

Neue Experimente zur RNA-Welt

Bringt ein zyklischer Wechsel nass – trocken den Durchbruch?

Die Idee der RNA-Welt ist in der präbiotischen Chemie eine etablierte Vorstellung, die viele Forscher als grundlegenden Baustein einer naturalistischen Lebensentstehungstheorie für vielversprechend halten. Die bisher vorgeschlagenen Synthesen für RNA – also die Frage, wie RNA-Moleküle für einfachste lebensähnliche Systeme entstehen könnten – nutzen allesamt chemisches Knowhow und sorgfältig ausgewählte Rahmenbedingungen. In einer jüngst erschienenen Arbeit wird der Eindruck erweckt, als wäre einfach aufgrund zyklischer Temperaturwechsel eine RNA-Synthese durchgängig von einfachsten Ausgangsstoffen bis zur RNA selbst plausibel erklärt. Werden diese Erwartungen erfüllt?

Harald Binder

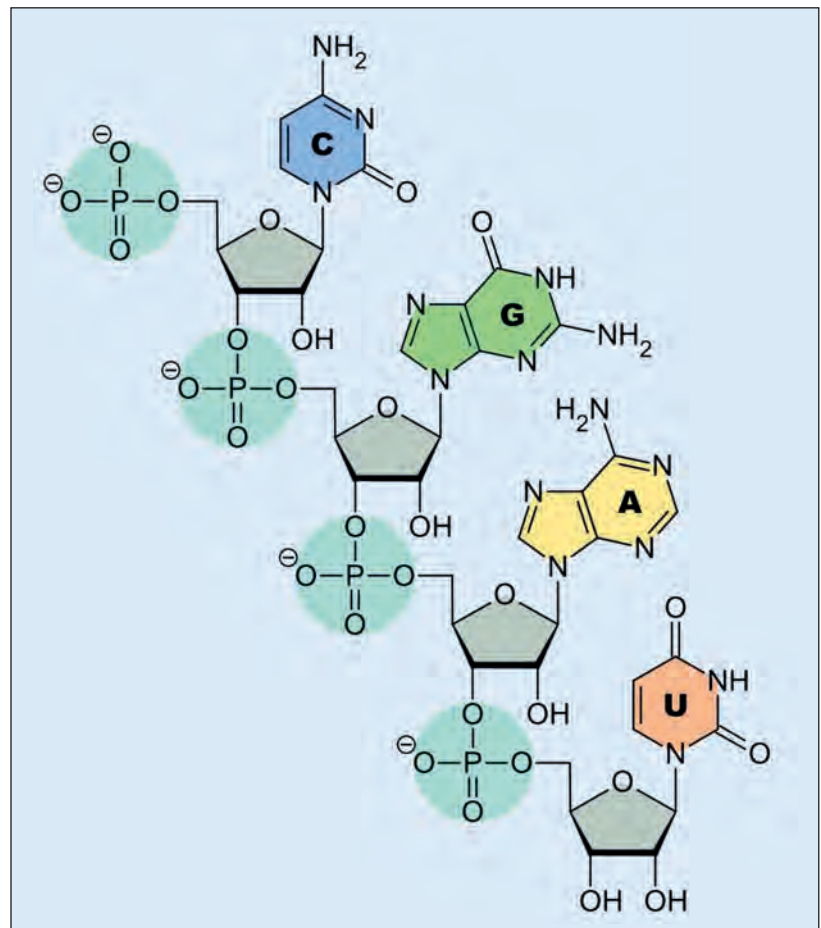
Die RNA-Welt und ihre mögliche Entstehung

Dem RNA-Makromolekül (Abb. 1) sprechen viele Wissenschaftler, die sich mit hypothetischen frühen Etappen zu einer Entstehung des Lebens beschäftigen, eine zentrale und bedeutsame Rolle zu. Dieser Denkansatz wird mit dem Schlagwort „RNA-Welt“ bezeichnet. Das RNA-Polymer besteht aus einem Rückgrat aus Ribosephosphat und den vier typischen Stickstoffbasen (N-Heterozyklen): Adenin, Cytosin, Guanin und Uracil. RNA liegt im Gegensatz zur DNA-Doppelhelix typischerweise als Einzelstrang vor, in dem sich durch komplementäre Verknüpfung von Adenin und Guanin bzw. Cytosin und Uracil Abschnitte mit einem Doppelstrang bilden können. Dadurch werden in RNA-Einzelsträngen Schleifen und damit spezifische räumliche Strukturen (z.B. Kleeblatt*) ausgebildet. RNA-Moleküle werden z.B. von vielen Viren (RNA-Viren) als Informationsspeicher anstelle von DNA benutzt. Darüber hinaus können sie enzymatische Aktivität entfalten und werden in Zellen zu vielen Regulationszwecken eingesetzt. Wegen dieser gut charakterisierten und vielfältigen Funktionen stellt die RNA für viele Fachleute, die sich mit Modellen zur Lebensentstehung beschäftigen, einen elementaren Baustein in diesen hypothetischen Prozessen dar. Die der RNA zugeordnete Bedeutung hängt in grundlegender Weise von ihrer Verfügbarkeit, also von robusten und ergiebigen Synthesen ab, die einer ersten Nutzung von RNA vorausgehen, also schon lange vor der Etablierung erster zellähnlicher Systeme erfolgen müssten. Leslie E. ORGEL, einer der Pioniere der präbiotischen Chemie, hat in einem Beitrag vor 50 Jahren (ORGEL 1968) aufgrund der damals vorliegenden experimentellen Erfahrungen eine ungesteuerte

RNA-Synthese sehr skeptisch beurteilt. Seitdem Walter GILBERT (1986) den Begriff „RNA-World“ eingeführt hat, sind viele Konzepte zu den dafür notwendigen Synthesen entwickelt und experimentelle Studien zu ihrer Prüfung durchgeführt worden.

RNA-Moleküle können von Chemikern in entsprechend ausgerüsteten Labors synthetisiert werden. Dabei sind neben den entsprechend reinen Ausgangsverbindungen und der Nutzung der optimierten Reaktionsbedingungen die

Abb. 1 Ausschnitt aus einem RNA-Molekül mit dem Rückgrat aus Ribose (grau) und Phosphat (türkis), sowie den vier typischen Basen: Cytosin, Guanin, Adenin und Uracil. (wikipedia.org)



Bei chemischen Synthesen muss auf reine Ausgangsverbindungen, optimierte Reaktionsbedingungen, passende Abfolgen und darauf abgestimmte Schutzgruppenstrategien geachtet werden.

verschiedenen Aktivierungsschritte und die jeweils darauf abgestimmten Schutzgruppenstrategien* zu beachten. Große Herausforderungen für ein naturalistisches ateleologisches (nicht zielgerichtetes) Konzept der präbiotischen RNA-Synthese bestehen u. a. darin, dass sie ohne Planung und auf chemischer Erfahrung basierender Steuerung ablaufen muss. Die nötigen Ausgangsverbindungen müssen schon in möglichst reiner Form vorliegen, d. h. ohne störende weitere Chemikalien. Bei mehrstufigen Synthesen werden im Labor die Zwischenstufen isoliert und vor weiteren Reaktionsschritten gereinigt. Es ist völlig unklar, wie Entsprechendes in einem ungesteuerten natürlichen Ablauf aussehen könnte. Einzelne Komponenten, die unter verschiedenen Bedingungen erzeugt werden und dann für weitere Schritte zusammengeführt und miteinander verknüpft werden müssen, machen sehr komplexe Rahmenbedingungen in einem präbiotischen Szenario erforderlich, die dessen Wahrscheinlichkeit und damit seine Erklärungskraft stark verringern.

Ein neuer Vorschlag

In einem jüngst erschienenen Beitrag der Arbeitsgruppe von Thomas CARELL, LMU München, zur Synthese verschiedener RNA-Basen (BECKER et al. 2018) stellen die Autoren einleitend zunächst einmal fest, dass alle bisher vorgestellten vielstufigen Synthesemodelle auf eng

kontrollierten Laborbedingungen, der Isolierung und Reinigung wichtiger Zwischenprodukte durch ausgeklügelte Methoden beruhen. Sie zitieren in diesem Zusammenhang auch eine eigene Publikation (BECKER et al. 2016), obwohl dort behauptet worden war, dass die darin vorgestellte Purinsynthese einen möglichen Zugang zu den entsprechenden Nukleosiden darstellt, der mit den Bedingungen der frühen Erde verträglich sei. Daraufhin führen sie ihr aktuelles Szenario ein, mit dem sie nach eigenen Angaben einen robusten Syntheseweg vorstellen, der nur auf Änderungen von physikalisch-chemischen Randbedingungen beruht wie pH-Wert, Konzentration und Temperatur. Die Fluktuationen werden durch Nass-Trocken-Zyklen angetrieben. Einen solchen Nass-Trocken-Zyklus stellen sich die Autoren durch zyklische Temperaturschwankungen verursacht vor. Dadurch soll ggf. das Lösungsmittel Wasser weitgehend entfernt und so das Produkt als Feststoff für einen nächsten Reaktionsschritt bereitgestellt werden. Später wird dann die neue Verbindung wieder in Wasser gelöst. Die Autoren stellen ihr Szenario mit dem Bild eines komplexen Flusssystems in einer geothermisch geprägten Landschaft dar. Verschiedene mäandrierende Flüsse, die an verschiedenen Orten entspringen, vereinigen sich in ihrem Lauf und münden dann in einem Pool mit Nukleosiden, die nach Phosphorylierung als RNA-Bausteine dienen können.

Experimentelle Details – wirklich ungeplant und nicht gesteuert?

Schaut man sich die experimentellen Details der Arbeit an, so fällt zunächst auf, dass die ersten Syntheseschritte, die zu wasserlöslichen Salzen aus kleinen organischen Verbindungen führen, nicht wie im Überblick dargestellt aus vermuteten gasförmigen Bestandteilen der hypothetischen Atmosphäre gebildet, sondern im Labor durch geeignete Chemikalien synthetisiert werden. Die ersten Synthesestufen werden unter Verweis auf andere Arbeiten vorausgesetzt. Es wird also von der Verfügbarkeit der erforderlichen Substanzen ausgegangen, ohne auf die dabei gezielt ausgewählten Reaktionsbedingungen und Ausbeuten bei deren Herstellung einzugehen. Sie werden als reine Ausgangsstoffe benutzt. Also sind bereits die verwendeten Ausgangsstoffe nicht auf einem Weg zustande gekommen, bei dem man auf chemische Kompetenz verzichtet hätte.

BECKER et al. (2018) heben in der Titelformulierung ihrer Arbeit hervor, dass der von ihnen vorgeschlagene Syntheseweg die typischen und gleichzeitig auch die untypischen, sogenannten nichtkanonischen* Purin-Nukleoside liefert. Dabei soll die mehrstufige Synthese fort-

Glossar

Kleeblattstruktur: in der sogenannten Transfer-RNA (tRNA) sind in dem einzelsträngigen RNA-Molekül in bestimmten Abschnitten die komplementären Stickstoffbasen zusammengelagert, sodass sich partiell Doppelstränge bilden. Die dadurch entstehenden Schleifen können so dargestellt werden, dass sie gewisse Ähnlichkeiten zu Kleeblättern zeigen.

Schutzgruppen: Die verschiedenen Zwischenstufen, die bei der Synthese von RNA-Nukleotiden auftreten, können in den Folgeschritten an unterschiedlichen Positionen reagieren. Um sicherzustellen, dass die gewünschte Reaktion genau an der beabsichtigten Stelle erfolgt, müssen andere reaktive Positionen mit Schutz-

gruppen blockiert werden. Diese müssen später wieder entfernt werden können, ohne dass das gewünschte Molekül bzw. die jeweilige Vorstufe zerstört wird. Zum Aufbau eines RNA-Bausteins ist eine ausgeklügelte Schutzgruppenstrategie erforderlich.

Kanonische und nichtkanonische RNA-Basen: Typischerweise kommen in RNA-Molekülen die Stickstoffbasen Guanin, Adenosin (Purinbasen) sowie Cytidin und Uridin (Pyrimidinbasen) vor. Daneben spielen in der RNA von heutigen Lebewesen auch seltenere Basen, eben weniger typische oder nichtkanonische, eine biochemisch bedeutsame Rolle.

laufend – also ohne Isolierung und Reinigung der Zwischenprodukte – erfolgen und dadurch vorangetrieben werden, dass im weiteren Verlauf physikalische Größen wie z. B. Temperatur, pH-Wert und Konzentration verändert werden.

Als Ursache für solche Änderungen auf der frühen hypothetischen Erde schlagen die Autoren z. B. Tag-Nacht- oder saisonale Temperaturzyklen vor. Im experimentellen Teil der Veröffentlichung aber wird demonstriert, dass die einzelnen Schritte durchaus definierte Voraussetzungen erfordern. Es laufen nicht nur zyklische Abfolgen von Temperaturerhöhung und -erniedrigung ab, in deren Folge durch verdampftes Wasser die Konzentrationen der gelösten Stoffe erhöht werden kann und diese nach Abkühlung ggf. auskristallisieren können. Darüber hinaus sind im gesamten Reaktionsverlauf auch Änderungen des pH-Werts und weitere spezifische Einstellungen der Rahmenbedingungen erforderlich. Die Temperaturzyklen führen im Szenario der Autoren an zwei Schlüsselstellen dazu, dass die gewünschten Stoffe in einer anderen Phase, nämlich in kristalliner Form, anfallen und so vergleichsweise einfach von den in Lösung verbliebenen Begleitstoffen abgetrennt werden könnten. Die angenommenen Temperaturschwankungen sind nicht beliebig und dürfen bestimmte Grenzen nicht überschreiten. Bei zu hohen oder zu lang anhaltenden erhöhten Temperaturen verdampft das Lösungsmittel (Wasser) komplett und alle gelösten Stoffe liegen in fester Form vor. Unerwünschte Reaktionen finden beschleunigt statt und komplexere Verbindungen werden zerstört. Für viele Reaktionen muss der pH-

Chemische Umsetzungen auf dem Weg zum RNA-Nukleosid

Unter sauren Bedingungen bilden sich aus dem eingesetzten Malonsäuredinitril (**1** in Abb. 2) und vier verschiedenen Amidinverbindungen (**2**) bei Zugabe von Natriumnitrit (NaNO_2) organische Salze. Im Labor wurde das Volumen der wässrigen Lösung bei leicht erhöhter Temperatur verringert. Durch Kühlung dieser konzentrierten Lösung bilden sich Salzkristalle, die abfiltriert werden können. Mit den so gewonnenen Salzen erzielen die Autoren Ausbeuten von 40-60 %, wenn Amidinverbindungen jeweils einzeln, also in jeweils getrennten Experimenten, eingesetzt werden. Eine Filtration, bei der der Überstand mit Nebenprodukten und nicht umgesetzten Ausgangsprodukten vom kristallinen Produkt abgetrennt wird, ist natürlich mehr als nur ein Nass-Trocken-Zyklus, bei dem die Verunreinigungen mit dem Produkt vermischt blieben und die weiteren Schritte entsprechend weniger aussichtsreich wären.

Erhitzt man die gewonnenen Salze, bis sie schmelzen (108-159 °C), so bilden sich gelbliche Kristalle (teilweise bereits als Feststoffe), und unter deutlicher Farbänderung bilden sich Stickstoffheterozyklen (Nitrosopyrimidinverbindungen,

4). Wenn die Umwandlungen jeweils separat durchgeführt werden, geben die Autoren die Ausbeuten mit 60-85 % an. Die Nitrosopyrimidinverbindungen (**4**) werden in weiteren Reaktionsschritten zunächst in verdünnter Salzsäure hydrolysiert. (Hydrolysiert man die Verbindung **4** mit einer Methylthiogruppe [$\text{R} = \text{SMe}$] in Gegenwart von Aminen, so entstehen Zwischenstufen, die zu nicht typischen RNA-Bausteinen führen, sondern zu sogenannten nicht kanonischen* RNA-Basen.) Die durch Hydrolyse erzeugten Aminogruppen können in verdünnter Ameisensäure (HCOOH) in Gegenwart von metallischem Nickel (Ni)- oder Eisenpulver (Fe) durch Anhängen einer Formylgruppe aktiviert werden. Ni und Fe bilden unter den Reaktionsbedingungen Ni^{2+} - bzw. Fe^{2+} -Ionen. Die so erhaltenen Zwischenstufen können als Feststoffe mit Ribose umgesetzt werden. Unter basischen Bedingungen kann der Ringschluss zum Purinsystem erfolgen. Auf diese Weise können im Labor Nukleoside synthetisiert werden. Dafür sind sehr viel leistungsfähigere Synthesen als die hier beschrieben bekannt, aber diese sind sehr weit davon entfernt, als Beispiele für präbiotische Vorgänge gelten zu können.

Wert passend eingestellt werden. Einmal wird als Lösungsmittel Wasser verwendet, für einen der folgenden Schritte verdünnte Ameisensäure; für einen weiteren Reaktionsschritt sollte von

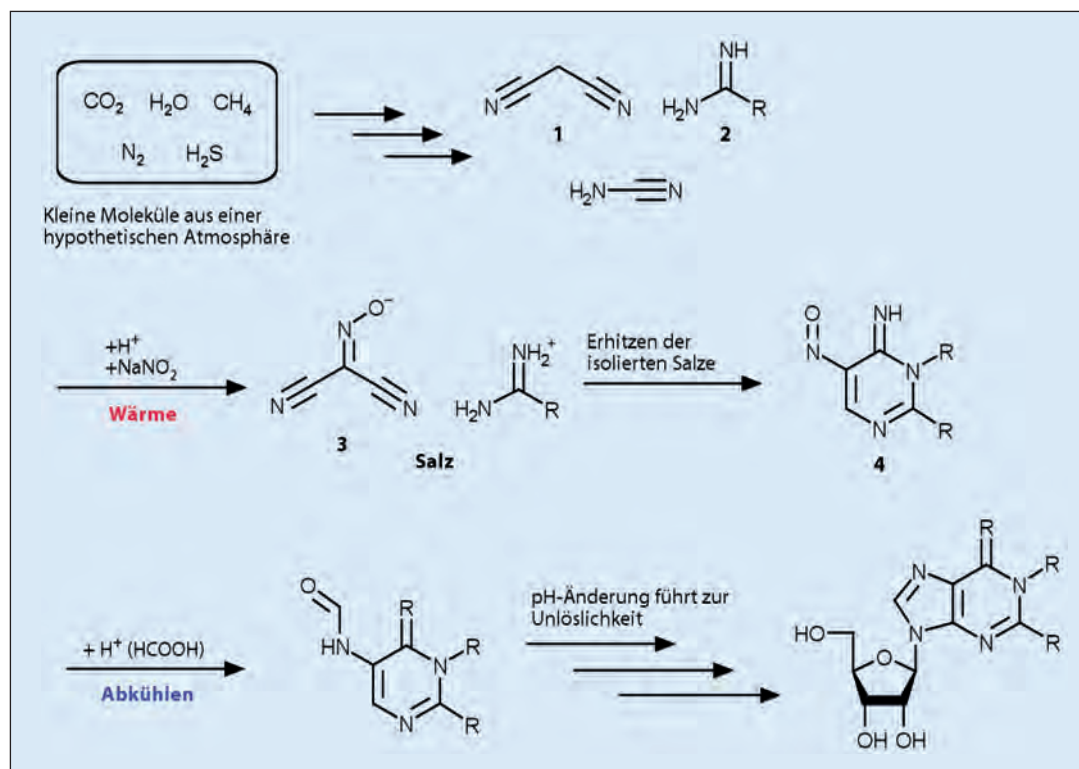


Abb. 2 Ausschnitte aus dem von BECKER et al. (2018) skizzierten Szenario. Die angegebenen Nummern finden sich im Textkasten „Chemische Umsetzung auf dem Weg zum RNA-Nukleosid“. (Bild: B. SCHMIDTGALL)

irgendwoher wässrige Ammoniaklösung dazu kommen. Auch für die selektiven Ausfällungen müssen die Bedingungen so eingestellt sein, dass der gewünschte Stoff als Feststoff anfällt; wie dieser dann unter natürlichen Bedingungen „filtriert“, d. h. von den in Lösung vorliegenden nicht umgesetzten Ausgangsverbindungen und Nebenprodukten getrennt werden kann, bleibt zu zeigen.

Die angegebenen Ausbeuten der einzelnen Reaktionen wurden im Labor durch Operationen erzielt, in denen ausschließlich die gewünschten Ausgangsstoffe zur Herstellung einer bestimmten Variante der Zielverbindungen eingesetzt worden sind. Wenn man die Synthesereaktionen parallel, d. h. in einem einzigen Ansatz durchführt, sinken die Ausbeuten vermutlich dramatisch und die Zahl der Nebenprodukte nimmt erheblich zu. Die Nebenprodukte machen die „gewünschte“ Reaktion mindestens weniger effizient und führen zweitens zur Entstehung ganz anderer Produkte, die für den weiteren Gang der ateleologischen Biogenese destruktiv sind.

BECKER et al. (2018) betonen, dass durch ihren Vorschlag nicht nur die Synthese der kanonischen RNA-Purin-Nukleoside erklärt würde, sondern auch die der nicht kanonischen. Die Bedeutung der letzteren ist für die Autoren dadurch belegt, dass diese in der RNA vieler rezenter Lebewesen vorkommen und dort u. a. auch die 3-dimensionale Anordnung der RNA-Moleküle prägen.¹ Diesen Befund interpretieren die Autoren so, dass diese untypischen RNA-Bausteine schon für die ersten und einfachsten Lebewesen, aus denen sich die komplexeren entwickelt haben müssten, verfügbar gewesen sein müssen. Ob eine größere Anzahl an Strukturvarianten der RNA-Bausteine für die Entstehung erster und einfachster lebensähnlicher Systeme tatsächlich förderlich und hilfreich oder aber störend und hinderlich ist, bleibt noch zu zeigen. Jedenfalls kann man aus der Bedeutung, die untypische RNA-Basen heute – bei ihrem vergleichsweise geringen Anteil (daher „nicht-kanonisch“) – haben, nicht automatisch auf deren Bedeutung in einer mutmaßlichen präbiotischen Synthese schließen.

Resümee

BECKER et al. (2018) haben in der Einleitung erfreulicherweise einen von mehreren bereits wiederholt genannten Schwachpunkten von

Szenarien zu präbiotischen Synthesen von Bausteinen für erste einfachste lebensähnliche Systeme aufgenommen. Sie bezeichnen ihren Vorschlag als fortlaufende Synthese und erwecken damit den Eindruck, die vielstufigen Synthesen für die RNA-Nukleoside ohne Isolierung und Reinigung der Zwischenprodukte durchführen zu können. Das bestätigen die experimentellen Daten jedoch nicht. Zudem ist das von ihnen skizzierte Szenario hochkomplex, und die vorgestellte Flusslandschaft in geothermischer Umgebung muss eine Fülle von Voraussetzungen erfüllen wie z. B. richtige Temperaturen und pH-Werte an den entsprechenden Positionen. Die verschiedenen Arme des Flusssystems mit

Das skizzierte Szenario ist hochkomplex und die Einstellung aller notwendigen Bedingungen basiert auf der chemischen Erfahrung.

ihrer spezifischen Fracht müssen sich an den richtigen Stellen und in der richtigen Abfolge vereinigen. Die Einstellung aller dieser Bedingungen basiert auf der chemischen Erfahrung. Dem angegebenen Ziel, ein System zu etablieren, in dem präbiotische Synthesereaktionen Nass-Trocken-Zyklen benötigen und keiner weiteren Voraussetzungen bedürfen, um RNA-Moleküle verfügbar zu machen, ist man mit den bisherigen Ergebnissen nicht näher gekommen.

Anmerkung

¹ Die Bedeutung von untypischen, nichtkanonischen Basen in der DNA haben CARELL et al. (2018) kürzlich vorgestellt.

Literatur

- BECKER S, THOMA I, DEUTSCH A, GEHRKE T, MAYER P, ZIPSE H & CARELL T (2016) A high-yielding, strictly regioselective prebiotic purine nucleoside formation pathway. *Science* 352, 833–836.
- BECKER S, SCHNEIDER C, OKAMURA H, CRISP A, AMATOV T, DEJMNEK M & CARELL T (2018) Wet-dry cycles enable the parallel origin of canonical and non-canonical nucleosides by continuous synthesis. *Nat. Comm.*, doi: 10.1038/s41467-017-02639-1
- CARELL T, KURZ MQ, MÜLLER M, ROSSA M & SPADA F (2018) Nichtkanonische Basen im Genom: die regulative Informationsebene in der DNA. *Angew. Chem.* 130, 4377–4394; *Angew. Chem. Int. Ed.* 57, 4296–4312.
- GILBERT W (1986) The RNA World. *Nature* 319, 618.
- ORGELE LE (1968) Evolution of the genetic apparatus. *J. Mol. Biol.* 38, 381–393.