

KATARZYNA ADAMALA<sup>1</sup> i SŁAWOMIR PIKUŁA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

<sup>2</sup>Zakład Biochemii Komórki

Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

e-mail: s.pikula@nencki.gov.p

## HIPOTETYCZNA ROLA AUTOKATALITYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI KWASÓW NUKLEINOWYCH W PROCESIE BIOGENEZY

### WSTĘP

Pytanie o powstanie życia na naszej planecie nurtowało człowieka prawdopodobnie od momentu rozwoju świadomości. Pierwszymi próbami odpowiedzi na nie były systemy religijne, do dziś dające wiernym wyczerpujący opis stworzenia świata i powstania na nim życia. W IV w. p.n.e. Arystoteles sformułował dogmat samoródtwa (*generatio spontanea*), który obowiązywał prawie 2000 lat. W opublikowanym w 1648 r. dziele *Ortus medicinae* Jan Baptysta Helmont twierdził nadal, że to materia nieożywiona daje początek życiu. Przeprowadził eksperyment, w którym dowiódł, że wierzba w doniczce wyrasta z wody użytej do podlewania ziemi. Przez stulecia rozpowszechniono setki podobnych dowodów na poparcie teorii samoródtwa (DEAMER i FLEISCHAKER 1994).

Początek XX w. przyniósł pierwszą wielką naukową teorię biogenezy. Rosyjski biolog Aleksander I. Oparin założył, że pierwotna atmosfera Ziemi była silnie redukująca i zaproponował następujący scenariusz powstania życia. Podstawowe związki organiczne powstały na drodze ewolucji chemicznej w ziemskich oceanach. Z nich uformowały się ciekłe koagulatory (koacerwaty), których dalsze przemiany doprowadziły do powstania pierwszych komórek. W 1953 r. Stanley L. Miller i Harold C. Urey

potwierdzili doświadczalnie jeden z podstawowych elementów teorii Oparina. Wymienieni badacze, poddając wyładowaniom elektrycznym mieszaninę gazów o składzie zaproponowanym przez Oparina (para wodna, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>), otrzymali niektóre aminokwasy (MILLER i UREY 1959). Późniejsze badania pozwalają jednak przypuszczać, że pierwotna atmosfera miała nieco inny, bardziej obojętny chemicznie skład. Stawia to pod znakiem zapytania główny postulat teorii Oparina. Aby rozwiązać ten problem, sformułowano teorię panspermii, która zakładała, że podstawowe związki organiczne mogły być dostarczone na Ziemię w jądrach meteorytów (MILLER i współaut. 1997). W jaki sposób z prostych związków organicznych powstały bardziej złożone cząsteczki, białka i kwasy nukleinowe? Anglik Graham Cairns-Smith sugerował, że pierwszymi nośnikami informacji o budowie białek były jony w skałach ilastych (CAIRNS-SMITH 1966). Niemiec Günter Wächtershäuser zaproponował natomiast umiejscowienie procesu powstania pierwszych komórek w kraterach podwodnych wulkanów (HÜBER i WÄCHTERS-HÄUSER 1998). Do tej pory jednak żadna z powyższych hipotez nie uzyskała jednoznacznego potwierdzenia.

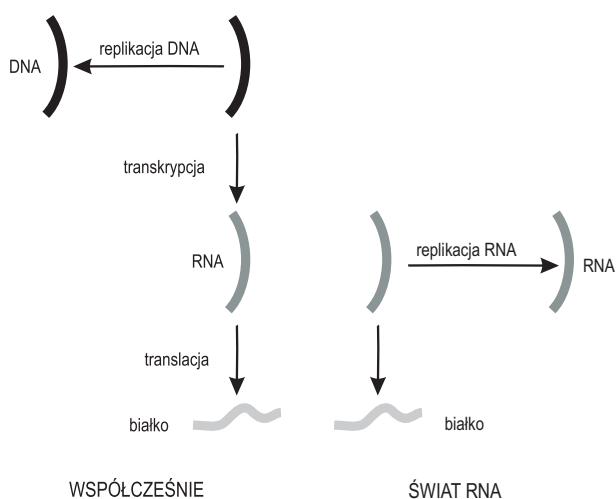
## ŚWIAT RNA

Jedną z funkcji białek enzymatycznych jest modyfikowanie RNA po transkrypcji. Od odkrycia i dokładnego opisanie tego procesu przez wiele lat uważano, że w wycinaniu intronów z pierwotnego transkryptu (czyli w *splicingu*) bezwzględnie muszą uczestniczyć enzymy białkowe. Stanowiło to nierozwiązywalny problem dla wszystkich teorii biogenezy. Co powstało najpierw, kwasy nukleinowe, niezbędne do przenoszenia informacji o budowie białek, czy białka niezbędne do wykorzystywania tej informacji?

W najprostszym organizmie ekspresji ulegają tysiące różnych białek. Trudno wyobrazić sobie przechowywanie informacji o budowie ich wszystkich w postaci gotowych cząsteczek. Dlatego hipotezy o czysto białkowych początkach życia były od początku przyjmowane sceptycznie (CRICK 1992). Hipoteza zakładająca powstanie najpierw autoreplikujących się łańcuchów kwasów nukleinowych, na matrycy których powstały później pierwsze białka, również przez wiele lat pozbawiona była wiarygodnych podstaw (KNIGHT i LANDWEBER 2000).

Wiadomo było, że do ekspresji informacji zawartej w kwasach nukleinowych niezbędne są białka enzymatyczne. Rodzi się paradoks: nie ma białka bez informacji o jego budowie zawartej w kwasach nukleinowych, nie ma odczytu tej informacji bez pomocy białek. Przełom w tej dziedzinie nastąpił, gdy odkryto, że kwasy nukleinowe same mogą pełnić rolę katalizatorów. Enzymy te nazwano rybozymami (KRUGER i współaut. 1982). Udowodnienie, że do przetworzenia informacji genetycznej nie potrzeba enzymów białkowych, umożliwiło sformułowanie hipotezy „świata RNA” (ang. RNA world) (BARTEL i UNRAU 1999, SCHIMMEL i KELLEY 2000, ORGEL 2003). Według tej hipotezy, powstałe w toku ewolucji chemicznej nukleotydy utworzyły pierwsze cząsteczki RNA. Następnie, w procesie odwrotnej transkrypcji, informacja genetyczna przepisana została na stabilniejsze (mniej reaktywne) cząsteczki DNA, natomiast pierwsze białka powstały przy wykorzystaniu wolnych aminokwasów obecnych w środowisku. Oba te procesy możliwe były dzięki katalitycznym właściwościom cząsteczek RNA (CECH i BASS

1986). Prawdopodobnie w początkach życia, zanim wykształciły się skomplikowane szlaki obecne we współczesnych organizmach, wszystkie przemiany związane z syntezą białka i replikacją materiału genetycznego katalizowane były przez rybozomy (BARTEL i UNRAU 1999, SCHIMMEL i KELLEY 2000, OHNISHI i współaut. 2002, ORGEL 2003) (Ryc. 1).



Ryc. 1. Porównanie mechanizmów powielania i odczytywania informacji genetycznej u współczesnych organizmów z hipotetycznymi organizmami świata RNA. Inne wyjaśnienia w tekście pracy.

Dlaczego początki życia opierały się na RNA, a nie na DNA? Powodów może być kilka. Kwas rybonukleinowy jest dużo bardziej reaktywny niż DNA, łatwiej ulega przekształceniom i wchodzi w reakcje z innymi związkami (jest dużo mniej stabilny). Z pewnością miało to kluczowe znaczenie podczas kształtowania się podstaw kodu genetycznego i powstawania pierwszej informacji genetycznej (KNIGHT i LANDWEBER 2000). Najlepszym dowodem na poparcie hipotezy „świata RNA”, stanowiącym jednocześnie główną postawę jej sformułowania jest fakt, że RNA wykazuje właściwości enzymatyczne (BARTEL i UNRAU 1999, SCHIMMEL i KELLEY 2000, EMILSSON i współaut. 2003, ORGEL 2003).

## RYBOZYMY

Powszechnie przyjęta definicja głosiła przez lata, że enzymy to katalizatory białkowe przyspieszające określone reakcje. Pogląd ten, po ponad 50 latach od odkrycia pierwszych enzymów, zweryfikowały w 1982 r. badania Thomasa Cecha. Wraz ze współpracownikami stwierdził on, że w specyficznych sytuacjach również cząsteczki RNA mogą pełnić funkcję enzymów (KRUGER i współaut. 1982, CECH 2002).

Rybozomy klasyfikuje się ze względu na rodzaj produktów katalizowanej przez nie reakcji oraz strukturę cząsteczki. Najlepiej opisaną klasą są rybozomy, których aktywność prowadzi do wycięcia z nici substratu produktu posiadającego na końcu 3' grupę hydroksylową, a na końcu 5' – fosforan. W obrębie tej klasy wyróżniamy dwa zasadnicze typy: introny grupy I i II (CECH i współaut. 1992, CECH 2002). Reakcje autokatalitycznego splicingu podzielić tu można na dwie grupy, różniące się między sobą głównie przebiegiem początkowej fazy splicingu. Pierwszym etapem reakcji autokatalitycznego splicingu jest atak na miejsce splicingowe 5'. W intronach grupy I za etap ten odpowiedzialny jest kofaktor guanozynowy (jak u pierwszego poznanego rybozomu – intronu genu 26S rRNA *Tetrahymena thermophila*) (HERSCHLAG i CECH 1990). Natomiast w intronach grupy II ataku dokonuje grupa 2'-hydroksylowa reszty adenylanowej intronu (CECH i BASS 1986, DOUDNA i CECH 2002).

Do drugiej klasy rybozomów należą cząsteczki, które katalizują reakcje prowadzące do powstania produktów o końcach 5'-hydroksylowym i cyklicznym – 2', 3'-fosfodiestrowym (CECH i BASS 1986, CECH i współaut. 1992). W obrębie tej klasy wyróżniamy kilka typów rybozomów, różniących się między sobą strukturą centrum katalitycznego. Najpowszechniejsze z nich to rybozomy typu „głowa młotka” (ang. hammerhead) (MCKAY i współaut. 1994) oraz typu „spinki” (ang. hairpin) (CHACHULSKA 1992, BURKE 2002, BEVILACQUA 2003). Specyficznym rybozomem jest rybonukleaza P (RNaza P) – właściwym rybozomem jest w tym przypadku cząsteczka RNA M1, związana z podjednostką białkową (SADOWSKA 1992).

Podobnie jak w przypadku enzymów białkowych, również aktywność rybozomów może podlegać precyzyjnej kontroli. Kofaktorem mogą być jony metali lub związki orga-

niczne, na przykład guanozyna (MARKLEY i współaut. 2001). Najczęściej proces katalizy zależy od obecności jonów magnezu. Możliwy jest też udział  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  lub  $Na^+$  (tak jak w rybozomach typu „głowa młotka”, intronach grupy I, RNAzie P) (STEITZ i STEITZ 1993, HAMPEL i COWAN 1997).

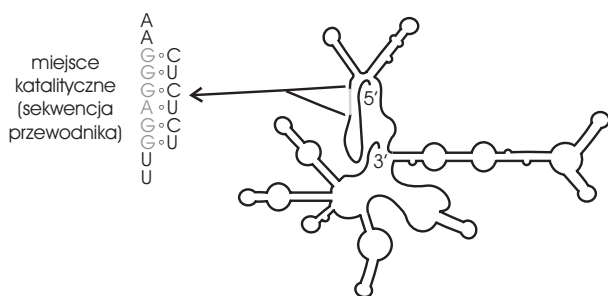
Powszechnie uważa się, że dla wywołania aktywności katalitycznej, na przykład rybozomów typu „hammerhead”, konieczny jest udział dwóch jonów metalu. Jeden z nich aktywuje tzw. atakującą grupę hydroksylową (2'-OH), natomiast drugi stabilizuje ujemny ładunek na atomie tlenu grupy odchodzącej (STEITZ i STEITZ 1993).

Pierwszy odkryty rybozom należy do intronów grupy I, przeprowadzających reakcje autokatalitycznego splicingu. Thomas Cech i współpracownicy badali splicing u orzęska *Tetrahymena thermophila*. U tego pierwotniaka cząsteczka 26S rRNA powstaje przez wycięcie intronu o długości 414 nukleotydów z prekursora o długości 6,4 kz. Cech zamierzał zidentyfikować białka niezbędne do tej reakcji. Do roztworu zawierającego prekursor RNA dodał ekstrakt komórkowy. Nieoczekiwanie zaobserwował, że intron został wycięty również w próbie kontrolnej, która nie zawierała żadnych białek, a tylko prekursor RNA i trifosforany nukleotydów. Dalsze badania pozwoliły stwierdzić, że w obecności trifosforanów nukleotydów intron sam wycina się z prekursora RNA, a kofaktorem tej reakcji jest guanozyna (KRUGER i współaut. 1982). Z wyciętego intronu, w cyklu kolejnych przekształceń, powstaje liniowa cząsteczka RNA złożona z 395 nukleotydów, nazwana L19 RNA (ang. linear minus 19 intervening sequence) (KRUGER i współaut. 1982).

Struktura RNA wyznacza jego autokatalityczne właściwości. Cząsteczka prekursorowego RNA *Tetrahymena* ma skomplikowany kształt (Ryc. 2), a w reakcji autokatalitycznego splicingu (Ryc. 3) bierze udział kilka jej specyficznych sekwencji. O kluczowym dla reakcji znaczeniu konformacji przestrzennej cząsteczki świadczy fakt, że gdy drugo- i trzeciorzędowa struktura intronu ulegnie zniszczeniu, splicing nie zachodzi (MCKAY i współaut. 1994).

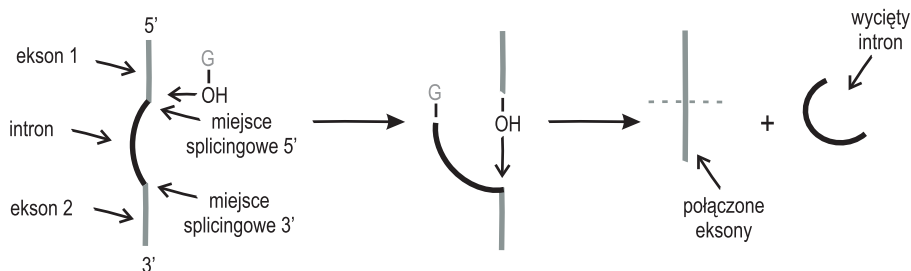
Rybozom L19 RNA wykazuje szereg cech charakterystycznych dla typowej katalizy enzymatycznej. Jedną ze specyficznych, katalizowanych przez niego reakcji, są przemiany pentarybonukleotydu cytydynowego ( $C_5$ ). Jego

cząsteczka może być przekształcona zarówno w krótsze ( $C_4$  i  $C_3$ ), jak i dłuższe ( $C_6$  i większe) oligomery. L19 RNA zachowuje się zgodnie z zasadami kinetyki reakcji enzymatycznych (model Michaelisa-Menten). Dla  $C_5$  wartość stałej Michaelisa  $K_m$  wynosi  $42 \mu\text{M}$ , a stała szybkości reakcji wynosi  $0,034 \text{ s}^{-1}$ . Rybozym ten wykazuje też specyficzność substratową: najlepiej katalizuje reakcje z udziałem  $C_5$ , znacznie słabiej wpływa na szybkość przekształceń  $U_5$ , a nie katalizuje reakcji  $G_5$  i  $A_5$ . Rybozym jest również podatny na hamowanie kompetencyjne.



Ryc. 2. Drugorzędowa struktura prekursora rRNA z *Tetrahymena thermophila*.

Aktywność L19 RNA może być zahamowana przez  $(dC)_5$  (przyłącza się on, podobnie jak  $C_5$ , poprzez grupę 2'-OH).  $K_m$  w tym przypadku wynosi  $260 \mu\text{M}$  (ZAUG i CECH 1986).



Ryc. 3. Autokatalityczny splicing u *Tetrahymena thermophila* (wg HERSCHLAGA i CECHA 1990).

Innym typem rybozymów są rybozomy o kształcie „głowy młotka”. Do tego typu należą wiroidy, ulegające autokatalitycznemu splicingowi. Podczas replikacji RNA wiroida tworzą się długie, konkatameryczne nici złożone ze zwielokrotnionych, połączonych końcami genomów. Badacze tego procesu napotkali problem: jak konkatamery rozcinane są na poszczególne geny? Wiroidy nie kodują białek, a u roślin nie znaleziono enzymów, które byłyby w stanie rozciąć takie kompleksy (LONG i UHLENBECK 1993).

Dokładne badania pomogły ustalić przebieg procesu rozcinania RNA wiroidów. Proces ten polega na autokatalitycznym splicingu, a reakcja transestryfikacji niewiele różni się od opisywanych wcześniej. Podstawowa rozbieżność polega na tym, że u wiroidów na jednym końcu wycinanego fragmentu tworzy się 5'-OH, a na drugim cykliczny 2',3'-fosfodiester.

Badania mechanizmów tych reakcji umożliwiły znalezienie najkrótszej cząsteczki RNA zdolnej do aktywności katalitycznej.

Na podstawie sekwencji nukleotydowej RNA ustalono drugorzędową strukturę autokatalitycznej cząsteczki. Przyjmuje ona kształt przypominający „głowę młotka” (LONG i UHLENBECK 1993, ROLA i KUŹMA 2001). Autokatalityczny RNA typu „głowa młotka” zbudowany jest z trzech ramion odchodzących promieniście od środka składającego się z niesparowanych nukleotydów (Ryc. 4). Końce nici RNA w różnych wariantach tych cząsteczek wypadają w innym położeniu względem ramion (w rzeczywistości nigdy wszystkie ramiona nie kończą się ślepo, jak na zaprezentowanym schemacie, a „głowa młotka” przypada w rozmaitych miejscach nici) (MCKAY i współaut. 1994).

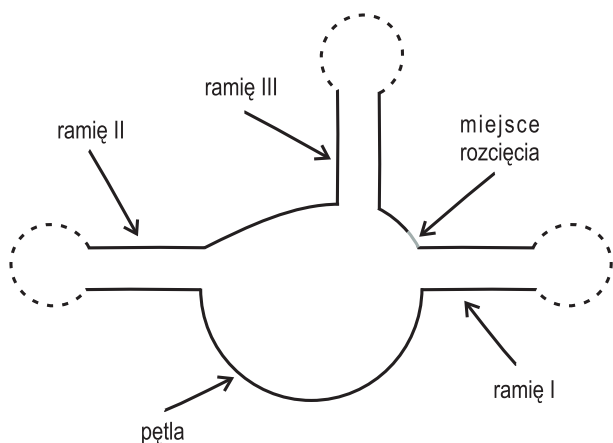
Zidentyfikowanie naturalnej struktury rybozomu typu „głowa młotka” skłoniło do poszukiwań najkrótszego możliwego autokatalitycznego RNA. Ostatecznie zsyntetyzowano cząsteczkę rybozomu tego typu zawierającą 43

nukleotydy. Jest ona utworzona z dwóch nici RNA, o długości 24 i 19 nukleotydów (Ryc. 5). Zgodnie z przewidywaniami dłuższa nić rozcinana jest w odpowiednim miejscu (po sekwencji 5'-GAA-3'). Centrum katalityczne tego rybozomu składa się z kilku nukleotydów nici 19-meru (5'-CUGAUGA-3') oraz kilku nukleotydów nici substratu (5'-GAAA-3') (KOSEKI i współaut. 1999).

Innym klasycznym przykładem funkcjonalnego rybozomu jest rybonukleaza P (ROBERTSON i współaut. 1972). Mechanizm jej



działania odkrył Sidney ALTMAN w 1983 r. (GUERIER-TAKADA i współaut. 1983). Rybonukleaza P ma znacznie bardziej skomplikowaną budowę niż opisane wcześniej rybozomy. Składa się nie tylko z RNA (łańcuch o długości 377 nukleotydów), który jest właściwym rybo-

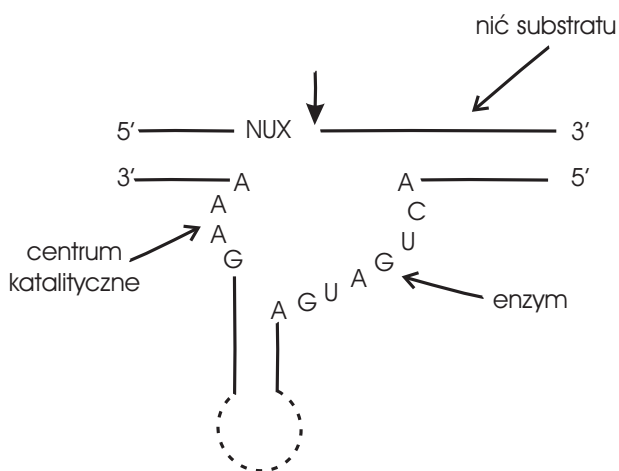


Ryc. 4. Schemat rybozomu o strukturze „głowy młotka”.

zymem, ale także z cząsteczki białka o masie od kilkunastu do kilkudziesięciu kDa. Aktywność enzymatyczną RNazy P warunkuje nie białko, lecz cząsteczka RNA (RNA M1). Rozpoznaje ona odpowiednie miejsca na nici pierwotnego transkryptu (cząsteczki tRNA) i rozcina je. W procesie tym niezbędna jest obecność jonów magnezu (NOMURA i IHIHAMA 1988). Przypuszcza się, że udział  $Mg^{2+}$  w tym przypadku nie jest niczym wyjątkowym, gdyż rybozomy często wykorzystują jony metali (CECH i współaut. 1992, COBALEDA i SANCHEZ-GARCIA 2001).

Mechanizm autokatalitycznego splicingu intronów grupy I i II wykazuje znaczne podobieństwa do mechanizmu splicingu katalizowanego przez spliceosomy, jaki występuje u

większości współczesnych organizmów. SHARP (1985) opisał prawdopodobny proces powstawania spliceosomów. Według niego, ewolucyjnie najstarszy jest autokatalityczny splicing intronów grupy I. Mechanizm splicingu intronów grupy II powstał najprawdopodobniej w wyniku modyfikacji intronów grupy I. Kluczowym etapem w ewolucji spliceosomów było przeniesienie właściwości katalitycznych z intronu na inne związki. Od tego momentu nie mamy już do czynienia ze splicingiem autokatalitycznym, lecz z katalizowanym



Ryc. 5. Sekwencja rybozomu o budowie „głowa młotka” (wg CHRISTOFFERSENA i MARRA 1995, KOSEKIEGO i współaut. 1999, ANTOSZCZYKA i NAWROTA 2003).

przez spliceosomy. Niezwykle istotne są biologiczne korzyści tej przemiany. Spliceosom może podlegać dużo dokładniejszej regulacji, co umożliwia precyzyjną kontrolę intensywności i wydajności splicingu.

## DNAZYMY

Odkrycie rybozymów stanowiło przełom w badaniach mechanizmu biokatalizy. Wkrótce po odkryciu autokatalitycznego splicingu u *Tetrahymena thermophila*, poszukiwania doprowadziły do zidentyfikowania katalitycznego RNA u wielu innych organizmów (TAYLOR i SAMSON 2002). Przeprowadzono też udane próby, zarówno chemicznej, jak i enzymatycznej syntezy rybozymów (SCHURER i współaut. 2002).

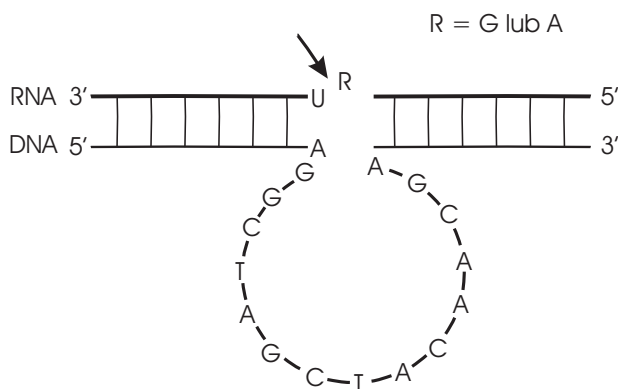
Przez wiele lat uważano, że spośród kwasów nukleinowych właściwości enzymatyczne może wykazywać tylko RNA. Przeciwstawiano go dużo mniej reaktywnemu, stabilnemu i biernemu DNA, który, jak sądzono, nie posiada zdolności katalizowania żadnego procesu (KNIGHT i LANDWEBER 2000). Za jedną z głównych przyczyn wykazywania przez RNA właściwości katalitycznych, a całkowitego ich braku u DNA, uważano obecność u tego pierw-

szego grupy hydroksylowej przy atomie węgla 2'. We wszystkich poznanych rybozymach grupa ta odgrywa kluczową rolę w hydrolizie/transstryfikacji wiązań P-O (NAWROT 2002). Ponieważ DNA nie posiada grupy 2'-OH, za naturalne przyjęto jego brak zdolności do katalizy tych reakcji. Przełomu w tej dziedzinie dokonał dopiero Gerald F. JOYCE. Odkrył on, że w specyficznych warunkach również DNA może być enzymem (BREAKER i JOYCE 1994). Odkryte przez niego DNazy rozcinają cząsteczkę RNA z dużo większą wydajnością niż rybozomy typu „hammerhead” i „hairpin” (NAWROT 2002).

DNazy (Ryc. 6) katalizują reakcje bez kluczowej dla rybozymów grupy 2'-OH. Podobnie jak w przypadku rybozymów, również dla aktywności DNazymów konieczna jest obecność kofaktorów. Przykładem może tu być hydroliza RNA przez DNazym, dla którego kofaktorem jest histydyna (ROTH i BREAKER 1998).

Rola DNazymów w przyrodzie jest prawdopodobnie niewielka. DNazy są dla badaczy wciąż interesujące głównie ze względu na specyficzne mechanizmy ich działania. Badania nad nimi pozwalają coraz lepiej poznawać ogólne mechanizmy katalizy biologicznej i rządzące nią prawa (SANTORO i JOYCE 1997).

Jedną z ciekawych perspektyw praktycznego wykorzystania DNazymów jest możliwość użycia syntetycznych DNA do katalizy reakcji, dla których nie ma naturalnych enzymów (NAWROT 2002). Kluczowe znaczenie w procesach prowadzących do powstania organizmów



Ryc. 6. DNazym „10-23” hydrolizujący RNA.

R – adenozyzna lub guanozyzna (wg SANTORO i JOYCE 1997).

żywych ciągle jednak przypisuje się rybozomom.

## ROLA AUTOKATALITYCZNYCH WŁAŚCIWOŚCI KWASÓW NUKLEINOWYCH W EWOLUCJI PREBIOTYCZNEJ

Odkrycie katalitycznych właściwości kwasów nukleinowych zrewolucjonizowało dotychczasowe poglądy na temat ewolucji prebiotycznej na Ziemi. Możliwość katalizowania przez cząsteczki RNA nie tylko własnych przemian, ale też reakcji zachodzących w innych cząsteczkach pozwoliła wysunąć hipotezę, iż pierwszą autoreplikującą się cząsteczką powstałą w procesie ewolucji chemicznej był właśnie RNA (BARTEL i UNRAU 1999, SCHIMMEL i KELLEY 2000, ORGEL 2003) lub jego pierwotne formy (KNIGHT i LANDWEBER 2000). Dało to podstawy sformułowania jednej z najpowszechniej obecnie przyjmowanych teorii biogenezy: hipotezy „świata RNA”. Według niej, występujący u większości współczesnych organizmów kierunek przepływu informacji genetycznej (DNA → RNA → białka) powstał w wyniku ewolucji wcześniejszych, znacznie prostszych układów opartych wyłącznie na RNA (GIBSON i LAMOND 1990, BARTEL i UNRAU

1999, SCHIMMEL i KELLEY 2000, JOYCE 2002, ORGEL 2003).

Niektóre cząsteczki RNA wchodzące w skład kompleksów rybonukleoproteinowych posiadają właściwości katalityczne. Przykładem może być rybosom 23S rRNA u bakterii *Escherichia coli*, katalizujący tworzenie wiązania peptydowego (NISSEN i współaut. 2000, ANTOSZCZYK i NAWROT 2003).

Katalitycznie aktywne są też małe snRNA wchodzące w skład spliceosomów. SnRNA U6 katalizuje reakcje cięcia na styku intronu z eks-onem (GUTHRIE 1991). Katalizować obróbkę rRNA i mRNA mogą też inne typy snRNA: U11, U7 i U3 (SIELIWANOWICZ 1988, DOUDNA i RATH 2002).

Hipotezę „świata RNA” (MAYR 2001, RIDDIHOUGH 2002, SHOPF 2002, TURNER 2002, STEITZ i MOORE 2003) potwierdza też fakt, że rybonukleotydy wchodzą w skład wielu związków kluczowych dla współczesnych szla-

ków metabolicznych: adenozynotrifosforanu, koenzymu A, dinukleotydu nikotynamidoadeninowego i dinukleotydu flawinoadeninowego.

Opierając się na dostępnych danych na temat katalitycznych właściwości kwasów nukleinowych opracowano następujący, hipotetyczny scenariusz przebiegu procesu biogenezy. Po ostygnięciu skorupy ziemskiej w licznych nowopowstałych zbiornikach wodnych zaczęły spontanicznie powstawać różnego typu cząsteczki organiczne, m.in. aminokwasy (MILLER i UREY 1959) oraz proste nukleotydy (DEAMER i FLEISCHAKER 1994). Pierwsze powstałe cząsteczki kwasu nukleinowego (RNA lub RNA-podobne) (KNIGHT i LANDWEBER 2000) uruchomiły procesy autoreplikacji (DOUDNA i CECH 2002). Na skutek oddziaływań między kwasami nukleinowymi a innymi cząsteczkami organicznymi, m.in. aminokwasami, uległy uruchomieniu pierwsze szlaki biochemiczne. Na tym etapie wszelkie procesy wciąż katalizowane były przez RNA. Powstały metabolosomy, struktury składające się z RNA organizującego przemiany innych cząstek mogących się z nim wiązać (GIBSON i LAMOND 1990). Obecne w środowisku wodnym lipidy samorzutnie organizowały się tworząc błony. Z błonami tymi mogły wiązać się metabolosomy. Pierwsze proste białka wbudowywały się w błony lipidowe tworząc zaczątki białek transportujących (GIBSON i LAMOND 1990).

Zamknięcie metabolosomów błoną lipidową z systemem umożliwiającym selektywny transport było przełomowym momentem ewolucji – od tego momentu możemy już mówić

o istnieniu komórki. Organizm taki różnił się znacznie od najprymitywniejszych współcześnie nam znanych; m.in. wszelkie przemiany metaboliczne w jego wnętrzu katalizowane były przez RNA, nie było zapewne ostatecznie ustalonego kodu genetycznego ani aktywnego transportu przez błony (GIBSON i LAMOND 1990). W wyniku ewolucji do budowy białek używane były coraz to nowe aminokwasy oraz pojawiły się białka o coraz bardziej skomplikowanej strukturze. Coraz większe i bardziej złożone białka zaczęły skuteczniej ochraniać RNA. Powstawały bardziej złożone kompleksy rybonukleoproteinowe. Dzięki temu, że ich budowa była dużo bardziej zróżnicowana niż samego RNA, stopniowo zaczęły zwiększać szybkość i specyficzność katalizowanych reakcji, z czasem całkowicie zastępując RNA w roli katalizatora (GIBSON i LAMOND 1990, DOUDNA i RATH 2002, JOYCE 2002). Rola nukleinowego składnika rybonukleoprotein uległa anizomnemu ograniczeniu, co w końcu doprowadziło do przejścia przez białka niemal wszystkich funkcji katalitycznych (GIBSON i LAMOND 1990). Współczesną pozostałością tamtego okresu jest prawdopodobnie fakt, że do dziś nukleotydy są kofaktorami wielu enzymów – zostały zepchnięte do tej roli przez coraz sprawniejsze katalityczne białka (BARTEL i UNRAU 1999, KNIGHT i LANDWEBER 2000, SCHIMMEL i KELLEY 2000, ORGEL 2003). Nastąpiło przeniesienie informacji genetycznej z RNA na DNA; ostatecznie ustabilizował się kod genetyczny (CRICK 1992, BARTEL i UNRAU 1999, KNIGHT i LANDWEBER 2000, SCHIMMEL i KELLEY 2000, ORGEL 2003).

## HYPOTETICAL ROLE OF AUTOCATALYTIC PROPERTIES OF NUCLEIC ACIDS IN BIOGENESIS

### S u m m a r y

Ribozymes are catalytic RNA molecules. In this article their various types and activities in contrasts with corresponding DNA molecules are briefly characterized. The revolutionary discovery of the autocatalytic properties of nucleic acids by the Nobel Prize winners, Sidney Altman, Thomas R. CECH and their co-workers,

led to the hypothesis of RNA world and to speculation on the role of RNA in the origin of life and the early stages of its evolution on Earth. The possible role of the autocatalytic properties of nucleic acids in prebiotic evolution is, therefore, discussed.

### LITERATURA

- ANTOSZCZYK S., NAWROT B., 2003. *Rybozomy w medycynie*. Biotech. 2, 140-152.
- BARTEL D. P., UNRAU P. J., 1999. *Constructing an RNA world*. Trends Cell Biol. 9, M9-M13.
- BEVILACQUA P. C., 2003. *Mechanistic considerations for general acid-base catalysis by RNA: revisiting the mechanism of the hairpin ribozyme*. Biochemistry 42, 2259-2265.
- BREAKER R. R., JOYCE G. F., 1994. *A DNA enzyme that cleaves RNA*. Chem. Biol. 1, 223-229.
- BURKE J. M., 2002. *Hairpin and hammerhead ribozymes: how different are they?* Biochem. Soc. Trans. 30, 1115-1118.

- CAIRNS-SMITH A. G., 1966. *The origin of life and the nature of the primitive gene*. J. Theor. Biol. 10, 53–88.
- CECH T. R., 2002. *Ribozymes, the first 20 years*. Biochem. Soc. Trans. 30, 1162–1166.
- CECH T. R., HERSCHLAG D., PICCIRILLI J. A., PYLE A. M., 1992. *RNA catalysis by a group I ribozyme. Developing a model for transition state stabilization*. J. Biol. Chem. 267, 17479–17482.
- CECH T. R., BASS B. Z., 1986. *Biological catalysis by RNA*. Annu. Rev. Biochem. 55, 599–629.
- CHACHULSKA A. M., 1992. *Ribozymes – catalytic RNA molecules*. Postępy Bioch. 38, 64–74.
- COBALEDA C., SANCHEZ-GARCIA I., 2001. RNase P: from biological function to biotechnological applications. Trends Biotech. 10, 406–411.
- CRICK F., 1992. *Istota i pochodzenie życia*. Państwowy Instytut Wydawniczy, Warszawa.
- DEAMER D.W., FLEISCHAKER G. R., 1994. *Origins of life – the central concepts*. Jones and Barlett, England, Boston.
- DOUDNA J. A., CECH T., 2002. *The chemical repertoire of natural ribozymes*. Nature 418, 222–228.
- DOUDNA J. A., RATH V. L., 2002. *Structure and function of the eukaryotic ribosome: the next frontier*. Cell 109, 153–156.
- EMILSSON G. M., NAKAMURA S., ROTH A., BREAKER R. R., 2003. *Ribozyme speed limits*. RNA. 9, 907–918.
- GIBSON T. J., LAMOND A., 1990. *Metabolic complexity in the RNA world and implications for the origin of protein synthesis*. J. Mol. Evol. 30, 7–15.
- GUTHRIE C., 1991. *Messenger RNA splicing in yeast: clues to why the spliceosome is a ribonucleoprotein*. Science 253, 157–163.
- GUERIER-TAKADA C., GARDINER K., MARSH T., PACE N., ALTMAN S., 1983. *The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme*. Cell 35, 849–857.
- HAMPEL A., COWAN J. A., 1997. *A unique mechanism for RNA catalysis: the role of metal cofactors in hairpin ribozyme cleavage*. Chem. Biol. 4, 513–517.
- HERSCHLAG D., CECH T. R., 1990. *Catalysis of RNA cleavage by the Tetrahymena thermophila ribozyme. 2. Kinetic description of the reaction of an RNA substrate that forms a mismatch at the active site*. Biochemistry 29, 10172–10180.
- HÜBER C., WÄCHTERSCHÄUSER G., 1998. *Peptides by activation of amino acids with CO on (Ni,Fe)S surfaces: implications for the origin of life*. Science 281, 670–672.
- JOYCE G. F., 2002. *The antiquity of RNA-based evolution*. Nature 418, 214–221.
- KNIGHT R. D., LANDWEBER L.F., 2000. *The early evolution of the genetic code*. Cell 101, 569–572.
- KOSEKI S., TANABE T., TANI K., ASANO S., SHIODA T., NAGAI Y., SHIMADA T., OHKAWA J., TAIRA K., 1999. *Factors governing the activity in vivo of ribozymes transcribed by RNA polymerase III*. J. Virology 73, 1868–1877.
- KRUGER K., GRABOWSKI P. J., ZAUG A. J., SAND J., GOTTSCHLING D. E., CECH T. R., 1982. *Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena*. Cell 31, 147–157.
- LONG D. M., UHLENBECK O. C., 1993. *Self-cleaving catalytic RNA*. FASEB J. 7, 25–30.
- MARKLEY J. C., GODDE F., SIGURDSSON S. T., 2001. *Identification and characterization of a divalent metal ion-dependent cleavage site in the hammerhead ribozyme*. Biochemistry 40, 13849–13856.
- MAYR E., 2001. *What Evolution is?* Basic Books, New York.
- MCKAY D. B., FLAHERTY K. M., PLEY H. W., 1994. *Three-dimensional structure of a hammerhead ribozyme*. Nature 372, 68–74.
- MILLER S. L., UREY H. C., 1959. *Organic compound synthesis on the primitive earth*. Science 130, 249–255.
- MILLER S. L., SSCOPF J. W., LAZCANO A., 1997. *Oparin's "Origin of Life": sixty years later*. J Mol Evol 44: 351–353.
- NAWROT B., 2002. *Catalytic DNA - deoxyribozymes*. Postępy Biochem. 48, 20–33.
- NISSEN P., HANSEN J., BAN N., MOORE P. B., STEITZ T. A., 2000. *The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis*. Science 289, 920–930.
- NOMURA T., IHIHAMA A., 1988. *A novel function of RNase P from Escherichia coli: processing of a suppressor tRNA precursor*. EMBO J. 11, 3539–3545.
- OHNISHI K., HOKARI S., SHUTOU H., OHSHIMA M., FURUICHI N., GODA M., 2002. *Origin of most primitive mRNAs and genetic codes via interactions between primitive tRNA ribozymes*. Genome Inform. Ser. Workshop Genome Inform. 13, 71–81.
- ORGEL L. E., 2003. *Some consequences of the RNA world hypothesis*. Orig. Life Evol. Biosph. 33, 211–218.
- RIDDIHUGH G., 2002. *The other RNA world (in introduction to special issue)*. Science 296, 1259.
- ROBERTSON H. D., ALTMAN S., SMITH J. D., 1972. *Purification and properties of a specific Escherichia coli ribonuclease which cleaves a tyrosine transfer ribonucleic acid precursor*. J. Biol. Chem. 247, 5243–5251.
- ROLA M., KUŹMA J., 2001. *Use of hammerhead ribozymes as antiviral tools*. Postępy Biochem. 47, 282–291.
- ROTH A., BREAKER R. R., 1998. *An amino acid as a cofactor for a catalytic polynucleotide*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 6027–6031.
- SADOWSKA J., 1992. *Ribonuclease P - an example of catalytic RNA activity*. Postępy Biochem 38: 112–122.
- SANTORO S. W., JOYCE G. F., 1997. *A general purpose RNA-cleaving DNA enzyme*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 4262–4266.
- SCHIMMEL P., KELLEY S. O., 2000. *Exiting an RNA world*. Nat. Struct. Biol. 7, 5–7.
- SCHURER H., LANG K., SCHUSTER J., MORL M., 2002. *A universal method to produce in vitro transcripts with homogeneous 3' ends*. Nucleic Acids Res. 30, e56.
- SIELIWANOWICZ B., 1988. *Splicing of nuclear messenger RNA precursors*. Postępy Biochem. 34, 351–360.
- SHARP P. A., 1985. *On the origin of RNA splicing and introns*. Cell 42, 397–400.



- SHOPF J. W., 2002. *Kolebka życia: O narodzinach i najstarszych śladach życia na Ziemi*. PWN, Warszawa.
- STEITZ T. A., STEITZ J. A., 1993. *A general two-metal-ion mechanism for catalytic RNA*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 6498-6502.
- STEITZ T. A., MOORE P. B., 2003. *RNA, the first macromolecular catalyst: the ribosome is a ribozyme*. Trends Biochem. Sci. 28, 411-418.
- TAYLOR M. M., SAMSON W. K., 2002. *Ribozyme compromise of adrenomedullin mRNA reveals a physiological role in the regulation of water intake*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 282, R1739-R1745.
- TURNER R., 2002. *RNA (Nature insight)*. Nature 418, 213.
- ZAUG A. S., CECH T. R., 1986. *The interesting sequence RNA of Tetrahymena is an enzyme*. Science 23, 470-475.