

Magnesiumionen: Notwendig und (zer-)störend in der RNA-Welt

Die populäre RNA-Welt-Hypothese* als Erklärung zur Lebensentstehung muss neben ergiebigen Synthesen für RNA-Polymere* auch deren zuverlässige Vermehrung (Replikation) plausibel machen. Im Labor sind Reaktionssysteme entwickelt worden, mit denen RNA in Gegenwart von Magnesiumionen in hoher Konzentration repliziert werden kann. Aber die Wirkung der Metallionen ist zwiespältig, sie wirken sich auch destruktiv auf die RNA-Moleküle aus. Kann dieser Zwiespalt überwunden werden und wenn ja, welchen Einfluss hat die Lösung auf die Erklärungskraft der RNA-Welt-Hypothese?

Harald Binder

Jack SZOSTAK, der für seine Arbeiten über das Enzym Telomerase 2009 gemeinsam mit BLACKBURN und GREIDER den Nobelpreis für Physiologie und Medizin erhalten hatte, führt in seinem Labor seit vielen Jahren auch experimentelle Untersuchungen zu Fragen der Lebensentstehung durch. In der Wissenschaftszeitschrift *Science* veröffentlichte er eine Arbeit über die Matrixgestützte* Synthese von RNA in einfachen Modellzellen und den Einfluss von Magnesiumionen (Mg^{2+}) auf dieses System (ADAMALA & SZOSTAK 2013). Diese Arbeit hat verschiedene Echos hervorgerufen. Vor allem wurden Aspekte aufgenommen und betont, die die Plausibilität der RNA-Welt-Hypothese* erhöhen. In die Laborexperimente flossen aber Vorgaben und Randbedingungen ein, die vom chemischen Fachwissen und durch das erhoffte Resultat – vervielfältigte RNA – bestimmt waren, z.B. in Form der gewählten Reaktionsbedingungen, der Art und der Konzentrationen der eingesetzten Chemikalien. Diese Randbedingungen stellten sicher, dass bestimmte Reaktionen überhaupt abliefen. Dadurch wird das Experiment aber nicht nur modellhaft für einen bestimmten Aspekt der RNA-Welt-Hypothese, sondern entfernt sich weit von einer zufälligen ungesteuerten oder auch nur wahrscheinlichen Situation. Die oben zitierte Veröffentlichung soll hier kurz dargestellt und diskutiert werden, wobei die experimentellen Befunde sowohl hinsichtlich ihrer Unterstützung der RNA-Welt betrachtet als auch deren problematische Konsequenzen aufgezeigt werden.

In einem Übersichtsbeitrag hatte SZOSTAK (2012) acht Hauptschwierigkeiten für die Vermehrung (Replikation) von RNA-Molekülen dargestellt und Lösungsmöglichkeiten dafür erörtert. Die Replikation von RNA ist für die Entstehung und Aufrechterhaltung der RNA-Welt von grundlegender Bedeutung. Sowohl

für die durch Ribozyme* katalysierte RNA-Replikation als auch für die Replikation ohne Katalysator sind einerseits hohe Konzentrationen von Mg^{2+} oder anderer zweiwertiger Kationen erforderlich. Die Autoren geben 50 bis 200 mM an. Andererseits werden in Gegenwart von Mg^{2+} dieser Konzentrationen die RNA-Polymere* verstärkt hydrolytisch abgebaut. Als Modelle für einfache Zellen (Protozellen), in denen die Replikation abläuft, verwendete SZOSTAK Vesikel (*lat.*: Bläschen) aus Fettsäuren. In diesen Bläschen ist der Reaktionsraum durch eine Lipiddoppelschicht von der Umgebung abgetrennt. Die Fettsäuren dieser Doppelschicht bilden aber mit Mg^{2+} Salze und dadurch werden die zellähnlichen Gebilde zerstört. Mg^{2+} -Ionen sind also für die Replikation einerseits erforderlich und andererseits zerstören sie erstens die als Matrizen dienenden RNA-Polymere sowie zweitens die sie umgebende Fettsäuredoppelschicht. Es liegen also unvereinbare Bedingungen vor.



Abb. 1 In der RNA-Welt-Hypothese spielen Ribozyme eine zentrale Rolle, RNA-Moleküle, die sowohl genetische Information speichern als auch enzymähnliche Aktivität entfalten. Das hier gezeigte Ribozym wird aufgrund seiner Raumstruktur als Hammerhead-Ribozym bezeichnet und u.a. von Viren z.B. zum Schneiden (Splicen) von RNA-Molekülen verwendet. (Wikipedia, CC BY-SA 3.0)

Die neuen Untersuchungen

In einer experimentellen Studie wurde im Labor von SZOSTAK nach kleinen Molekülen gesucht, die die Fettsäurevesikel vor einer Zerstörung durch Mg^{2+} bewahren können (ADAMALA & SZOSTAK 2013). Sie fanden heraus, dass unter anderem Citrat und Oxalat jeweils mit Mg^{2+} einen Chelatkomplex bilden, was zur Folge hat, dass die Vesikel nicht zerstört werden und gleichzeitig die Lipiddoppelschicht für kleine Moleküle durchlässiger wird. Die erhöhte Durchlässigkeit der Modellmembran erleichtert die notwendige Zufuhr an aktivierten Nukleotiden* für die Replikation im Inneren der Vesikel, was für das Modell günstig ist. Da diese Durchlässigkeit jedoch nicht selektiv ist, d. h. auch andere, störende Moleküle in den Reaktionsraum gelangen, liegt darin auch ein Nachteil für das Modell.

Die Reaktion zur Verlängerung von kurzen RNA-Startermolekülen verlief in einem Versuchsansatz in Gegenwart von Mg^{2+} und Citrat langsamer als ohne Citrat, weil ein Teil des Mg^{2+} vom Citrat gebunden war. Aber die Aktivität der Magnesiumionen war noch hoch genug, um die Reaktion des kurzen RNA-Oligomers* mit aktivierten Nukleotiden zu ermöglichen.

Bei der Replikation von RNA anhand von Matrix-Molekülen zeigt sich, dass sich die entstehenden komplementären Doppelketten nur schwer voneinander trennen lassen, sie weisen

eine hohe Schmelztemperatur auf. Für die Synthese eines weiteren RNA-Oligomers im nächsten Zyklus ist diese Trennung aber unabdingbar. Mg^{2+} erhöht die Schmelztemperatur zusätzlich, stört also wiederum die RNA-Replikation. ADAMALA & SZOSTAK zeigten nun, dass in Gegenwart von Citrat die Schmelztemperatur um einen kleinen Betrag verringert werden kann (von 75 °C auf 71 °C).

In zellulären RNA-Polymerasen, die die Verknüpfungsreaktionen zwischen RNA-Polymer und aktivierten Nukleotiden katalysieren, sind ebenfalls Magnesiumionen beteiligt, die im aktiven Zentrum des Enzyms durch die benachbarten Aminosäuren komplexiert und so in ihrer Aktivität genau dosiert sind. In den bekannten Enzymen sorgen also fein austarierte Konstellationen dafür, dass die Wirkung von Mg^{2+} passend ist.

ADAMALA & SZOSTAK betonen die positiven Effekte, die sie für Citrat in ihrem Reaktionssystem zur nichtkatalysierten Matrix-gestützten

Es kommt auf die Kreativität der Wissenschaftler an, damit im Labor Bedingungen erzeugt werden, mit denen chemische Probleme wie die im Titel angedeuteten gelöst werden können.

Glossar

Aktivierte Nukleotide: Damit RNA-Polymere durch einzelne Nukleotide verlängert werden können, müssen letztere reaktiv sein. Im Labor kann man dies durch Anfügen energiereicher Verbindungen erreichen. In der entsprechenden Biosynthese kommen energiereiche Triphosphate zum Einsatz.

Matrix-gestützte Synthese: Die Replikation von DNA erfolgt semikonservativ, d. h. anhand eines bereits vorhandenen Einzelstranges der Doppelhelix wird ein neuer DNA-Strang synthetisiert; so entsteht eine neue Doppelhelix, die aus einem alten und einem neu synthetisierten DNA-Makromolekül besteht. Der alte, bereits vorhandene DNA-Strang dient bei der Synthese als Matrix für die Synthese des neuen komplementären Stranges. Dieses Prinzip funktioniert auch für RNA-Polymere.

Oligomer: Kettenförmiges Molekül aus wenigen Bausteinen.

Polymer: Langes kettenförmiges Molekül aus vielen molekularen Bausteinen.

Ribozyme: RNA-Polymere mit enzymatischen Eigenschaften, d. h. sie können

bestimmte Reaktionen aufgrund ihrer dreidimensionalen Struktur sowie chemisch aktiver Funktionen katalysieren. Der Begriff wurde durch Zusammenfügen von Ribonukleinsäure und Enzyme gebildet.

RNA-Welt: Die RNA-Welt-Hypothese besagt, dass RNA-Moleküle bei der Entstehung erster lebender Systeme von fundamentaler Bedeutung sind. In der Sequenz der Nukleotide wird die Informationsspeicherung realisiert und die dreidimensionale Struktur des Polymers zeigt ähnliche Eigenschaften wie Enzyme, d. h. sie könnten manche Stoffwechselreaktionen katalysieren ($\rightarrow$ Ribozyme). Im Labor sind verschiedene Strategien zur Erzeugung von Ribozymen für verschiedenste biochemische Prozesse entwickelt worden. Wie RNA-Moleküle unter unkontrollierten Bedingungen synthetisiert werden können, ist bisher unbekannt. Die RNA-Welt ist derzeit dennoch die populärste Erklärung zur Lebensentstehung; alternativ dazu werden einfache, vernetzte Reaktionssysteme diskutiert, die einfache Vorstufen des Stoffwechsels darstellen sollen.

RNA-Replikation in Protozellen nachweisen konnten: Die Lipiddoppelschichten der Modellmembranen werden selbst bei hohen Mg^{2+} -Konzentrationen nur wenig beeinträchtigt, wenn gleichzeitig die vierfache molare Menge an Citrat zugegeben wird. Die Komplexbildung von Mg^{2+} durch Citrat reduziert zwar deren Wirkung, gewährleistet aber noch genügend Aktivität für eine RNA-Synthese unter den von ihnen gewählten Laborbedingungen.

Kritik

Die Autoren verweisen selbst darauf, dass Citrat bisher nicht als prominentes Produkt in Synthesereaktionen zur Chemie der Lebensentstehung beschrieben wurde, auch wenn BUTCH et al. (2013) mögliche Synthesewege zu einem frühen Zitronensäurezyklus untersucht haben. Damit ist noch nicht klar, wie die notwendige Regulation der Aktivität von Mg^{2+} in der RNA-Welt realisiert worden sein könnte, solange Citrat nicht verfügbar ist. Weiterhin zeigen ADAMALA & SZOSTAK zwar, dass unter besonderen Bedingungen Citrat Mg^{2+} in einer Weise komplexiert, die genügend Mg^{2+} -Aktivität für die Reaktion von aktivierten Nukleotiden und RNA-Molekülen

liefert. Das kann als Stützung der RNA-Welt-Hypothese gewertet werden. Die sehr speziellen Randbedingungen wie Reinheit der verwendeten Chemikalien, aufeinander abgestimmte Konzentrationen, Art der aktivierten Nukleotide, pH-Wert u. a. schränken die Plausibilität des dargestellten Reaktionssystems für erste Schritte in einer hypothetischen RNA-Welt aber stark ein. Ob ineffiziente Synthesen von Citrat oder von ähnlichen Molekülen tatsächlich bei „Organismen der RNA-Welt“ einen Auslesedruck in Richtung katalytisch aktiver RNAs erzeugen, wie MÜLLER & TOR (2014) formulieren, muss erst noch gezeigt werden. Entgegen der oft euphorischen Aufnahme von Untersuchungsergebnissen wie den hier vorgestellten demonstrieren sie doch vor allem, dass es auf die Kreativität der Wissenschaftler ankommt, damit im Labor Bedingungen erzeugt werden, mit denen chemische

Probleme wie die im Titel angedeuteten gelöst werden können. Typischerweise sind diese Lösungen an spezielle Randbedingungen gekoppelt, die den Modellcharakter des experimentellen Systems für eine un gelenkte Entstehung des Lebens drastisch verringern.

Literatur

- ADAMALA K & SZOSTAK JW (2013) Nonenzymatic template-directed RNA synthesis inside model protocells. *Science* 342, 1089-1100.
- BUTCH C, COPE ED, POLLET P, GELBAUM L, KRISHNAMURTHY R & LIOTTA CL (2013) Production of tartrates by cyanide-mediated dimerization of glyoxylate: a potential abiotic pathway to the citric acid cycle. *J. A. Chem. Soc.* 135, 13440-13445.
- MÜLLER UF & TOR Y (2014) Zitronensäure und die RNA-Welt. *Angew. Chem.* 126, 5346-5348.
- SZOSTAK JW (2012) The eightfold path to non-enzymatic RNA replication. *J. Syst. Chem.* 3:2

Die Suche nach der Nadel im Heuhaufen

Modelle zur Lebensentstehung müssen u.a. die Frage nach der Herkunft der Enzyme plausibel beantworten. Proteine, die durch ihre Struktur in der Lage sind, biochemische Reaktionen zu katalysieren, müssen früher oder später zur Verfügung stehen. Moderne Labormethoden ermöglichen Synthesen von Protein-Bibliotheken mit einer unüberschaubaren Vielfalt an Proteinen, die sich in ihrer Sequenz unterscheiden. Welche Hinweise liefern die bisherigen Erkenntnisse für eine mögliche Entstehung erster funktionsfähiger Proteine?

Matti Leisola

Enzyme sind dadurch charakterisiert, dass sie komplexe molekulare Prozesse des Stoffwechsels mit hoher Spezifität und Effektivität katalysieren. Könnten Menschen Proteine auf vergleichbarem Niveau entwickeln, würde dies erstaunliche Möglichkeiten in der Biotechnologie eröffnen, z. B. Enzyme zur Synthese ganz spezieller Produkte oder zum gezielten Abbau von Problemstoffen. Als besondere Herausforderung erscheint bei Enzymen, dass trotz der Größe ihrer Struktur die eigentliche katalytische Aktivität auf einen kleinen Bereich der Gesamtstruktur begrenzt ist. Ein Protein durchschnittlicher Größe ist aus ca. 300 Aminosäuren aufgebaut, die in einer riesigen Zahl von Variationen (20^{300}) kombiniert werden können. Diese enorme Vielfalt stellt den Sequenzraum dar (Abb. 1). Die Vorstellung, dass katalytische Aktivität unter zufällig angeordneten Polypeptiden (lange Kettenmoleküle aus Aminosäuren) ziemlich häufig auftreten könnte, geht zurück auf die Arbeit von Sidney Fox über Protein-Mikrosphären in den 1950er

Jahren (FOX & KAORU 1958). Wie ist diese Idee heute, fast 60 Jahre später, zu bewerten? Die bekanntesten neueren Arbeiten, die sich mit dieser Position auseinandersetzen, wurden im Labor des Nobelpreisträgers Jack SZOSTAK seit den frühen 1990er Jahren durchgeführt. 60 Jahre experimentelle Forschung haben uns jedoch dem Ziel nicht näher gebracht, enzymatische Aktivität in Polypeptiden mit zufälliger Sequenz zu finden.

Allgemein stimmen Naturwissenschaftler darin überein, dass nur ein sehr kleiner Teil der möglichen Proteinstrukturen eine für entsprechende Funktionen notwendige dreidimensionale Struktur ausbildet (vgl. Abb. 1). Wie groß dieser Anteil ist, wurde in der Fachliteratur umfangreich diskutiert. Auf der Basis von bekannten Cytochrom C-Sequenzen bestimmte Hubert YOCKEY (1979) diesen Anteil mit 10^{-65} als äußerst gering. REIDHAAR-OLSON & SAUER (1990) errechneten einen Anteil von 10^{-63} . Später leitete Douglas AXE (2004) von seinen Untersuchungen über Penicillin abbauende