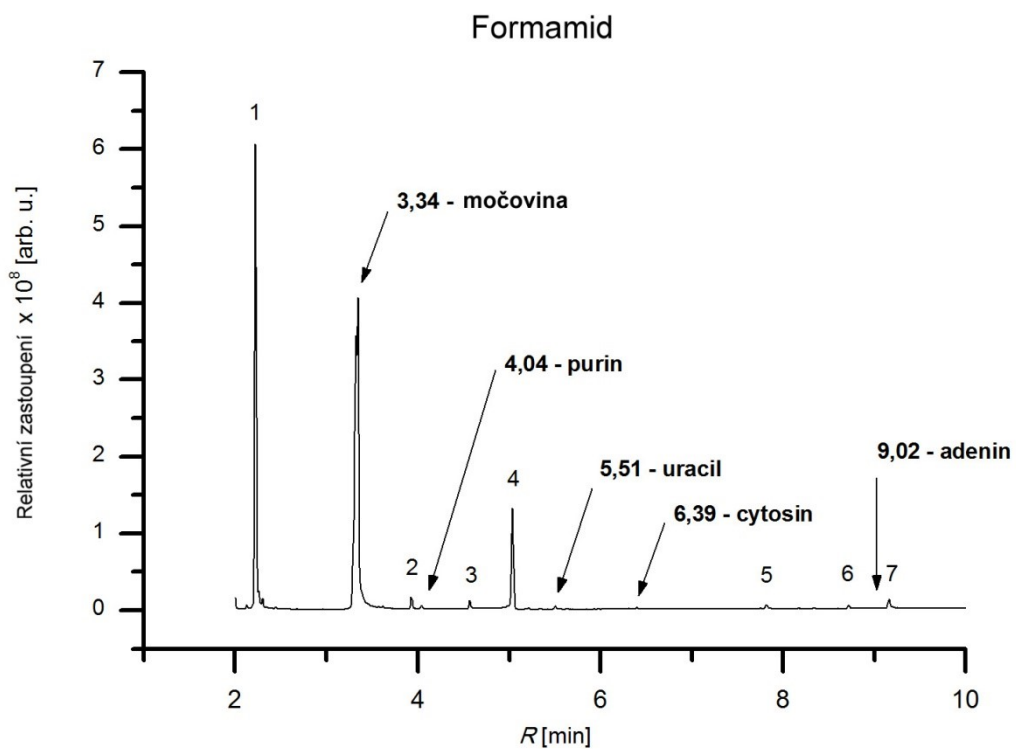
Tabulka č. 6 ukazuje kvalitativní výsledky analýzy. Ve všech vzorcích byl nalezen purin. Už termolýza samotného formamidu poskytuje nukleové báze, nicméně přidáním jílu se zvyšuje jejich výtěžek. U termolyzovaného vzorku formamidu s Fe-jílem byly také kvalitativně stanoveny ještě hypoxantin, který se již v žádném dalším vzorku nevyskytoval. Hypoxantin je látka odvozená od purinu. Hypoxantin je považován za nukleovou bázi, která mohla hrát úlohu alternativní báze genetického kódu raných životních forem.⁶⁴ Ojedinelý výskyt hypoxantinu právě ve směsi formamidu s Fe-jílem je známkou pozitivního vlivu Fe-jílu na vznik biomolekul. Dále byl kvalitativně stanoven i guanidin, který se nacházel ve vzorku s Fe-jílem s NiFe a ve vzorku s H-jílem a Na-jílem. Obrázek č. 18 ukazuje plynový chromatogram čistého formamidu

po termolýze a obrázek č. 19 ukazuje plynový chromatogram směsi formamidu s Fe-jílem po termolýze. Píky označené čísly představují silylační meziprodukty.

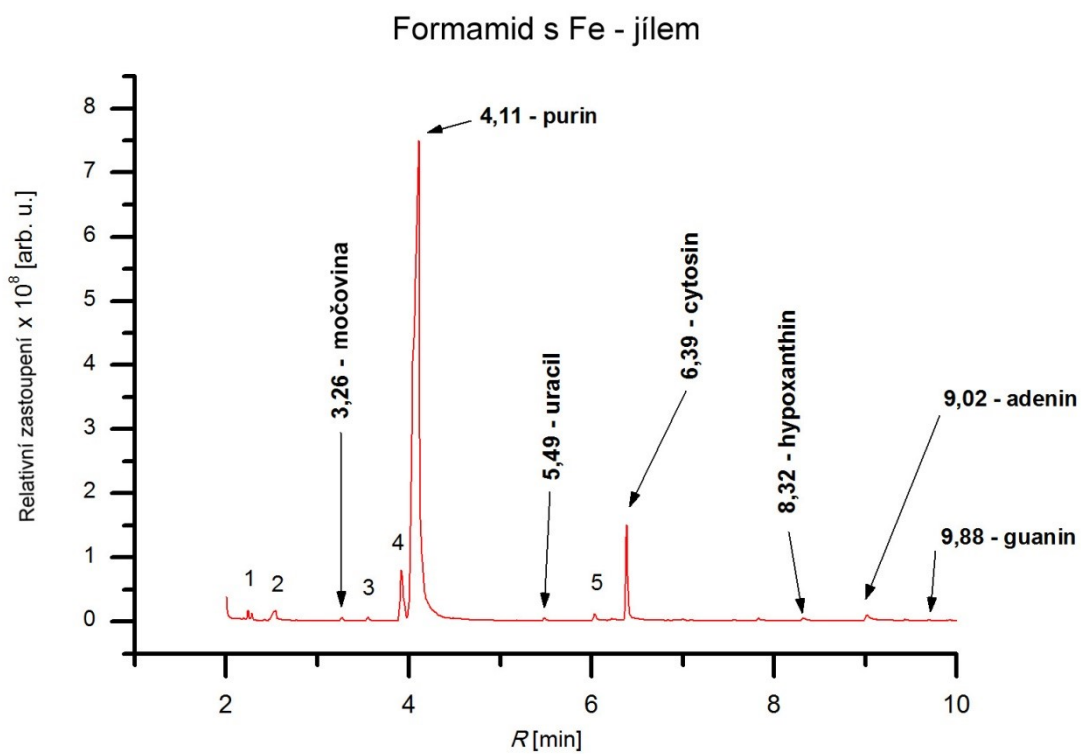
Obrázek č. 20 znázorňuje plynový chromatogram směsi formamidu s Na-jílem po termolýze. Oproti předchozím vzorkům je zde vidět i přítomnost borátů. Termolýzy byly prováděny ve skleněných nádobkách, ze kterých boráty tedy nejspíše pocházejí.

Tabulka č. 6: Shrnutí nalezených látek v jednotlivých termolytických vzorcích

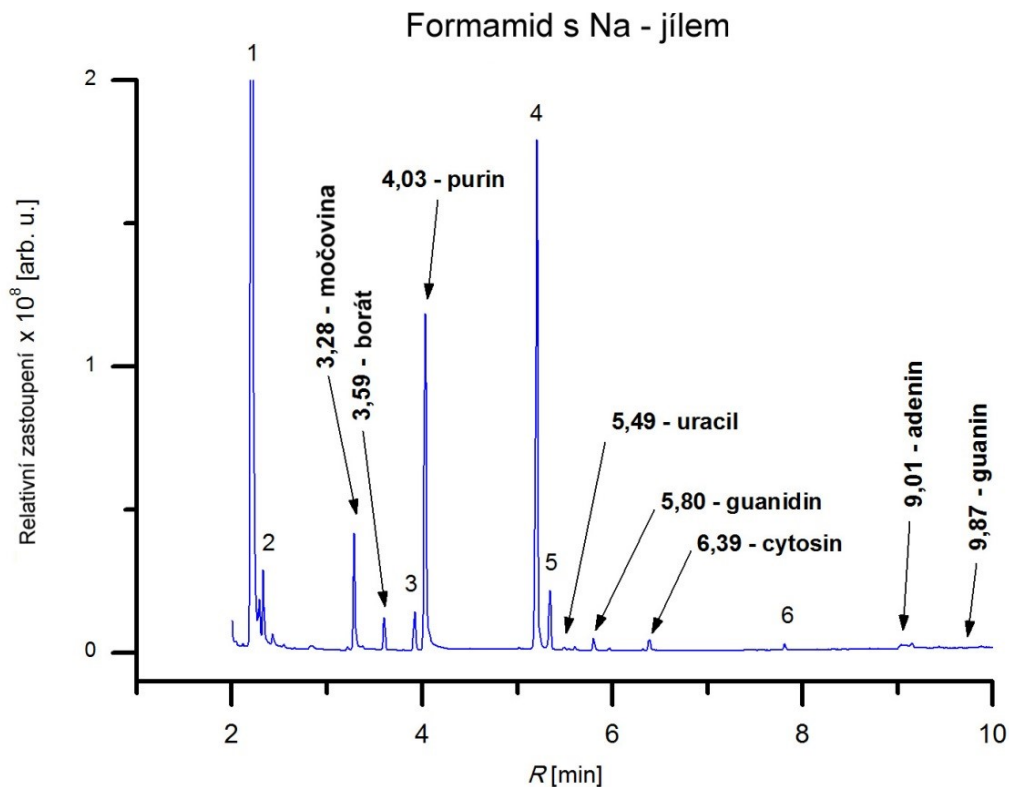
Vzorek	Nalezené látky pomocí GC/MS
Formamid	močovina, purin, uracil, cytosin, adenin
Formamid + Fe-jíl	močovina, purin, uracil, cytosin, adenin, guanin, hypoxantin
Formamid + Na-jíl	močovina, purin, uracil, cytosin, adenin, boráty, guanidin, guanin
Formamid + H-jíl	močovina, boráty, purin, uracil, guanidin, cytosin, adenin, guanin
Formamid + Fe-jíl + NiFe	močovina, boráty, purin, uracil, guanidin, cytosin, adenin
Formamid + Na-jíl + NiFe	močovina, boráty, purin, uracil, cytosin, adenin
Formamid + H-jíl + NiFe	močovina, boráty, purin



Obrázek č. 18: Plynový chromatogram čistého formamidu po termolýze⁶⁰



Obrázek č. 19: Plynový chromatogram směsi formamidu s Fe-jílem po termolýze⁶⁰



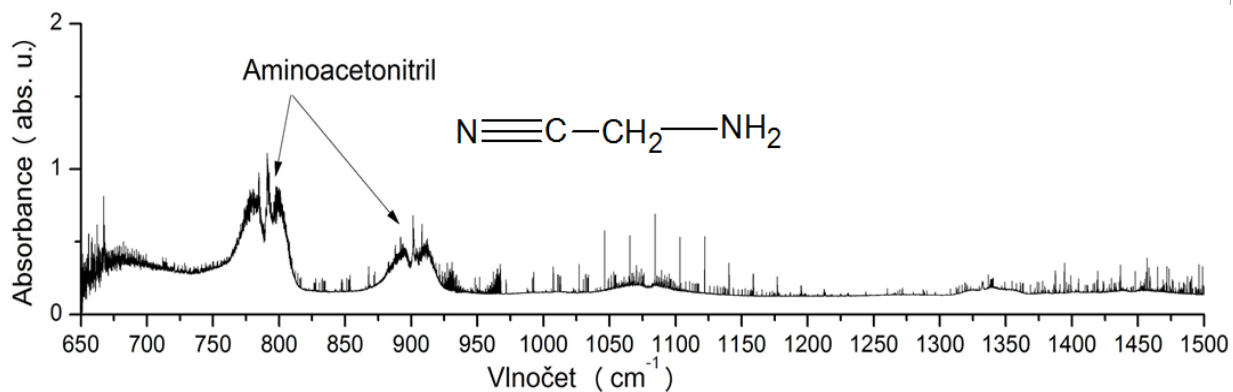
Obrázek č. 20: Plynový chromatogram směsi formamidu s Na-jílem po termolýze⁶⁰

5.2. Detekce meziproduktů

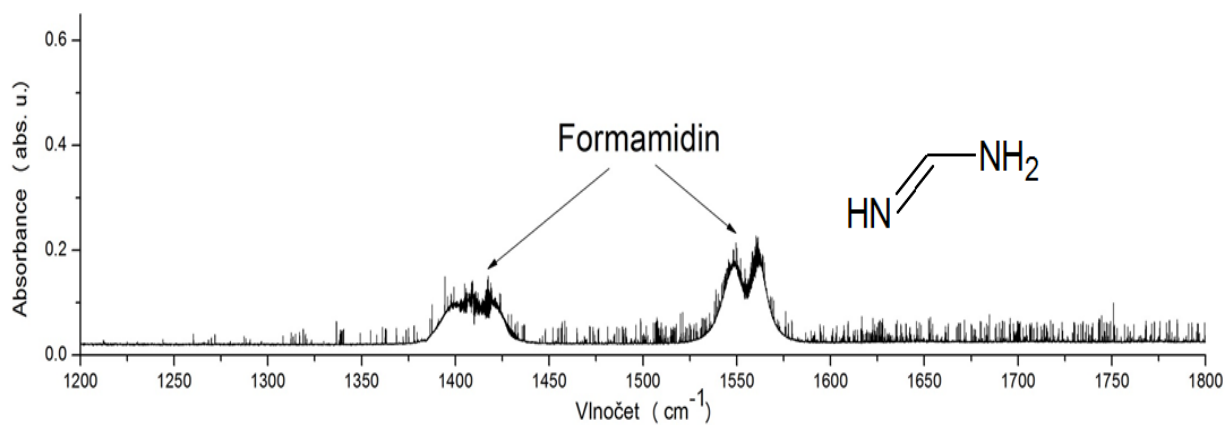
Pro potvrzení teoretických výpočtů⁶⁵ a ověření navržené reakční cesty vzniku bází termolýzou formamidu, bylo nutno pokusit se o detekci vybraných meziproduktů a najít je ve spektrech z provedených termolytických experimentů. Zatímco složité meziprodukty jsou jen obtížně detekovatelné (metoda GC-MS vyžaduje standardy, které je nutno syntetizovat v čisté formě). Pro většinu složitějších meziproduktů se jedná o úlohu zcela nemožnou, protože se jedná o málo stabilní látky, případně natolik nákladnou, že je prakticky vyloučeno reakční mechanismus dostupnou instrumentací v naší laboratoři potvrdit v celé šíři. Jednoduché látky stojící na počátečních krocích navrženého reakčního mechanismu lze úspěšně detegovat pomocí vysoce rozlišující absorpční spektrometrie. Byly detekovány aminoacetonitril (FTIR spektrum plynné fáze ukazuje obrázek č. 21), formamidin (FTIR spektrum plynné fáze ukazuje obrázek č. 22) a dimer formamidu (FTIR spektrum plynné fáze ukazuje obrázek č. 23).

Dimer formamidu vzniká vymražením, účinky laserového plazmatu a také zahříváním. Dimer se v oblasti karbonylového pásu na 1754 cm^{-1} respektive 1755 cm^{-1} liší od monomeru pouze drobnou nuancí, posunem ve spektru o pouhý jeden cm^{-1} .

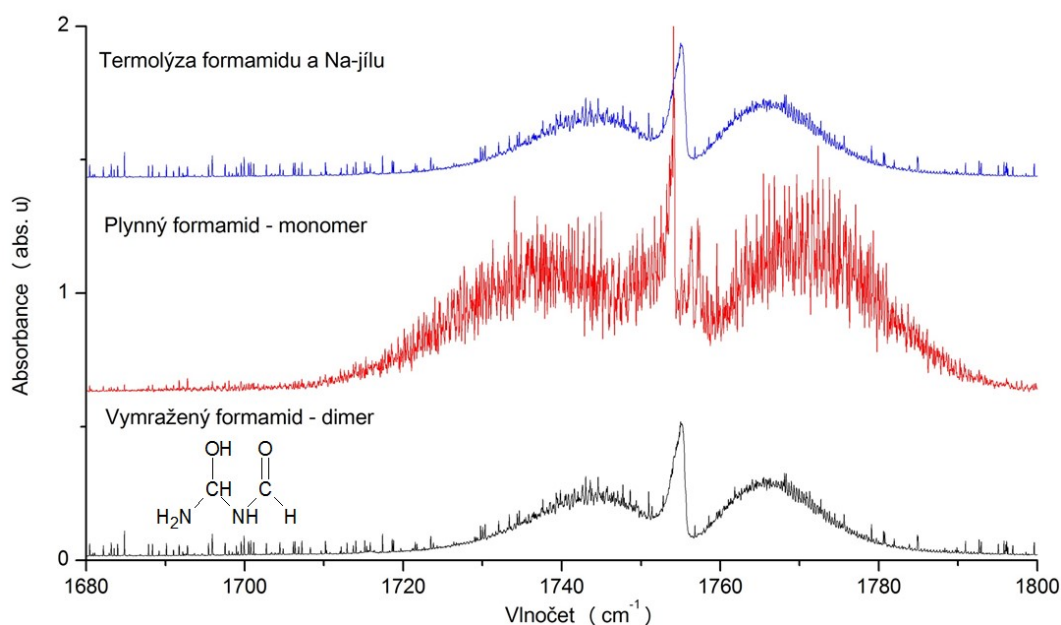
Je vidět, že spektrum termolýzy souhlasí se spektrem vymraženého formamidu, ve kterém je dimer, jak ukazuje obrázek č. 23.



Obrázek č. 21: : FTIR spektrum aminoacetonitrilu



Obrázek č. 22: FTIR spektrum formamidinu

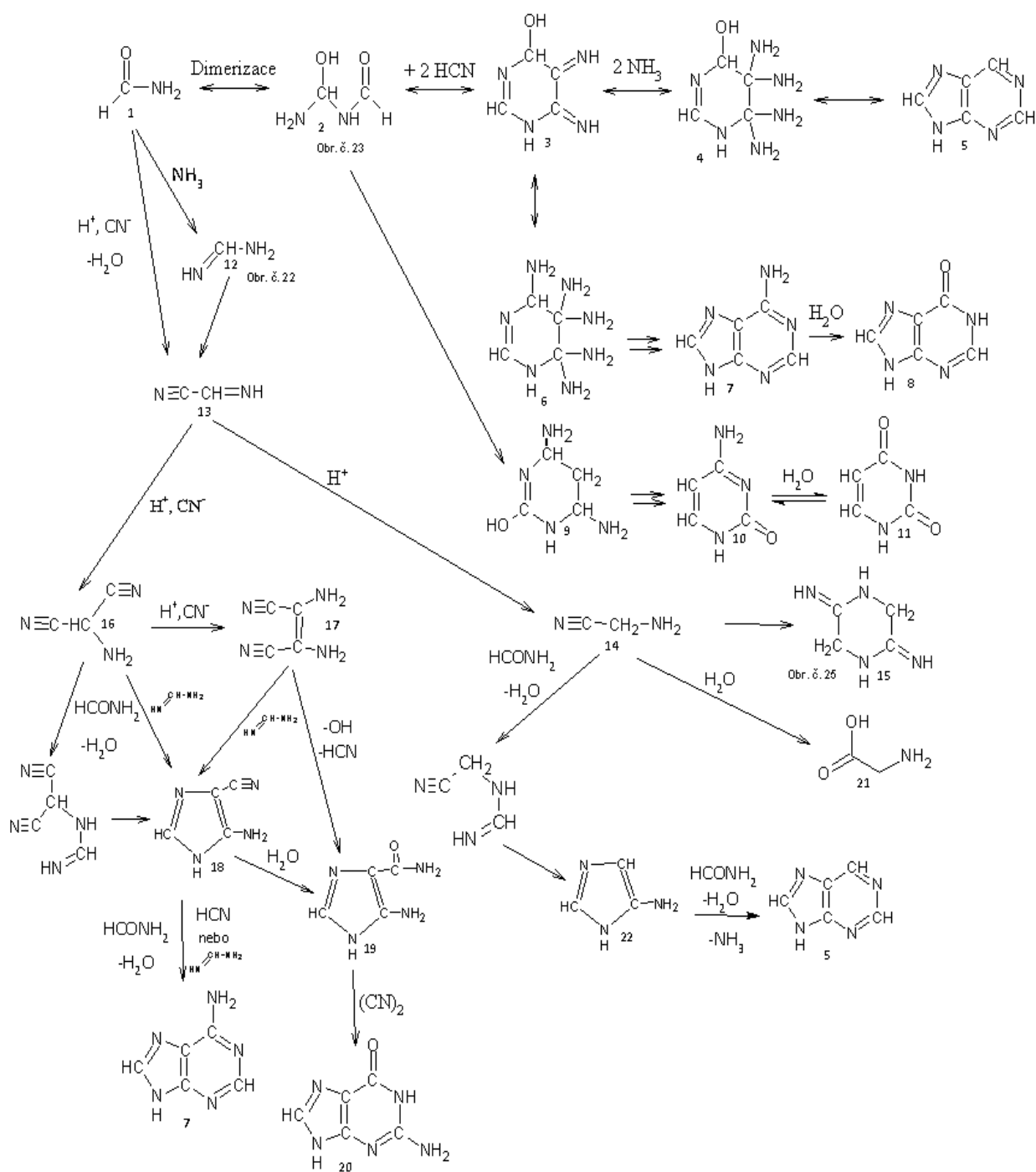


Obrázek č. 23: : FTIR spektrum dimeru formamidu

Strukturní vzorce těchto látek a jejich roli v reakčním mechanismu vzniku nukleových bází při termolýze jílu ukazuje obrázek č. 24. U detekovaných meziproduktů jsou uvedena čísla obrázků, na kterých se nacházejí jejich FTIR spektra. Vznik purinu, adeninu a hypoxanthinu přes dimer formamidu⁶² je dopodrobna popsán v teoretické části. Z formamidu může také vznikat formamidin (12), který však podléhá reakci za vzniku iminoacetonitrilu (13). 2-iminoacetonitril (ve schématu pod číslem 13), který vzniká také přímo z formamidu, se dále přeměňuje na 2-aminomalonitril (16) a 2-aminoacetonitril (14)⁶⁶. Z 2-aminomalonitrilu (13) vzniká další reakční cestou 5-aminoimidazolkarbonitril (18), z kterého vzniká adenin (7).

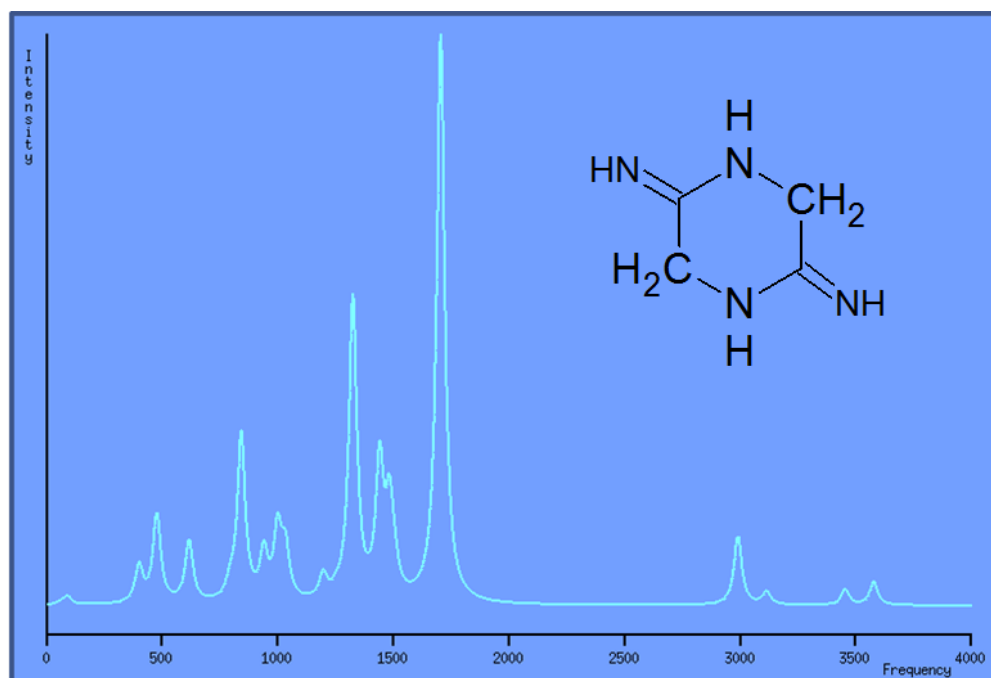
2-aminomalonitril může také reagovat na 2,3-diaminomalonitril (17), který reaguje na 5-aminoimidazolkarboxamid (19), z kterého vzniká guanin (20). 2-aminomalonitril se ale také může přeměnit na 5-aminoimidazolkarbonitril (18), z kterého vzniká adenin (7). 5-aminoimidazolkarbonitril (18) však může s vodou reagovat na 5-aminoimidazolkarboxamid (19) a vznikne opět guanin (20) působením dikyanu.

2-aminoacetonitril (14) se přeměňuje na glycin (21) nebo se přeměňuje na cyklický aminoacetonitril (15) jako boční produkt, který je stálý za vyšších teplot, a proto jsme ho detekovali i v termolyzovaném vzorku H-jíl + NiFe. 2-aminoacetonitril (14) může také reagovat na aminoimidazol (22), z kterého vzniká purin⁵² (5).



Obrázek č. 24: Navržené reakční schéma

Spektrum cyklického kovalentního dimeru vznikajícího z aminoacetonitrilu bylo teoreticky vypočteno a je znázorněno na obrázku č. 25. Charakteristické pásy kolem frekvencí 900, 1300 a 1750 cm^{-1} charakterizují skelet vibrací šestičlenného saturevaného heterocyklu a pás v oblasti 3000 cm^{-1} je projevem valenční vibrace C-H vazby.

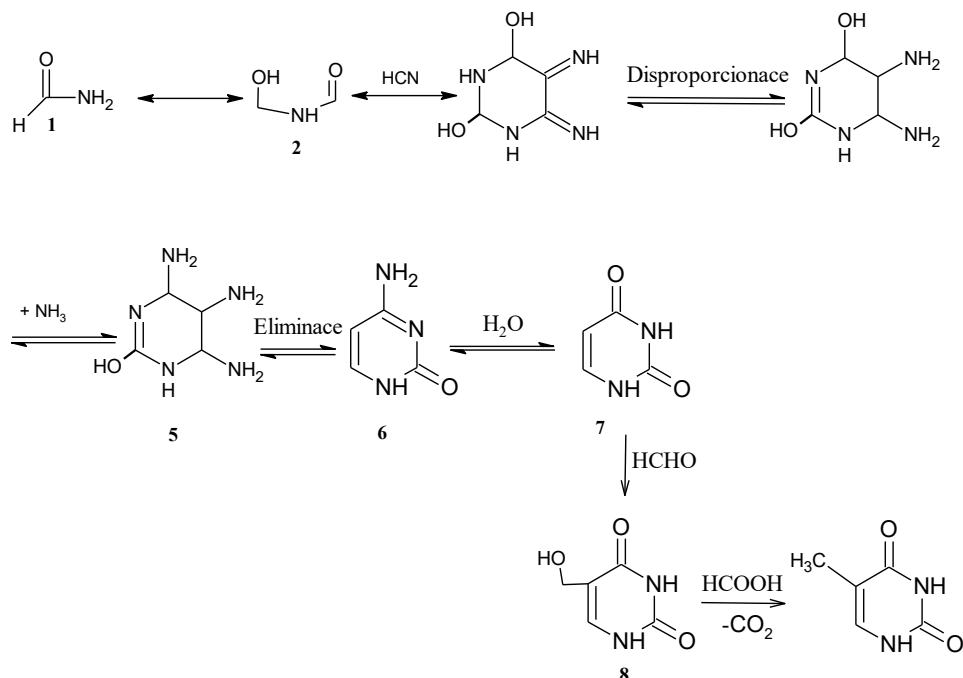


Obrázek č. 25: Teoretické spektrum cyklického dimeru aminoacetonitrilu

Spektra meziproductů byla porovnána se spektry termolyzovaných vzorků. Jak je také vidět z obrázků č. 27, č. 28, č. 29. Aminoacetonitril nebyl nalezen v žádném ze spekter termolytických vzorků. Jeho cyklický kovalentní dimer byl detekován na základě teoretického spektra v FTIR spektrum termolyzovaného čistého aminoacetonitrilu a ve spektru vzorku, který obsahoval H-jíl + NiFe. Shoda vzorků termolyzovaného aminoacetonitrilu a vzorku termolyzovaného formamidu v přítomnosti kyselého montmorillonitu ukazuje na přítomnost cyklického aminoacetonitrilu, který vzniká tepelným rozkladem aminoacetonitrilu. Aminoacetonitril nicméně jako takový nebyl v termolyzovaném vzorku detegován. Je patrné, že aminoacetonitril při teplotách 160 $^{\circ}\text{C}$ z formamidu sice vzniká, ale okamžitě reaguje za vzniku cyklické formy nebo za vzniku dalších reakčních meziproductů vedoucích ke vzniku nukleových bází.

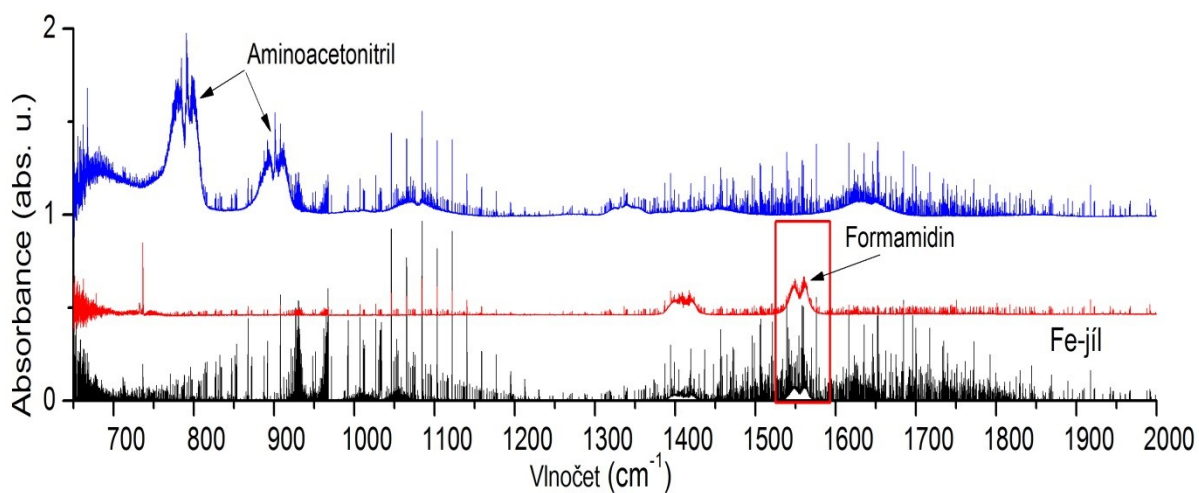
Obrázek č. 26 ukazuje jinou reakční cestu⁵², ze které může vznikat cytosin (6), uracil (7) a thymin (9). Z formamidu (1) vzniká i N-(hydroxymethyl)formamid (2), z kterého je

možná syntéza cytosinu a uracilu přes hexahydro-5,6-diiminopyrimidin-2,4-diol (3), hexahydro-5,6-diaminopyrimidin-2,4-diol (4), hexahydro-4,5,6-triaminopyrimidin-2-ol (5). Z uracilu pak může vznikat thymin přes 5-hydroxymethyluracyl (8). Tato reakční cesta je jistou alternativou k naší navržené, nicméně thymin nebyl nalezen v žádném našem vzorku.

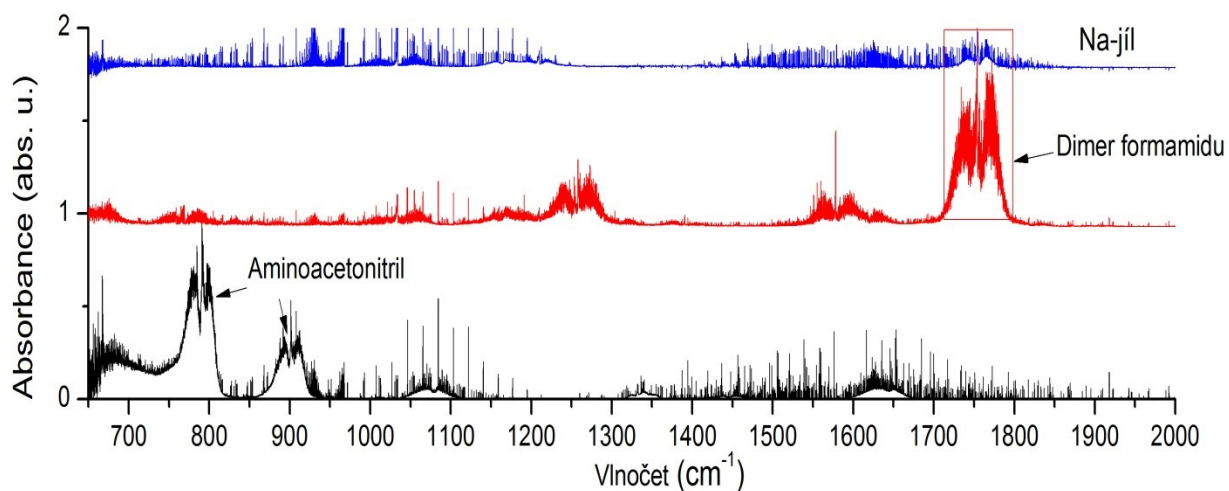


Obrázek č. 26: Alternativní reakční cesta vzniku cytosinu, uracilu a thyminu⁵²

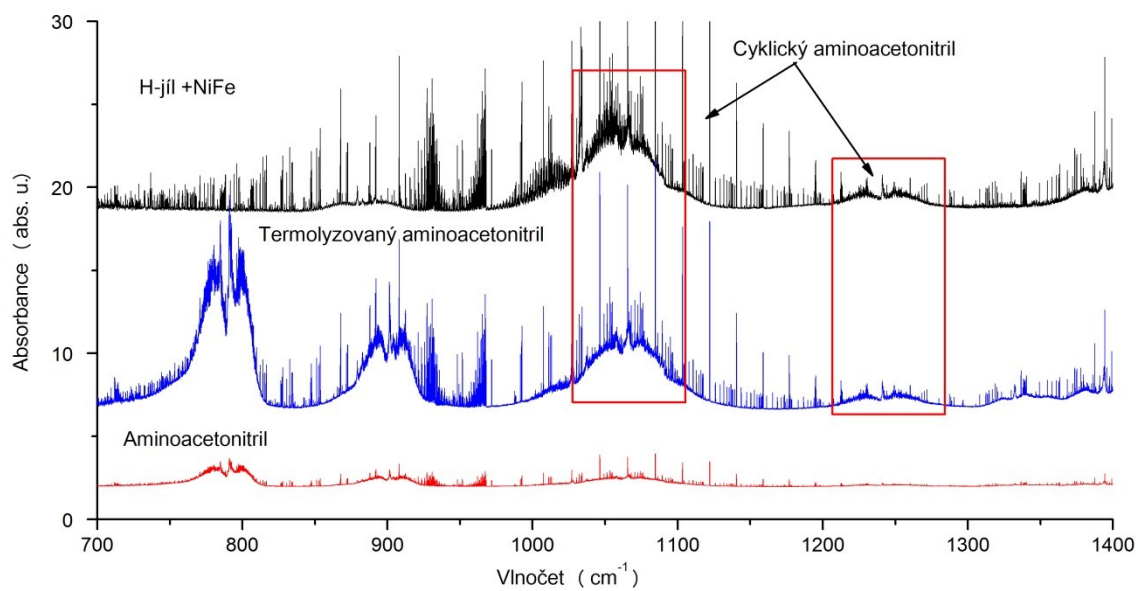
Obrázek č. 27 ukazuje, že formamidin byl nalezen ve spektru železitého jílu. Dimer formamidu byl nalezen ve spektru termolyzovaného vzorku s Na-jílem, což ukazuje FTIR spektrum na obrázku č. 28. Obrázek č. 29 ukazuje porovnání FTIR spekter aminoacetonitrilu, termolyzovaného aminoacetonitrilu a spektra H-jílu s NiFe, ve kterém byl identifikovaný cyklický aminoacetonitril.



Obrázek č. 27: Spektra plynné fáze aminoacetonitrilu, formamidinu a termolytického vzorku s Fe-jílem, kde se vyskytují pásy formamidinu



Obrázek č. 28: Spektra plynné fáze aminoacetonitrilu, dimeru formamidu a termolytického vzorku s Na-jílem, kde se vyskytují pásy dimeru formamidu



Obrázek č. 29: Spektra plynné fáze aminoacetonitrilu, termolyzovaného aminoacetonitrilu a H-jíl + NiFe, kde je vidět cyklický aminoacetonitril

6. Závěr

Byla provedena termolýza formamidu ve směsi s Fe-jílem, Na-jílem a H-jílem. Paralelně k těmto vzorkům byly termolyzovány tytéž vzorky, ke kterým byly přidány hobliny železného meteoritu (NiFe). Plynná fáze byla analyzována pomocí absorpční spektrometrie s vysokým rozlišením a Fourierovou transformací. Ve spektrech byl detegován amoniak, oxid uhelnatý a kyanovodík, přičemž kyanovodíku se ve všech vzorcích vytvořilo nejméně.

Analýza kapalně fáze provedená pomocí GC/MS zjistila přítomnost purinu a všech kanonických nukleových bází kromě thyminu. Výtěžky těchto bází a dalších organických látek závisely na použitém druhu jílu a na přítomnosti NiFe. Ukázalo se, že železo obsažené v meteoritu vznik nukleových bází spíše potlačuje. Pokud je ovšem železo interkalováno v jílu, výtěžnost reakcí roste. Výtěžky látek jsou zřejmě dány koncentračně a nehraje zde roli katalýza. Mechanismus je založen na termální reakci formamidu a na základě kvantově mechanických výpočtů bylo navrženo reakční schéma a několik meziproduktů bylo také spektroskopicky detegováno některé meziprodukty reakčního mechanismu termolýzy formamidu za vzniku purinových a pyrimidinových bází: Formamidin byl nalezen při termolýze formamidu za přítomnosti Fe-jílu a dimer formamidu ve všech vzorcích. Aminoacetonitril se nepodařilo detekovat, nicméně se podařilo detegovat jeho cyklickou formu, která je produktem jeho termolýzy. Reakce vedoucí ke vzniku aminoacetonitrilu a jeho následná cyklizace pravděpodobně probíhají tak rychle, že je nemožné aminoacetonitril samotný detekovat. Jeho cyklický kovalentní dimer vzniká při termolýze aminoacetonitrilu a byl nalezen v termolyzovaném vzorku, který obsahoval H-jíl s NiFe.

Nalezení různých meziproduktů v odlišných vzorcích podporuje naši domněnku, že báze ve vzorku vznikají různými mechanismy a reakčními cestami, což může také ovlivňovat jejich konečnou kvantitu.

Cílem této práce bylo ověřit katalytický či čistě fyzikální vliv jílu na syntézu biomolekul za podmínek relevantních prostředí raných terestrických planet – termolýzy za teploty 160°C probíhající v prostředí vodou alterovaných hornin (jílu) s vysokým obsahem buďto přímo meteorického železa (např. v hypotetické impaktní struktuře vzniklé po dopadu asteroidu) nebo železa interkalovaného do vodou alterovaných minerálů a hornin (hypotetická eroze impaktní struktury vodou). Podle našich úvah mohla být raná Země v mnoha ohledech podobná dnešnímu Marsu. Povrch na Marsu

byl a je velmi bohatý na železo. Lze předpokládat, že souvislosti s vysokou četností impatků meziplanetární hmoty, která obsahuje více železa než horniny nacházející se na Zemi, byl povrch mladé Země bohatý na meteorické železo, které bylo postupně alterováno vodní erozí a vznikly na železo bohaté jíly. Výsledky prezentované v této práci ukazují, že právě vyšší obsah železa v povrchové hornině mohl být důležitým faktorem při vzniku mnoha biomolekul. Pozitivní efekt má však pouze železo obsažené ve vodou alterovaných minerálech, meteorické kovové železo podle našich zjištění syntézu bází blokuje.

7. Seznam použité literatury

1. A.I., O. *Vznik a vývoj života*. (Naše vojsko, 1950).
2. Miller, S. L. & Urey, H. C. *Science* 117, 528. *PubMed Google Sch.* (1953).
3. Sutherland, J. D. The Origin of Life—Out of the Blue. *Angew. Chemie Int. Ed.* **55**, 104–121 (2015).
4. Miller, S. L. & Urey, H. C. Organic Compound Synthesis on the Primitive Earth. *Science (80-.)*. **130**, 245–251 (1959).
5. Eduard Kejnovský. *No Tajemství genu - Od vzniku života po genom člověka*. (ACADEMIA, 2015).
6. Kolektiv autorů. *Biochemie:základní kurz*. (2009).
7. Theobald, D. L. A formal test of the theory of universal common ancestry. *Nature* **465**, 219 (2010).
8. Woese, C. The universal ancestor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **95**, 6854–6859 (1998).
9. Bell, E. A., Boehnke, P., Harrison, T. M. & Mao, W. L. Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 14518–21 (2015).
10. Wacey, D., Kilburn, M. R., Saunders, M., Cliff, J. & Brasier, M. D. Microfossils of sulphur-metabolizing cells in 3.4-billion-year-old rocks of Western Australia. *Nat. Geosci.* **4**, 698–702 (2011).
11. S., D. M. *et al.* Evidence for early life in Earth's oldest hydrothermal vent precipitates. *Nature* **543**, 60–64 (2017).
12. Bordenave, G. Louis Pasteur (1822–1895). *Microbes Infect.* **5**, 553–560 (2003).
13. Darwin, C. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. (1859).
14. Johnson, A. P. *et al.* The Miller volcanic spark discharge experiment. *Science (80-.)*. **322**, 404 (2008).
15. DAVID WARMFLASH, NATHAN LENTS. Origins of Life I: Early Ideas and Experiments. *Visionlearning* (2016). Available at: <https://www.visionlearning.com/en/library/Biology/2/Origins-of-Life-I/226#top>. (Accessed: 23rd May 2018)
16. WATSON, J. D. & CRICK, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **171**, 737–738 (1953).
17. Orgel, L. E. Evolution of the genetic apparatus. *J. Mol. Biol.* **38**, 381–393 (1968).

18. Kruger, K. *et al.* Self-splicing RNA: Autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of tetrahymena. *Cell* **31**, 147–157 (2018).
19. Guerrier-Takada, C., Gardiner, K., Marsh, T., Pace, N. & Altman, S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell* **35**, 849–857 (2018).
20. Nissen, P., Hansen, J., Ban, N., Moore, P. B. & Steitz, T. A. The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis. *Science (80-.)*. **289**, 920–930 (2000).
21. Cech, T. R. The Ribosome Is a Ribozyme. *Science (80-.)*. **289**, 878–879 (2000).
22. Battista, J. R., Earl, A. M. & Park, M.-J. Why is *Deinococcus radiodurans* so resistant to ionizing radiation? *Trends Microbiol.* **7**, 362–365 (1999).
23. Kejnovský, E., Šponer, J., Ferus, M., Civiš, S. & Šponer, J. E. Preludium o sopkách, bombardování Země a formamidu. *Vesmír* (2018).
24. Wächtershäuser, G. Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: a Hypothesis. *Syst. Appl. Microbiol.* **10**, 207–210 (1988).
25. Russell, M. J., Daniel, R. M. & Hall, A. J. On the emergence of life via catalytic iron-sulphide membranes. *Terra Nov.* **5**, 343–347 (1993).
26. Robertson, M. P. & Miller, S. L. An efficient prebiotic synthesis of cytosine and uracil. *Nature* **375**, 772 (1995).
27. Corliss, J. B. *et al.* Submarine Thermal Springs on the Galápagos Rift. *Science (80-.)*. **203**, 1073–1083 (1979).
28. Yücel, M., Gartman, A., Chan, C. S. & Luther III, G. W. Hydrothermal vents as a kinetically stable source of iron-sulphide-bearing nanoparticles to the ocean. *Nat. Geosci.* **4**, 367 (2011).
29. Luisi, P. L. & Stano, P. *The minimal cell: the biophysics of cell compartment and the origin of cell functionality*. (Springer Science & Business Media, 2010).
30. Luisi Luigi, P. Why is life cellular? Available at: <https://wsimag.com/science-and-technology/20118-why-is-life-cellular>. (Accessed: 26th February 2018)
31. Segré, D., Ben-Eli, D., Deamer, D. W. & Lancet, D. The Lipid World. *Orig. life Evol. Biosph.* **31**, 119–145 (2001).
32. Mulkidjanian, A. Y., Bychkov, A. Y., Dibrova, D. V, Galperin, M. Y. & Koonin, E. V. Origin of first cells at terrestrial, anoxic geothermal fields. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, E821--E830 (2012).
33. Ferus, M. *et al.* Formation of Nucleobases in a Miller-Urey Reducing

- Atmosphere. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **114**, 4306–4311 (2017).
34. Ferus, M. *et al.* High-energy chemistry of formamide: A unified mechanism of nucleobase formation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 657–662 (2015).
 35. Civiš, S. *et al.* The origin of methane and biomolecules from a CO₂ cycle on terrestrial planets. *Nat. Astron.* **1**, 721–726 (2017).
 36. Cairn-Smith, G. *Seven Clues to the Origin of Life*. (2006).
 37. Ferris, J. P., Huang, C.-H. & Hagan, W. J. Clays as prototypical enzymes for the prebiological formation of phosphate esters. *Orig. life Evol. Biosph.* **16**, 473–474 (1986).
 38. Ferris, J. P. Montmorillonite-catalysed formation of RNA oligomers: the possible role of catalysis in the origins of life. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* **361**, 1777–1786 (2006).
 39. Kohoutek, L. *Země z pohledu astronoma*. (2007).
 40. Bockelée-Morvan, D. *et al.* New molecules found in comet C/1995 O1 (Hale-Bopp). Investigating the link between cometary and interstellar material. *Astron. Astrophys.* **353**, 1101–1114 (2000).
 41. Gerakines, P. A., Moore, M. H. & Hudson, R. L. Ultraviolet photolysis and proton irradiation of astrophysical ice analogs containing hydrogen cyanide. *Icarus* **170**, 202–213 (2004).
 42. Yoshinori, T., Taiki, T., Takeo, K., Kensei, K. & Katsumi, M. Pyrolysis of High-Molecular-Weight Complex Organics Synthesized from a Simulated Interstellar Gas Mixture Irradiated with 3 MeV Proton Beam. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **77**, 779–783 (2004).
 43. Saladino, R. *et al.* From formamide to RNA: the roles of formamide and water in the evolution of chemical information. *Res. Microbiol.* **160**, 441–448 (2009).
 44. Parnell, J., Baron, M. & Lindgren, P. Potential for irradiation of methane to form complex organic molecules in impact craters: Implications for Mars, Titan and Europa. *J. Geochemical Explor.* **89**, 322–325 (2006).
 45. Borucki, J. G., Khare, B. & Cruikshank, D. P. A new energy source for organic synthesis in Europa's surface ice. *J. Geophys. Res. Planets* **107**, 24–25 (2002).
 46. Levy, M., Miller, S. L., Brinton, K. & Bada, J. L. Prebiotic Synthesis of Adenine and Amino Acids Under Europa-like Conditions. *Icarus* **145**, 609–613 (2000).
 47. Saladino, R., Crestini, C., Costanzo, G., Negri, R. & Mauro, E. Di. A possible prebiotic synthesis of purine, adenine, cytosine, and 4(3H)-pyrimidinone from

- formamide: implications for the origin of life. *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 1249–1253 (2001).
48. L., B. H. *et al.* Guanine, Adenine, and Hypoxanthine Production in UV-Irradiated Formamide Solutions: Relaxation of the Requirements for Prebiotic Purine Nucleobase Formation. *ChemBioChem* **11**, 1240–1243
49. Saladino, R., Barontini, M., Cossetti, C., Di Mauro, E. & Crestini, C. The effects of borate minerals on the synthesis of nucleic acid bases, amino acids and biogenic carboxylic acids from formamide. *Orig. Life Evol. Biosph.* **41**, 317–330 (2011).
50. Saladino, R. *et al.* Meteorite-catalyzed syntheses of nucleosides and of other prebiotic compounds from formamide under proton irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, E2746--E2755 (2015).
51. Vohlídal, Julák, Š. *Chemické a analytické tabulky.*
52. Ferus, M. *et al.* High-Energy Chemistry of Formamide: A Simpler Way for Nucleobase Formation. *J. Phys. Chem. A* **118**, 719–736 (2014).
53. Ferus, M. *et al.* High-energy chemistry of formamide: A unified mechanism of nucleobase formation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 657–662 (2015).
54. Jenniskens, P., Laux, C. O., Wilson, M. A. & Shaller, E. L. The Mass and Speed Dependence of Meteor Air Plasma Temperatures. *Astrobiology* **4**, 81–94 (2004).
55. Ferus, M. Vysoce rozlišená spektrometrie A JEJI S FouRIERoVoU.
56. Bridger, J. Michelson Interferometer. (2013). Available at: <https://sites.google.com/a/doversherborn.org/bridger/home/ap-physics/1st-quarter-modern-labs/interferometry-index-of-air>. (Accessed: 22nd May 2018)
57. Klouda, P. *Moderní analytická metody.* (2003).
58. František Erik Matoušek. Redoxní rovnováha založena na přenosu elektronů. *Slideplayer* Available at: <http://slideplayer.cz/slide/5624955/release/woothee>. (Accessed: 14th March 2018)
59. McMurry, J. *Organická chemie.* (Vysoké učení technické v Brně, VITIUM, 2015).
60. Pastorek, A. Studium syntézy biogenních molekul účinky ionizujícího záření. (2017).
61. Bernstein, M. P., Bauschlicher, C. W. & Sandford, S. A. The infrared spectrum of matrix isolated aminoacetonitrile, a precursor to the amino acid glycine. *Adv. Sp. Res.* **33**, 40–43 (2004).

62. Saladino, R., Crestini, C., Ciciriello, F., Costanzo, G. & Di Mauro, E. Formamide Chemistry and the Origin of Informational Polymers. *Chem. Biodivers.* **4**, 694–720 (2007).
63. Ferus, M. *et al.* On the Road from Formamide Ices to Nucleobases: IR-Spectroscopic Observation of a Direct Reaction between Cyano Radicals and Formamide in a High-Energy Impact Event. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 20788–20796 (2012).
64. DNA building blocks can be made in space, NASA evidence suggests. (2011). Available at:
<https://www.sciencedaily.com/releases/2011/08/110808220659.htm>.
65. Šponer, J. E., Mládek, A., Šponer, J. & Fuentes-Cabrera, M. Formamide-based prebiotic synthesis of nucleobases: a kinetically accessible reaction route. *J. Phys. Chem. A* **116**, 720–726 (2011).
66. Sanchez, R. A., Ferbis, J. P. & Orgel, L. E. Studies in Prebiotic Synthesis: II. Synthesis of purine precursors and amino acids from aqueous hydrogen cyanide. *J. Mol. Biol.* **30**, 223–253 (1967).

8. Seznam zkratek

FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
DNA	Deoxyribonukleová kyseliny
RNA	Ribonukleová kyseliny
FT	Fourierova transformace
GC/MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
LUCA	Poslední univerzální společný předek (Last universal common ancestor)
UV	Ultrafialové záření
PALS	Pražský laserový systém Asterix (Prague Asterix Laser System)
MTBSTFA	(N-tercbutyldimethylsilyl-N-methyltrifluoracetamid)
E_k	Kinetická energie
Fe-jíl	Železný jíl
Na-jíl	Sodný jíl
H-jíl	Kyselí jíl
NiFe	Meteorický prach
FMA	Formamid
MIR	Střední infračervená oblast
NIR	Blízká infračervená oblast
EHB	Early heavybombardment
LHB	Late heavybombardment
TW	Terawatty