

**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

RNA – PRAMOLEKULA ŽIVOTA

RNA ORIGIN OF LIFE

SEMINARSKI RAD

Majda Bratovi  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)  
Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Kalafati

Zagreb, 2010

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	2
2. PREBIOTI KA SINTEZA PRAMOLEKULE ŽIVOTA.....	3
3. RNA SVIJET.....	6
4. RIBOZIMI.....	9
5. ZAKLJU AK.....	13
6. LITERATURA.....	14
7. SAŽETAK.....	15
8. SUMMARY.....	16

## 1. UVOD

Sav život na Zemlji kakav danas postoji i sav život za koji postoje geološki dokazi temelji se na DNA genomu i proteinskim enzimima. Međutim mnogi su razlozi za zaključak da je današnjem životu prethodio jednostavniji oblik života temeljen na molekuli RNA. To razdoblje u prošlosti se naziva RNA svijet, a teoriju o RNA svijetu postavio je Walter Gilbert 1986. godine. U RNA svijetu genetička informacija bila je pohranjena u molekuli RNA koja je ujedno imala i sposobnost katalize [6]. Molekulu koja ima ta dva osnovna svojstva možemo smatrati pramolekulom života.

Molekula RNA i danas u biologiji ima vrlo važnu ulogu, ponajprije u osnovnim i evolucijski važnim staničnim procesima. Služi kao glasnik molekula (mRNA) koja sudjeluje u prijenosu genetičke informacije od jednog ili više gena do ribosoma, gdje se sintetiziraju odgovarajući proteini. Sastavni je dio ribosoma (rRNA) te «čita» informaciju kodiranu u glasniku kojim RNA prenosi odgovarajuću aminokiselinu na rastu i polipeptidni lanac tijekom sinteze proteina (tRNA) [5]. U replikaciji DNA služi kao pomoćnica, uključena je u posttranskripcijsku doradu primarnih transkripata i sudjeluje u regulaciji ekspresije gena.

Iako je RNA svijet vjerojatno nestao prije gotovo četiri milijuna godina, ostatci iz tog razdoblja prisutni su u današnjem svijetu. Najbolji primjer je već spomenuta, važna uloga RNA molekule u sintezi proteina.

U pokusima *in vitro* evolucije RNA (modeli evolucije molekule RNA u RNA svijetu) dobiveni su mnogi novi RNA enzimi odnosno ribozimi.

Čini se vrlo vjerojatnim da je pramolekula života bila upravo RNA molekula, no ostaju brojna pitanja oko razvitka RNA svijeta i njegove kompleksnosti, te prijelaska u današnji svijet s DNA genomima i proteinskim enzimima.

## 2. PREBIOTI KA SINTEZA PRAMOLEKULE ŽIVOTA

Ribonukleinska kiselina je polimer ribonukleotida koji se sastoji od dušične baze (purinske ili primidinske), šećera riboze i fosfatne skupine. Ako su građevni blokovi RNA bili prisutni u prebiotima u okolišu, i ako su od njih sastavljeni polinukleotidi, te su se neki od polinukleotida mogli replicirati, RNA svijet je mogao biti prvi živi svijet na Zemlji.

Međutim, s obzirom na današnja saznanja iz prebiotičke kemije, malo je vjerojatno da je to bio slučaj [4]. Moguće je da su riboza, fosfat, purini i primidini bili dostupni za nastanak nukleotida, ali postoji mnogo načina na koji se mogu kombinirati da bi nastali nukleotidi. Također bi nastali mnogi analozi nukleotida te bi prinos samih nukleotida vjerojatno bio vrlo mali. Nukleotidi (i njihovi analozi) bi se mogli i polimerizirati, te bi nastali polimeri imali različite brojeve fosfatnih skupina koje povezuju šećere, kombinacije 2',5'-, 3',5'- i 5',5'- fosfodiesterskih veza, D- i L- stereoizomere šećera, i - i - anomere glikozidne veze te različite modifikacije šećera, fosfata i baze.

Teško je pretpostaviti mehanizam replikacije koji bi funkcionirao bez obzira na tolike strukturne različitosti, i kojem bi takve sekvence predstavljale genetičku informaciju.

Riboza je vrlo nestabilan šećer [1], a reakcijom sinteze riboze iz formaldehida u laboratorijskim uvjetima nastane kompleksna smjesa različitih šećera u kojoj je riboza u malom udjelu, pri većini uvjeta reakcije. Sintaza purinskih nukleozida direktno iz riboze i dušične baze nije efikasna, dok jedina prebiotička sintaza primidinskih nukleozida kreće od molekule arabinoze-3-fosfata, za koju je malo vjerojatno da je postojala u prebiotima u okolišu. Moguće je da su postojali posebni prebiotički uvjeti koji su doveli do preferentne sinteze aktiviranih -D-nukleotida ili preferentne polimerizacije takvih monomera [4].

Reakcija polimerizacije je termodinamički nepovoljna, te su stoga anorganski katalizatori predloženi kao moguće rješenje za neenzimsku sintezu i polimerizaciju nukleotida. Selektivnom adsorpcijom monomera na površine minerala kao npr. montmorilonita moglo je doći do ubrzavanja reakcije polimerizacije monomera i nastanka dovoljno dugih polimera za obavljanje katalitičke i replikacijske funkcije. Smatra se da su za to potrebni polimeri sastavljeni od najmanje 20 do 100 monomera [1].

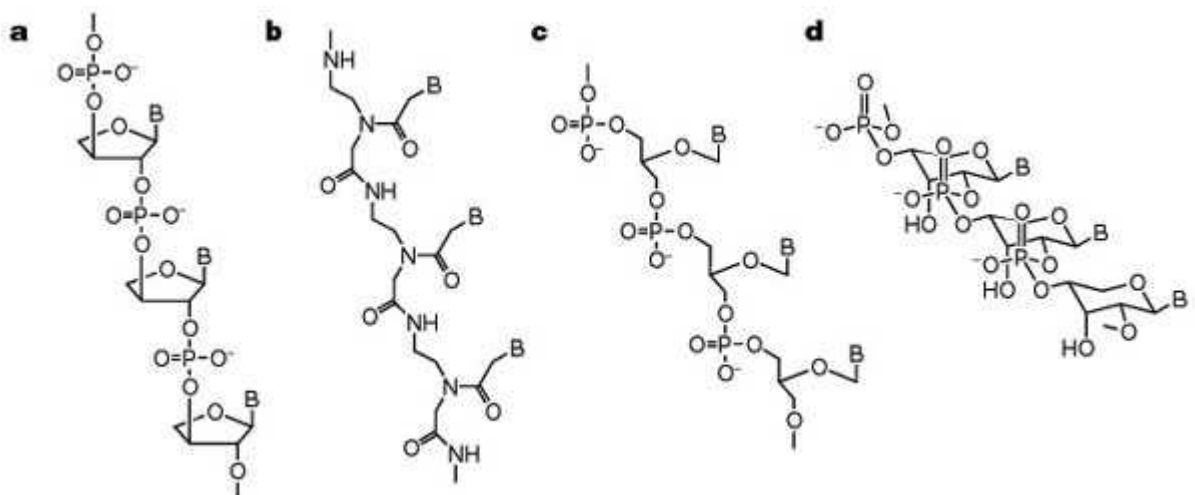
Na primjer, prebiotička sintaza šećera iz formaldehida može se modificirati krećući od glikoaldehid fosfata, te kao dominantni produkt nastaje riboza 2,4-difosfat. Reakcija se može odvijati u razrijeđenim vodenim otopinama reaktanata pri pH vrijednosti blizu neutralne s određenim metalnim hidroksidima kao katalizatorima [4].

Ipak je malo vjerojatno da je RNA molekula sposobna za replikaciju i katalizu nastala spontano, te su stoga predložene druge molekule kao mogu i prekursori RNA molekule odnosno postojanje pre-RNA svijeta. Posljednjih godina vršena su istraživanja potencijalnih prirodnih analoga nukleinskih kiselina koji su mogli prethoditi molekuli RNA.

Peptid nukleinska kiselina (PNA) sastoji se od okosnice nalik peptidu, odnosno povezanih derivata aminokiselina, *N*-(2-aminoetil)glicina na koje su vezane duši ne baze preko metilenkarbonilne skupine (Slika 1.). Aminoetilglicin je sintetiziran u reakcijama elektri nog izbivanja iz amonijaka, dušika, metana i vode. Prebiotska sinteza PNA monomera do danas nije uspjela.

Molekula PNA se Watson-Crickovim sparivanjem baza može povezati s komplementarnim lancem PNA ili RNA, tvore i tako dupleks u vodenoj otopini [4, 6]. Podložna je intramolekulskoj reakciji prijenosa *N*-acilne skupine što sprije ava konvencionalne mehanizme polimerizacije [4].

Treozna nukleinska kiselina (TNA) sastoji se od -l-treofuranoza povezanih 3',2'-fosfodieterskom vezom (Slika 1.). I ova molekula se Watson-Crickovim sparivanjem baza može povezati s komplementarnim lancem ili stvoriti stabilan heterodupleks s molekulom RNA. Treozna je jedna od dviju aldotetroza i može se povezivati samo na 2' i 3' pozicijama, te je zbog te jednostavne strukture njena sinteza lakša od sinteze standardnih nukleotida [4,6]. Pretpostavljen je i mogu i put kojim je došlo do prijelaza iz TNA-svijeta u RNA-svijet bez gubitka kontinuiteta geneti ke informacije [4].



**Slika 1.** Mogu i prethodnici molekule RNA; **a**, treozna nukleinska kiselina (TNA); **b**, peptid nukleinska kiselina (PNA); **c**, analog nukleinske kiseline dobiven iz glicerola; **d**, piranozil-RNA [4]

Kao mogu i prethodnici molekule RNA predloženi su i analozi nukleinskih kiselina dobiveni iz glicerola te piranozil-RNA koja sadrži -D-ribopiranozilne jedinice povezane 4',2' vezom (Slika 1.) iako nema dovoljno eksperimentalnih dokaza u prilog tim kandidatima [4]. Moguće je da je životu baziranom na RNA molekuli prethodio polimer koji bio nalik nukleinskim kiselinama a mogao se replicirati i evoluirati.

Na in prijelaza s molekule koja je prethodila RNA molekuli na RNA molekulu ovisio je o tome da li je ta molekula bila slična nukleinskoj kiselini ili ne. Ako se ta molekula mogla sparivati s RNA molekulom, genetička informacija je mogla biti očitavana «transkripcijom» pre-RNA u RNA. RNA bi dobila sposobnost replikacije a time i selektivnu prednost nad pre-RNA molekulom, i preuzela bi ulogu nosioca genetičke informacije.

Katalitički potencijal PNA, TNA i ostalih predloženih molekula prethodnica RNA još uvijek nije istražen ali svaka hipoteza o pre-RNA životu trebala bi razmotriti mogućnost da li je prvotni genetički sustav mogao ubrzati pojavu molekule RNA [4].

### 3. RNA SVIJET

Ideje koje su poslužile kao temelj za teoriju o RNA svijetu javile su se kasnih šezdesetih godina. Tada je bilo poznato da se replikacija nukleinskih kiselina odvija pomoću proteinskih enzima, te da su za sintezu proteina potrebne nukleinske kiseline. Pojavilo se pitanje što se razvilo prije, proteini ili nukleinske kiseline, odnosno metabolizam ili geni? Na problem se može gledati kao problem «kokoši ili jajeta». Kako bi se problem riješio, trebalo je dokazati da li su proteini ili nukleinske kiseline pogodniji za samostalan repliciraju i sustav. Nukleinske kiseline su se činile kao najlogičnije rješenje. Polinukleotidna sekvenca je mogla poslužiti kao kalup za sintezu komplementarnog lanca od mononukleotida ili kratkih oligonukleotida, na osnovi Watson-Crickovog sparivanja baza.

Za replikaciju polipeptida nije bio poznat ekvivalentan mehanizam. Autori triju lanaca (Woese, 1967; Crick, 1968; Orgel, 1968) pretpostavili su da bi postojanje samostalnog organizma s RNA genomom bilo moguće jedino ako bi RNA preuzela funkcije koje su prethodno obavljali proteini, kao na primjer funkciju RNA polimeraza i nukleaza. Započelo je istraživanje neenzimatske replikacije sekvenci nukleinskih kiselina (Sulston *et al.*, 1968). Također je pretpostavljeno da su koenzimi koji imaju nukleotide u svojoj strukturi ostatci vremena kada je RNA funkcionirala bez pomoći proteina (Woese, 1967; Orgel, 1968; Orgel&Sulston, 1971) i ta je ideja dalje razvijana (White, 1976). Pretpostavljeno je i da je prvotni (originalni) ribosom bio sastavljen isključivo od molekule RNA (Crick, 1968) [6].

Za stvaranje teorije o RNA svijetu ključno je bilo otkriće ribozima, katalitičkih RNA molekula, do kojeg su neovisno došla dva znanstvenika, Cech i Altman. Za to otkriće 1989. godine dodijeljena im je Nobelova nagrada.

Walter Gilbert je 1986. postavio teoriju o RNA svijetu, koji je prethodio današnjem, DNA/protein svijetu. Teorija predlaže razvitak današnjih oblika života s DNA genomom iz jednostavnijih oblika baziranih na RNA genomu.

Molekula RNA sadržava nasljednu informaciju i istovremeno ima katalitičku sposobnost, što je čini vrlo vjerojatnom pramolekulom života. Centralni proces u RNA svijetu bila je replikacija RNA genoma, no neki oblik metabolizma je morao podržavati taj proces [4]. Laboratorijski pokusi evolucije *in vitro* pokazali su da katalitičke RNA odnosno ribozimi mogu katalizirati brojne važne biokemijske procese, uključujući i neke korake sinteze nukleotida. RNA svijet mogao je sadržavati mnogo katalitičkih RNA molekula koje su možda skladno funkcionirale [1]. Moguće je i da su sve reakcije u današnjem osnovnom metabolizmu nekada bile katalizirane ribozimima [4].

Razvitak sinteze proteina i inkapsulacija replicirajućeg sustava su se vjerojatno desili u RNA svijetu. U prilog ovoj pretpostavci govori činjenica da ribozimi mogu katalizirati četiri osnovne reakcije uključene u biosintezu proteina. Ako je ona to na, primitivni genetički kod također ima porijeklo u RNA svijetu [1].

RNA svijet pojavio se na Zemlji vjerojatno prije 4.2 milijuna godina i trajao je do prije 3.6 milijuna godina [1]. Može se podijeliti u dva vremenska razdoblja: razdoblje prije razvitka sinteze proteina odnosno ribozimskog pretka današnjih ribosoma, te razdoblje nakon razvitka sinteze proteina, koje se često naziva ribonukleoproteinski svijet (RNP svijet) [3].

Molekula RNA ima nekoliko karakteristika koje je čine pogodnom za jednostavan sustav podložan darvinističkoj evoluciji. Sadrži samo četiri različite građevne jedinice, odnosno četiri različita nukleotida, s vrlo sličnim kemijskim svojstvima; njezine građevne jedinice se lako polimeriziraju kada su aktivirane i vezane na komplementarni lanac; molekula je polianion i lako se otapa u vodi. Može stvarati jednostavne sekundarne strukture podložne varijaciji zbog mutacija. Sve te karakteristike čine je manje sofisticiranom u odnosu na DNA i proteine [4].

RNA molekula je vrlo nestabilna što je moglo biti ograničavajuće u RNA svijetu i ukazuje na to da je bila vrlo efikasna u samoreplikaciji kako bi bilo dovoljno molekula potrebnih za opstanak. Nestabilnost RNA je mogao biti glavni uzrok prelaska na DNA/protein svijet [1].

Polimerizacija DNA molekula pomoću kalupa teža je od polimerizacije RNA jer je 3' OH skupina molekule DNA znatno manje kiselosti u odnosu na 3' OH skupinu RNA. Ipak, ribozimi mogu deprotonirati 3' OH skupinu DNA što omogućuje nukleofilni napad na fosfat kako bi se stvorila 3',5'-fosfodieterska veza. Ribozim bi mogao funkcionirati kao DNA polimeraza, i takva molekula bi se mogla pojaviti u prirodi ili laboratoriju kao evolucijski potomak ribozima RNA polimeraze.

Na molekulu DNA možemo gledati kao na modificirani oblik RNA. Ribozin je normalan šećer (ne deoksiriboza) a timin je 5-metil-uracil.

Postavlja se pitanje da li je moguće da je transformacija RNA molekule u DNA molekulu bila katalizirana ribozimom. U današnjim stanicama DNA se sintetizira iz RNA prekursora, ribonukleotida (rNTP-ova), koji se pretvaraju u DNA prekursore, deoksiribonukleotide (dNTP-ove). Ribonukleotid reduktaze kataliziraju pretvaranje rNTP-ova u dNTP-ove, dok timidilat sintaze kataliziraju metilaciju dUMP-a odnosno nastanak dTMP-a. Enzimi koji prepisuju RNA u DNA (reverzna transkriptaza) vjerojatno su potomci onih koji su sudjelovali u prijelasku RNA svijeta u DNA/protein svijet. Najbitnija reakcija u tom



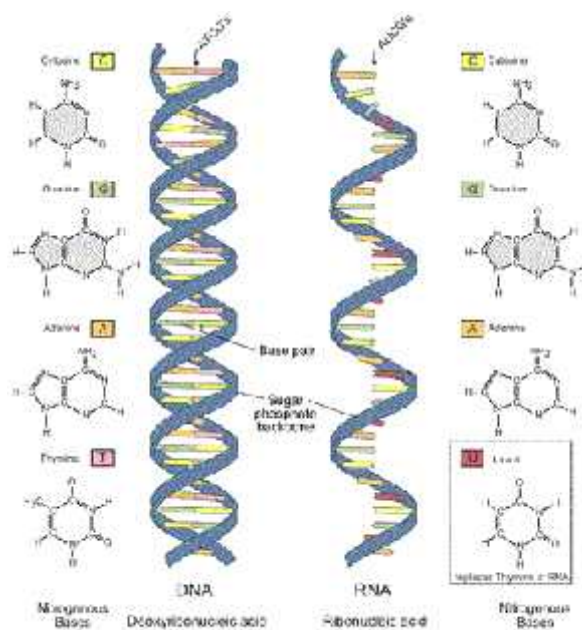
procesu, s kemijskog stajališta (vi enja), je redukcija riboze u deoksiribozu ribonukleotid reduktazama [3].

Enzim ribonukleotid reduktaza je ve inom dimer, koristi razli ite kofaktore, do sada su otkrivene etiri skupine a mehanizam reakcije ide preko stvaranja slobodnih radikala [5]. Pretpostavlja se da takvu reakciju nije mogla katalizirati RNA molekula, prvenstveno zato jer bi bila preosjetljiva na prisutnost radikala. Ako je pretpostavka to na, RNA molekula je modificirana u DNA molekulu pomo u proteinskih enzima [3].

Dakle, informacija u RNA mogla se reverzno transkribirati u DNA i kao posljedica molekula DNA je preuzela ulogu geneti kog materijala [4]. To se moglo dogoditi u dva koraka: prvo je nastala U-DNA a zatim T-DNA. Neki bakterijski virusi imaju U-DNA genome te bi oni mogli biti relikti tog razdoblja [3].

Molekula DNA može stvarati dulje oligomere što omogu uje ve i kapacitet pohrane informacije. Manje je reaktivna od molekule RNA, odnosno stabilnija je što je ini boljim izborom za geneti ki materijal.

Proteinski enzimi, sastavljeni od dvadeset aminokiselina, mogu se sastojati od više podjedinica te imaju ve u kemijsku razli itost od molekule RNA, što ih ini boljim izborom za obavljanje kataliti ke funkcije [4]. Me utim, RNA se zadržala u današnjem DNA/protein svijetu, te i dalje obavlja vrlo važne uloge u živim organizmima.

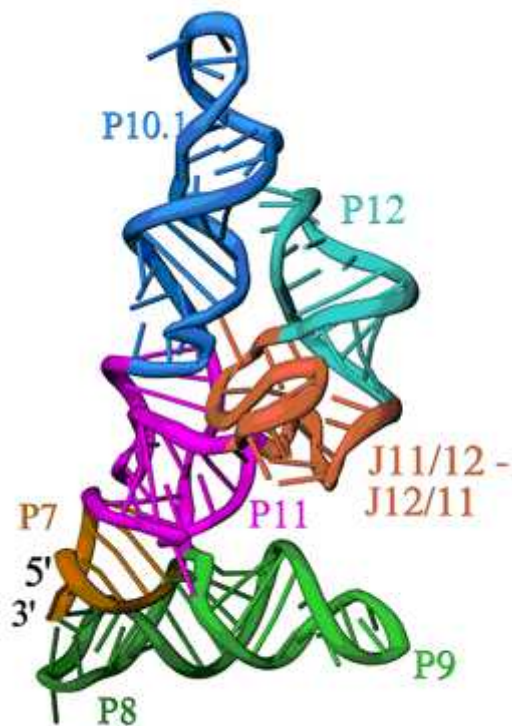


**Slika 4.** Strukture deoksiribonukleinske (DNA) i ribonukleinske kiseline (RNA) [8]

## 4. RIBOZIMI

U današnjim stanicama, većina enzima su proteini, no otkriće vrlo velikog broja prirodnih ribozima i važnosti reakcija koje kataliziraju, dalo je podršku vjerodostojnosti ideje o RNA svijetu i o nukleinskim kiselinama kao prvim biokatalizatorima [7]. Otkriće Altmana i Cecha da molekula RNA može biti biokatalizator odnosno enzim bilo je iznenađujuće u to doba. Prema centralnoj dogmi, nukleinske kiseline su bile nosioci genetičke informacije dok su proteini bili funkcionalne molekule i biokatalizatori.

Tijekom sedamdesetih godina, Altman i Cech su nezavisno istraživali na koji način se genetički kod iz DNA prepisuje u molekulu RNA. Altman je 1978. proučavao enzim iz bakterije *Escherichia coli* koji je mogao cijepati RNA. Taj enzim, ribonukleaza P, sastoji se od proteina i RNA molekule koje čine kompleks (Slika 2.). Kada su Altman i njegovi suradnici razdvojili protein od nukleinske kiseline, enzim više nije bio funkcionalan. Međutim, enzimsku aktivnost se mogla ponovo uspostaviti kada bi se dvije komponente enzima ponovo spojile. Tada je prvi put pokazano da je RNA molekula potrebna za katalitičku reakciju. Tek pet godina kasnije, Altman je dokazao da RNA molekula ima sposobnost samoizrezivanja.



Slika 2. Ribonukleaza P [10]

Thomas Cech je istraživao isijecanje introna i sljepljivanje eksona kod vrste *Tetrahymena thermophila*. Otkrio je da kada se u reakcijsku smjesu stavi samo RNA molekula, bez proteina, i dalje dolazi do isijecanja i sljepljivanja, odnosno RNA molekula sama katalizira tu reakciju. Godine 1982. Cech je prvi pokazao da RNA molekule mogu imati katalitičku funkciju i nazvao ih je ribozimima (ribonucleic acid enzyme) [9].

Prirodni ribozimi kataliziraju reakcije cijepanja ili ligacije fosfodiesterske okosnice molekule RNA. Ribosom s peptidil transferaznom aktivnošću u predstavlja jedinu iznimku i razlikuje se od ostalih ribozima. Otkriveno je da je ribosom također ribozim vjerojatno je najviše doprinijelo hipotezi o RNA svijetu.

Ribozimi mogu katalizirati prijenos fosfatne skupine putem dviju različitih vrsti kemijskih reakcija, koje se razlikuju po svojim produktima. Na osnovu toga, prirodni se ribozimi mogu podijeliti u dvije skupine: 1) samo-izrezujuće RNA («self-cleaving RNAs»), koje uključuju «hammerhead», «hairpin», hepatitis delta virus (HDV), «Varkud satelite» (VS) i «*glmS*» ribozime i 2) samo-prekrajajuće ribozimi («self-splicing ribozymes») koji uključuju introne grupe I i II, group-I-like cleavage ribozyme (GIR1 branching ribozyme) i ribonukleazu (RNazu) P.

Samo-izrezujuće ribozimi kataliziraju reakciju reverzibilnog cijepanja fosfodiesterske veze, kojom nastaje 5'-OH skupina i 2'-3'-ciklička fosfatna skupina.

Uključeni su u replikaciju RNA genoma koji ih kodira. Svaki od navedenih ribozima ove skupine koristi različiti mehanizam katalize te ima drugičiju sekundarnu i tercijskarnu strukturu. Samo-prekrajajuće ribozimi kataliziraju reakcije cijepanja i nastanka fosfodiesterske veze, kojima nastaje 5'-fosfatna skupina i 3'-OH skupina.

Ribozimi sisavaca su još jedna skupina ribozima, no svrstavaju se odvojeno zbog osobitih karakteristika i jer ih nalazimo samo kod sisavaca. Skupina uključuje HDV ribozim i dva nedavno otkrivena ribozima: CoTC («co-transcriptional cleavage») ribozim i CPEB3 («cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 3») ribozim.

Za hipotezu o RNA svijetu posebno je važan *glmS* ribozim, koji cijepa mRNA *glmS* gena u mnogim Gram-pozitivnim bakterijama, zato što je ujedno i «riboswitch» odnosno dio molekule mRNA koji može neposredno (direktno) vezati ciljnu malu molekulu i na taj način regulirati vlastitu ekspresiju. Ovaj ribozim koristi molekulu glukozamin-6-fosfata kao kofaktor, što je nestaj kod proteinskih enzima.

Aptamerne domene (oligonukleotidi ili peptidne molekule koje vežu specifične molekule kao mete) riboswitch-eva su evolucijski vrlo otkrivane u svim živim stanicama. U RNA svijetu mogli su postojati ribozimi koji su regulirali vlastitu aktivnost, odnosno ujedno

su bili i riboswitch-evi. Takve molekule mogu se smatrati preostalim predstavnicima (reliktima) metabolizma koji je postojao u ranom RNA svijetu.

Introni grupe I koriste mehanizam prekrajanja ekvivalentan onome koji koriste sve poznate DNA i RNA polimeraze što upućuje na to da je prvotna replikacija u RNA svijetu mogla biti katalizirana ribozimima srodnim današnjim intronima grupe I. To bi mogao biti primjer konvergentne evolucije.

RNaza P se razlikuje od ostalih ribonukleaza po tome što je ujedno i ribozim. Bila je me u prvim otkrivenim ribozimima, esencijalna je za posttranskripcijsku doradu tRNA molekula i prisutna je u velikom broju u stanicama, kao i ribosomi. S obzirom da je ribonukleoprotein, odnosno ima i proteinsku i RNA podjedinicu, i da je nalazimo u sve tri domene živoga svijeta (arheobakterije, bakterije, eukarioti), pogodna je za proučavanje evolucije molekule RNA i mehanizama prijelaza od ribozima do proteinskih enzima. Bakterijske RNaze P (te neke arheobakterijske) su efikasni katalizatori *in vitro* i bez proteinske podjedinice enzima, dok eukariotske RNaze P i veina arheobakterijskih za katalitičku aktivnost trebaju proteinsku podjedinicu [7].

Proces kojim su mogli nastati katalizatori može se ponoviti u laboratorijskim uvjetima [1].

Osnovna metodologija koja se koristi za razvitak ribozima sa željenim aktivnostima je *in vitro* selekcija. Tehnika SELEX (systematic evolution of ligands by exponential amplification) koristi velike populacije nasumičnih RNA ili DNA sekvenci kao materijal za selekciju rijetkih funkcionalnih molekula, oponašaju i Darwinovu evoluciju ribozima koja se mogla odvijati u RNA svijetu [7].

Pokusi *in vitro* selekcije pokazuju da iz nasumičnih sekvenci nukleotida mogu nastati funkcionalne nukleinske kiseline. Takve jednostavne sekvence i strukturni motivi mogu biti uključeni u vezanje liganda i katalizi, što ukazuje da je razvitak od najranijih samoreplicirajućih molekula do metabolizma u kojem je RNA molekula katalizator, možda bio moguć [1].

Zbog različitosti aptamera i ribozima koji se mogu selekcionirati u tim pokusima moguće je konstruirati «fosilni zapis» evolucije RNA svijeta gdje zamjenu molekulama iz prošlosti predstavljaju *in vitro* selekcionirani katalizatori. Na taj način moguće je zamisliti vjerojatan put od jednostavnih oligonukleotidnih samoreplicirajućih molekula do genomskih polimeraza, kao i put od osnovnih ribozimskih aktivnosti do ribosoma. Što je najvažnije, pokusi *in vitro* selekcije daju vjerojatnost da se taj scenario zaista odvijao u RNA svijetu.

Jednostavne molekule sa sposobnošću u vezanja liganda i katalizatori mogli su razviti drugačiju strukturu i funkciju.

S porastom duljine replicirajućih sekvenci, mogle su biti dobivene nove, kompleksnije funkcije i brža katalitička aktivnost. Povećanjem broja, vrsta i duljine ribozima, razvili bi se RNA genomi, odnosno samoreplikacija bi dovela do nastanka života [1].

Pretpostavljaju i da je RNA svijet prethodio nastanku translacije i evoluciji moderne stanice, u kojoj su proteini funkcionalni biopolimeri, i vjerojatno da su ga činili brojni katalizatori i metabolički putevi koji su prethodili ili oponašali puteve koje danas nalazimo u modernom metabolizmu.

Aptameri obično vežu ciljane molekule s nanomolarnim do mikromolarnim vrijednostima konstante disocijacije, slično kao i mnogi proteinski ligandi i katalizatori koje nalazimo u prirodi. Vjerojatno su se vezna mjesta molekula za ligand razvila u RNA svijetu, te su funkcionirala na način sličan današnjem.

RNA kataliza, odnosno RNA-katalizirana replikacija molekule RNA, ključna je za ideje o načinu na koji je život na Zemlji mogao evoluirati do današnje kompleksnosti. S obzirom da nema poznatih prirodnih RNA replikaza, provedeni su pokusi *in vitro* selekcije kako bi se pronašli ribozimi sposobni za replikaciju.

RNA ligaze su prvi izolirani ribozimi u pokusima *in vitro* selekcije. Kataliziraju nukleofilni napad 3' hidroksilne skupine na 5' trifosfat drugog RNA oligonukleotida, mehanizam je identičan onome koji koriste moderne RNA-ovisne RNA polimeraze.

Do sada su selekcionirani ribozimi ligaze, alkil transferaze, kinaze, fosfataze, esteraze te ribozimi koji mogu katalizirati nastanak veze između dva ugljikova atoma. Pokazano je da ti ribozimi kataliziraju mnoge osnovne reakcije današnjeg, modernog metabolizma, što ukazuje da su takvi ribozimi također mogli postojati u RNA svijetu. Međutim, ti ribozimi su 1000 puta ili više sporiji od proteinskih enzima. Rani ribozimi su, osim vezanja supstrata, vjerojatno mogli vezati i kofaktore. Na primjer, do sada su izolirani mnogi aptameri koji se vežu na adenzin ili njegove analoge, zatim anti-CoA, anti-FMN, anti-FAD i anti-NMN aptameri. Može se postaviti pitanje na koji način su ribozimi koristili svoje kofaktore? Postoje dvije osnovne opcije: nekovalentnim interakcijama ili kovalentnim vezanjem. Oba mehanizma su uspješno dokazana u laboratorijskim uvjetima.

Reakcije prijenosa kemijske skupine koje se odvijaju na ribosomu se koriste kroz citav metabolizam, te su stoga mogli postojati mnogi putevi za razvitak translacije u ranom RNA svijetu [1].

## 5. ZAKLJUČAK

Molekula RNA ima vrlo važnu ulogu u biologiji živoga svijeta. Nosioc je genetičke informacije i ima katalitičku funkciju a upravo ta dva svojstva upućuju na to da RNA molekulu možemo smatrati pramolekulom života. Razdoblje u prošlosti u kojem se živi svijet temeljio na molekuli RNA nazivamo RNA svijet, a teoriju o RNA svijetu postavio je Walter Gilbert 1986. godine. RNA svijet pojavio se na Zemlji vjerojatno prije 4.2 milijuna godina i trajao je do prije 3.6 milijuna godina. Zbog nestabilnosti RNA i teške prebiotičke sinteze njenih osnovnih komponenti moguće je da je RNA svijetu prethodio pre-RNA svijet, koji se temeljio na molekulama prekursorima RNA, a te molekule su mogle biti peptid nukleinska kiselina (PNA) ili treoza nukleinska kiselina (TNA).

Nestabilnost RNA molekule vjerojatni je uzrok prelaska na DNA/protein svijet. Molekula DNA je vjerojatno stvorena reverznom transkripcijom, te je zbog svoje veće stabilnosti i kapaciteta pohrane informacije preuzela ulogu genetičkog materijala. Proteini su zbog veće kemijske i strukturne različitosti, kao efikasniji katalizatori, zamijenili RNA molekulu.

Otkriće ribozima imalo je velik utjecaj na stvaranje teorije o RNA svijetu. Ribozimi koje nalazimo u prirodi kataliziraju reakcije cijepanja ili ligacije fosfodiesterske veze, a mogu se podijeliti u dvije skupine, samo-izrezujuće i samo-prekrajajuće ribozime. Ribozimi sisavaca se svrstavaju odvojeno zbog osobitih karakteristika i zastupljenosti samo kod sisavaca.

Pokusima *in vitro* selekcije pokazano je da iz nasumičnih sekvenci nukleotida mogu nastati funkcionalne nukleinske kiseline, a prvi tako izolirani ribozimi bili su RNA ligaze.

činjenica da je ribosom ujedno i ribozim govori u prilog hipotezi o RNA svijetu, kao i to da su u laboratoriju dobiveni ribozimi koji mogu katalizirati brojne reakcije u današnjem metabolizmu.

Ostaju otvorena mnoga pitanja o razvitku RNA svijeta, njegovog funkcioniranja i kompleksnosti te prijelaska u DNA/protein svijet a sama teorija o RNA svijetu, iako nudi neka rješenja, nije u potpunosti prihvaćena. Ipak, brojni dokazi u današnjoj biologiji ukazuju da bi ona mogla biti točna.

## 6. LITERATURA

- [1] Bada J. L., 2004. How life began on Earth: a status report. *Earth and Planetary Science Letters* **226**, 1-15
- [2] Ellington A.D., Chen X., Robertson M., Syrett A., 2009. Evolutionary origins and directed evolution of RNA. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**, 254-265
- [3] Forterre P., 2005. The two ages of the RNA world, and the transition to the DNA world: a story of viruses and cells. *Biochimie* **87**, 793-803
- [4] Joyce G. F., 2002. The antiquity of RNA-based evolution. *Nature* **418**, 214-221
- [5] Nelson D.L., Cox M.M., 2004. RNA metabolism: DNA-Dependent Synthesis of RNA, Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth Edition
- [6] Orgel L. E., 2004. Prebiotic Chemistry and the Origin of the RNA World. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **39**, 99-123
- [7] Talini G., Gallori E., Maurel M.-C., 2009. Natural and unnatural ribozymes: Back to the primordial RNA world. *Research in Microbiology* **160**, 457-465
- [8] <http://home.comcast.net/~llpellegrini/RNA%20DNA.gif>
- [9] [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1989/press.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1989/press.html)
- [10] [http://www-ssrl.slac.stanford.edu/research/highlights\\_archive/RNase\\_P\\_fig1.gif](http://www-ssrl.slac.stanford.edu/research/highlights_archive/RNase_P_fig1.gif)

## 7. SAŽETAK

RNA molekula sadrži geneti ku informaciju i ima kataliti ku ulogu, te je stoga možemo smatrati pramolekulom života. Njena uloga je vrlo bitna i u danas u biologiji. RNA svijet je razdoblje u prošlosti Zemlje u kojem se život temeljio na RNA molekuli, a teoriju o RNA svijetu postavio je Walter Gilbert 1986. godine.

U ovom radu prikazan je mogu razvoj i funkcioniranje RNA svijeta, te njegov prelazak na DNA/protein svijet, te injenice koje govore u prilog teoriji o RNA svijetu. Opisana je mogu a prebiotika sinteza RNA molekule i ribozimi koji su vrlo važni za teoriju o RNA svijetu.



## **8. SUMMARY**

RNA molecule stores genetic information and has a catalytic role, which makes us consider it to be the origin of life. Its role is also very important in contemporary biology. The RNA world represents a period in history of Earth in which life was based on the RNA molecule and the RNA world hypothesis was proposed by Walter Gilbert in 1986.

This work displays a possible development, functioning of the RNA world, and the transition to DNA/protein world, as well as facts that contribute to the RNA world hypothesis. A possible prebiotic synthesis of the RNA molecule has been described here, as well as ribozymes which are important for the hypothesis.