

КАТАЛІТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РНК – КЛЮЧ ДО ПІЗНАННЯ ЕВОЛЮЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ (ОГЛЯД)

Жданкін А.Є., Ушакова Г.О.

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

У роботі узагальнено літературні дані, присвячені проблемам еволюції і вивчення каталітичних властивостей РНК. Розглянуто основні положення концепції РНК-світу. Наведено короткий історичний нарис з історії відкриття каталітичних властивостей РНК. Охарактеризовано рибозими та зв'язок рибонуклеїнових кислот з еволюційним процесом.

Ключові слова: рибонуклеїнова кислота (РНК), концепція РНК-світу, рибозими, еволюційний процес, абіогенний синтез РНК.

Постановка проблеми. Як відомо, еволюційний процес є складним етапом виникнення і розвитку життя. Згідно з теорією Опаріна-Холдейна, відправним пунктом всіх еволюційних перетворень є синтез простих органічних молекул (наприклад, амінокислот) з неорганічних сполук, який здійснювався під впливом різноманітних факторів, що діяли в первинних умовах ранньої Землі [1]. Наступним кроком було утворення складних макромолекул (білків, ліпідів, високомолекулярних вуглеводів та нуклеїнових кислот) з простих [4, с. 232].

Для побудови надмолекулярних комплексів, що лягли в основу формування живих клітин, необхідне існування особливого молекулярного «фактору», який дозволив би забезпечити процес асоціації (поєднання) білків та ДНК (ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота – виступає генетичним матеріалом клітини, тобто містить інформацію про синтез білкових молекул, а білкові молекули є носіями основних рис живої матерії) між собою [3, с. 341]. Згідно з думкою багатьох вчених, цим «фактором» виступають молекули РНК (рибонуклеїнових кислот), завдяки яким виникло сучасне ДНК-РНК-білкове життя, відділене плазматичною мембраною від зовнішнього середовища. При цьому ансамблі молекул рибонуклеїнових кислот виступають умовою зберігання генетичної інформації, а також здійснюють каталіз хімічних реакцій. Подібні властивості рибонуклеїнових кислот фактично вплинули на хід еволюції живих організмів [2, с. 124; 7, с. 22].

Усі ідеї стосовно ролі РНК в еволюційному процесі лягли в основу створення концепції РНК-світу (Карл Везе, 1968, Волтер Гілберт, 1986), що є гіпотетичним етапом виникнення життя на Землі. Дана концепція вносить істотний вклад у розуміння сутності еволюційних процесів [3, с. 360]. Проте деякі аспекти концепції потребують сучасного тлумачення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Як було зазначено вище, вперше ідея про створення концепції РНК-світу була запропонована науковцем Карлом Везе у 1968 р. Пізніше її розвинули такі вчені як Леслі Оргель та Волтер Гілберт у 1986 р. [4, с. 300; 10, с. 1320].

Чому саме РНК є одним з головних факторів еволюції живих клітин? Відомо, що більшість ферментативних реакцій на клітинному рівні виконують ферменти білкової природи. Однак, на відміну від РНК, білки не здатні до самоподвоєння та не можуть синтезуватися у клітині *de novo* на основі генетичної інформації, закладеної у вигляді дезоксирибонуклеотидних послідовностей ДНК [13, с. 348; 15, с. 77]. З іншого боку, реплікація (самоподвоєння) ДНК не відбувається без участі білків та РНК. Внаслідок цього виникає припущення, що під час розвитку життя в ході еволюційного процесу повинен мати місце обов'язковий абіоген-

ний синтез всіх трьох вищеперерахованих типів молекул [2, с. 124; 15, с. 78].

Деякі дослідники вважають, що процес виникнення зв'язку між ДНК, РНК та білками мав строго спонтанний характер, тобто в деякій мірі не залежав від умов зовнішнього середовища. Однак більшість науковців спростовує дану думку, зосереджуючи увагу на тому, що процесам виникнення ДНК та білків мав передувати певний «закономірний механізм», природа якого на сьогоднішній момент залишається практично невідомою [15, с. 80]. Даний «механізм» виступив у ролі «первинного» каталізатора під час створення молекул рибонуклеїнових кислот, використовуючи для цього частину молекули ДНК та «початковий» набір рибонуклеотидів. Утворені молекули РНК стали посередниками між місцем зберігання інформації та формою її реалізації [7, с. 23].

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми. Первинні молекули РНК могли каталізувати лише процеси власного «самовідтворення». Однак під дією рушійних факторів еволюції, провідне місце серед яких займають мутації, виникли нові різновиди рибонуклеїнових кислот, здатні синтезувати білкові молекули. При цьому відбулася їх диференціація на різні класи. Механізм, що лежить в основі такої диференціації, також залишається практично маловідомим [4, с. 344; 6, с. 99]. Недостатньо з'ясовано залишається роль РНК в еволюційному процесі живих організмів.

Формулювання цілей статті (постановка завдання). Основним завданням статті є узагальнення літературних щодо проблем еволюції і вивчення каталітичних властивостей РНК; визначення зв'язку рибонуклеїнових кислот з еволюційним процесом.

Виклад основного матеріалу дослідження. Історія відкриття каталітичних властивостей РНК. У 1967 р. Карл Везе, Френсіс Крик та Леслі Оргель вперше висунули припущення, що РНК володіє каталітичними властивостями. Дане припущення було зроблено на основі здатності рибонуклеїнових кислот до утворення вторинної структури. Пізніше були отримані дані про наявність у РНК третинної структури [4, с. 411].

Каталітична здатність РНК вперше була відкрита у 1980-х роках у про-рРНК Томасом Чеком, який досліджував сплайсинг РНК у инфузорії *Tetrahymena thermophila*, і Сідні Альтманом, який вивчав бактеріальну рибонуклеазу Р. У першому випадку рибозимом виявилася ділянка молекули рРНК, яка кодувалася інтроном позахромосомного гену рДНК. Ця ділянка рРНК здійснювала аутосплайсинг, тобто нарізала сама себе. Каталітична активність була також досліджена й у РНК-субодиниці комплексу рибонуклеази Р, що приймає участь в обробці незрілих тРНК [6, с. 100; 7, с. 22].

У 1989 р. Т. Чеку та С. Альтману була присуджена Нобелівська премія в області хімії за відкриття каталітичних властивостей РНК [12, с. 113]. Трохи раніше, у 1982 р. у науковому журналі Cell з'явилася стаття Келлі Крюгер, у якій вперше було використано термін «рибозим» для позначення молекул РНК, що володіють каталітичними властивостями [4, с. 450; 5, с. 118].

Рибозими – молекули РНК, що володіють каталітичними властивостями. Згідно з концепцією РНК-світу на зорі зародження життя повинні були існувати рибонуклеїнові кислоти, тобто рибозими, що володіли каталітичними властивостями і здійснювали матричний синтез молекул РНК. Однак такі рибозими володіють недостатньо високою каталітичною активністю на відміну від тої, яка передбаченою концепцією. Високою каталітичною активністю володіють лише рибозими, що каталізують синтез поліпептидних ланцюгів білкових молекул [4, с. 521; 14, с. 1258]. Прикладом може слугувати пептидилтрансферазний центр (пептидилтрансфераза, РТС) рибосом, що являє собою рибозим і каталізує процес поєднання амінокислот у поліпептидному ланцюзі [9, с. 5785; 10, с. 1322].

Рибозими, які здійснюють синтез РНК з РНК-полімеразною активністю, є ключовим компонентом концепції РНК-світу. Без таких рибозимів була б неможливою спадковість та еволюція за Дарвіном [5, с. 118; 10, с. 1325]. У природі такі рибозими практично не зустрічаються, оскільки вони були витіснені більш ефективними ферментами білкової природи – полімеразами [11, с. 545]. Тому, для того, щоб реконструювати початкові етапи зародження життя і довести можливість існування стійкого до «дарвінівської» еволюції світу РНК, важливо отримати такий рибозим у штучних умовах [7, с. 24; 8, с. 2350].

Вперше штучний абіогенний синтез РНК було продемонстровано у 1974 р. німецькими вченими Манфредом Сампером та Рудігером Льюсом, які інкубували суміш окремих нуклеотидів зі специфічним вірусним ферментом Q β -репліказою. У суміші не містилося первинних молекул РНК. Через деякий проміжок часу спостерігалось утворення невеликих олігонуклеотидних ланцюжків РНК, здатних до самоподвоєння (самореплікації) [3, с. 343; 4, с. 520].

Штучно створені рибозими здатні продукувати невеликі олігонуклеотидні ланцюжки, що складаються з 12-14 нуклеотидів (максимальна кількість нуклеотидів може сягати 20) [14, с. 1260]. Приблизно через 24 години після завершення синтезу відбувається гідроліз фосфодієфірних зв'язків з наступним руйнуванням ланцюжків. Проте найновіші біохімічні та цито-генетичні методи дозволяють вдосконалити каталітичну активність рибозимів [13, с. 353]. Так, американськими вченими було створено «покращений» рибозим з РНК-полімеразною активністю, здатний копіювати молекули РНК довжиною до 95 нуклеотидів. Цей експеримент підтверджує положення концепції РНК-світу, оскільки тут вперше показано синтез РНК без допомоги ферментів білкової природи [4, с. 508].

РНК і еволюційний процес. Для вдосконалення каталітичних властивостей, набутих на зорі формування життя, молекули рибонуклеїнових кислот мали пройти складний еволюційний шлях. Здатність РНК до еволюції була підтверджена в ряді важливих експериментальних досліджень [11, с. 544; 12, с. 115-116].

Задовго до відкриття каталітичної активності подібні експерименти були проведені американським вченим Леслі Оргелем з колегами. До суспензії рибонуклеїнових кислот вони додавали розчин

бромистого етидію, який є інгібітором синтезу РНК [3, с. 348]. Також дослідники дослідниками було додано фермент репліказу. Спочатку процеси синтезу були сповільнені дією інгібітору, однак після зміни дев'яти «поколінь» рибонуклеїнових кислот в умовах природного добору у пробірках виникло нове покоління РНК, стійке до високих концентрацій етидію. При цьому встановлено, що молекули РНК здатні до реплікації навіть без участі РНК-реплікази, але цей процес протікає набагато повільніше [4, с. 509].

Інша серія дослідів була проведена німецьким біохіміком Манфредом Ейгеном. Він спостерігав процес самозародження РНК у суміші, що містила невелику кількість нуклеотидів та РНК-репліказу. Нуклеотиди відігравали роль субстрату. Результати досліджень показали, що молекули РНК були створені шляхом наростаючої еволюції [5, с. 126].

Наступним кроком у вивченні каталітичних властивостей молекул РНК було створення спеціальних автоматичних пристроїв з метою розробки моделі еволюційних перетворень рибонуклеїнових кислот [4, с. 514; 9, с. 5786]. Контроль за роботою пристроїв здійснювався за допомогою комп'ютерних програм. Прикладом використання подібної системи можуть слугувати дослідження, проведені у 2008 р. американськими вченими Брайаном Пегелем та Джеральдом Джойсом [4, с. 510; 14, с. 1260]. Ці дослідження вдалою спробою здійснити контрольований процес еволюції молекул РНК. Фактором, який відіграв роль тиску природного добору, була обмеженість субстрату, до складу якого входили олігонуклеотиди, які рибозим «розпізнавав» і приєднував до себе, і нуклеотиди, необхідні для синтезу ДНК і РНК. При побудові копій молекул нуклеїнових кислот іноді траплялися порушення, викликані мутаціями, які суттєво впливали на каталітичну активність рибозимів. Виникнення мутацій було пов'язано з тим, що для прискорення процесу досліджувана суміш декілька разів піддавалася мутуванню за допомогою полімеразної ланцюгової реакції при використанні «недосконалих» РНК- та ДНК-полімераз. За цим принципом здійснювався відбір молекул: ті молекули, копіювання яким здійснювалося з максимальною швидкістю, починали швидко домінувати у середовищі. Пізніше дослідники 90% суміші видаляли й додавали новий субстрат та ферменти. При цьому весь цикл повторювався спочатку. За три доби у результаті лише 11 мутацій каталітична активність молекул рибонуклеїнових кислот збільшилася у 90 разів [4, с. 516; 8, с. 2350].

Ці дослідження показали, що первинні молекули РНК не обов'язково мали володіти високими каталітичними властивостями. Ці властивості могли розвинути лише у ході еволюційного процесу під дією природного добору.

У 2009 р. проведені дослідження, основною метою яких – довести наступне припущення: чи може з відносно простого за своєю структурою рибозиму розвинути справжня блоксинтезуюча система? Для цього вченими з Монреальського університету (Канада) детально досліджено молекули 23S-рРНК рибосом [4, с. 345]. Одна молекула такої рибонуклеїнової кислоти умовно була поділена на 60 структурних доменів, найважливішим з яких був пептидил-трансферазний домен (центр), що відповідає за утворення пептидного зв'язку між залишками амінокислот (транспептидацію) [4, с. 346]. Науковцями було показано, що якщо всі домени поступово від'єднувати один від одного без руйнування тієї частини молекули рРНК, що залишається після відокремлення кожного наступного домена, то, врешті-решт, від

усієї молекули залишається лише один пептидил-трансферазний центр, який при цьому зберігає свою каталітичну активність незмінною. Якщо усі зв'язки між доменами представити у вигляді стрілки, направленої до того домена, який руйнується при відокремленні, то стрілки не утворюють ні єдиного замкнутого кільця [4, с. 501]. Якби напрямок зв'язків між доменами був би випадковим, то ймовірність виникнення такої структури РНК складала би одну мільярдну. Тому можливість виникнення молекули рибонуклеїнової кислоти може бути досягнута лише шляхом поступового закономірного приєднання доменів один до одного, причому початковим елементом виступає саме пептидил-трансферазний центр. Внаслідок цього на початку формування життя міг стояти відносно простий рибозим – пептидил-трансферазний центр молекули 23S-рРНК, до якого потім додавались нові домени, тим самим удосконалюючи процес біосинтезу білка [4, с. 512].

Для подальшого вдосконалення каталітичних властивостей здатні до самореплікації РНК-системи повинні були бути агреговані на поверхні спеціальних мембран або знаходитися усередині них. Первинні мембрани склалися з мінералів або крихких гірських порід. На початку 1990-х років радянський вчений С. Четверин з колегами показали, що РНК-системи здатні формувати молекулярні колонії на поверхні гелів чи твердих субстратів за умови наявності оптимальних умов для реплікації [8, с. 2352]. При цьому при зіткненні молекул РНК між собою здійснювався вільний обмін генними ділянками, внаслідок чого уся РНК-система еволюціонувала [2, с. 125].

Після виникнення процесів біосинтезу білка РНК-системи почали утворювати молекули ферментів білкової природи, внаслідок чого їх розвиток вдосконалився [1]. Ще більш досконалими ці системи стали відтоді, як утворили надійний засіб зберігання спадкової інформації – ДНК. Потім вони

почали контролювати синтез молекул вуглеводної та ліпідної природи. Пізніше системи сформували ліпідну мембрану, яка запобігала розсіюванню їх молекул. Даний еволюційний крок фактично став вирішальним у формуванні клітинних форм життя.

Висновки з даного дослідження і перспективи подальшого розвитку у даному напрямку. Аналізуючи процеси розвитку життя на Землі та проводячи їх зв'язок з каталітичними властивостями рибонуклеїнових кислот, можна зробити декілька важливих висновків:

1. Молекули РНК могли існувати повністю автономно, каталізуючи «метаболічні» реакції та самовідтворюючись, зберігаючи з «покоління» в «покоління» каталітичні властивості.

2. Накопичення випадкових мутацій призвело до появи рибонуклеїнових кислот, що каталізують синтез певних білкових молекул, які пізніше виявилися більш ефективним каталізатором. Внаслідок цього мутації почали закріплюватися в ході природного добору.

3. Завдяки діяльності рибонуклеїнових кислот виникли нові спеціалізовані місця збереження спадкової інформації – дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК).

4. Молекули РНК почали виконувати роль посередника між ДНК та білком: інформаційні РНК передають інформацію до місця синтезу білка, транспортні РНК транспортують активовані амінокислоти до місця синтезу, рибосомальні РНК каталізують утворення пептидних зв'язків. Інші види РНК приймають участь у дозріванні рибонуклеїнових кислот та реплікації ДНК.

Актуальними залишаються питання створення сучасних моделей еволюції рибонуклеїнових кислот, а також вивчення нових рибозимів, які можна використовувати при діагностиці різних захворювань людини, а також у біологічних та медичних дослідженнях.

Список літератури:

1. Албертс Б., Брей Д., Льюїс Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Еволюція клітки / Молекулярная биология клетки, в 3-х томах, 2-е издание, – М.: Мир, 1994.
2. Григорович С. Вначале была РНК? В поисках молекулы первожизни / С. Григорович // Наука и жизнь. – 2004. – № 2. – С. 123–127.
3. Крицкий М. С., Телегина Т. А. Коферменты и эволюция мира РНК / М. С. Крицкий, Т. С. Телегина // Успехи биологической химии. – 2004. – № 44. – С. 341–364.
4. Марков Александр. Рождение сложности [Текст] – М.: Астрель: CORPUS, 2012. – 527 с.
5. Спирин А. С. Рибонуклеиновые кислоты как центральное звено живой материи / А. С. Спирин // Вестник РАН. – 2003. – Т. 73. – № 2. – С. 117–127.
6. Чек Томас Р. РНК – фермент / Томас Р. Чек // В мире науки (русское издание Scientific American). – 1987. – № 1. – С. 97–106.
7. Шапиро Р. У истоков жизни / Р. Шапиро // В мире науки (русское издание Scientific American). – 2007. – № 10. – С. 21–29.
8. Chetverina H. V. Cloning of RNA molecules in vitro / H. V. Chetverina, A. B. Chetverin // Nucleic Acids Res. – 1993. – Vol. 21. – № 10. – P. 2349–2353.
9. Jin Tang. Structural diversity of self-cleaving ribozymes / Jin Tang, Ronald R. Breaker // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1997. – Vol. 97. – № 11. – P. 5784–5789.
10. Johnston W. RNA-catalyzed RNA polymerization: accurate and general RNA-templated primer extension / W. Johnston, P. Unrau, M. Lawrence [et al.] // Science. – 2001. – Vol. 292. – № 5520. – P. 1319–1325.
11. Nils G. Walter. Stability of hairpin ribozyme tertiary structure is governed by the interdomain junction / Nils G. Walter, John M. Burke, David P. Millar // Nature Structural Biology. – 1999. – № 6. – P. 544–549.
12. Preferential electrical coupling regulates neocortical lineage-dependent microcircuit assembly / Y. C. Yu, S. He, S. Chen [et al.] // Nature. – 2012. – Vol. 486. – № 7401. – P. 113–117.
13. Supattapone S. Prion protein conversion in vitro / S. Supattapone // Journal of Molecular Medicine. – 2004. – Vol. 82. – P. 348–356.
14. Transcriptome and proteome analysis of early embryonic mouse brain development / M. T. Mader, M. H. de Angelis, D. Hartl [et al.] // Proteomics. – 2008. – Vol. 8. – № 6. – P. 1257–1265.
15. Yuasa S. Abiotic synthesis of purines and other heterocyclic compounds by the action of electrical discharges / S. Yuasa, D. Flory, B. Basile [et al.] // Journal of Molecular Evolution. – 1984. – Vol. 21. – № 1. – P. 76–80.

Жданкин А.Е., Ушакова Г.А.

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РНК – КЛЮЧ К ПОЗНАНИЮ ЭВОЛЮЦИОННОГО ПРОЦЕССА (ОБЗОР)

Аннотация

В работе обобщены литературные данные, посвященные проблемам эволюции и изучению каталитических свойств РНК. Рассмотрены основные положения концепции мира РНК. Приведен краткий исторический очерк истории открытия каталитических свойств РНК. Охарактеризованы рибозимы и связь рибонуклеиновых кислот с эволюционным процессом.

Ключевые слова: рибонуклеиновая кислота (РНК); концепция мира РНК; рибозимы; эволюционный процесс; абиогенный синтез РНК.

Zhdankin A.Ye., Ushakova G.O.

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

CATALYTIC PROPERTIES OF RNA – KEY TO THE KNOWLEDGE OF THE EVOLUTIONARY PROCESS (OVERVIEW)

Summary

The literature data on the problems of evolution and the study of the catalytic properties of RNA are summarized. The main provisions of the concept of the RNA world are considered. A brief historical sketch of the history of the discovery of catalytic properties of RNA is shown. The ribozymes and communication ribonucleic acids with an evolutionary process are characterized.

Keywords: ribonucleic acid (RNA); the concept of the RNA world; ribozymes; evolutionary process; abiotic synthesis of RNA.