



**TURUN
YLIOPISTO**

**Funktionaaliset ribonukleiinihapot
RNA-maailmassa ja nykysolussa**

LuK-tutkielma

Turun yliopisto
Bioteknologian laitos

Biokemia

Helmikuu 2024

Kari Kierikka

Turun yliopisto
Bioteknologian laitos

KARI KIERIKKA: Funktionaaliset ribonukleiinihapot RNA-maailmassa ja nykysolussa

LuK-tutkielma, 21 s.
Biokemia

Helmikuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä.

Nykysoluissa elämän perusfunktioista, eli katalyyseistä ja informaation käsittelystä, vastaa universaali DNA–RNA–proteiini-systeemi. Elämän oletetaan kuitenkin saaneen alkunsa yksinkertaisemmasta systeemistä, RNA-maailmasta.

RNA:n on todistettu pystyvän kehittymään prebioottisen kemian ehdoin, ja sen informationaalinen polymeerirakenne sekä katalyyttiset funktiot mahdollistivat RNA:n itsereplikoituvuuden ja siten tällaisten systeemien evoluution. Puhtaista ribotsyymeistä siirryttiin RNA–peptidi-maailmaan, jossa aminohappojen tuomat lisäedut RNA-replikaattoreille ohjasivat RNA-maailmaa kohti entsyymikatalyysejä, koodattujen proteiinien synteesiä sekä lopulta DNA-genomia.

RNA-maailman vankimpina todisteina pidetään sen molekulaarisia jäänteitä nykysoluissa. Erityisesti ribosomin ja muiden ribotsyymien sekä ribonukleotidipohjaisten pienmolekyyliden keskeinenkin rooli nykysoluissa viittaavat vahvasti aikaisen elämän saaneen RNA:n muodon. Vaikka RNA-maailma-hypoteesi ei ole aukoton, se on todennäköisin, eikä sille ole vakuuttavia vaihtoehtoisia hypoteeseja. Siksi se säilyy edelleen lupaavimpana elämän alkuperäisyyden -teorianä.

RNA:n funktionaalisuus on ollut merkittävässä osassa RNA-maailman evoluution keskeisissä tapahtumissa ja on edelleen osana nykysolujen toimintaa. RNA-maailman ja RNA:n funktioiden tutkiminen saattaa antaa vastauksia myös nykymaailman ongelmiin.

Avainsanat: RNA, RNA-maailma, katalyysejä

Sisällys

1	Johdanto	2
2	RNA:n molekyylirakenne ja katalyyysiaktiivisuus	3
2.1	RNA:n molekyylirakenne.....	3
2.2	Laskostuminen ja katalyyysiaktiivisuuden perusta	4
3	RNA-maailma ja sen evoluutio.....	5
3.1	Prebioottinen kemia.....	5
3.1.1	Prebioottinen nukleotidisynteesi.....	5
3.1.2	Polymerisaatio ja katalyyysiaktiivisuuden herääminen	6
3.2	RNA-replikaattorit.....	7
3.3	RNA-peptidi-maailma	9
3.4	DNA-proteiini-maailma.....	11
4	RNA-maailman molekulaariset jäänteet nykysoluissa.....	12
4.1	Ribotsyymit	12
4.2	Ribokytkimet	13
4.3	Ribonukleotidipohjaiset kofaktorit ja signaalintimolekyylit	14
4.4	Parasiittiset RNA:t.....	15
5	Vastustavat argumentit ja vaihtoehtoiset hypoteesit.....	15
5.1	Riittääkö RNA?	16
5.1.1	Miksi juuri RNA?	16
5.1.2	RNA:n katalyyttinen teho	16
5.2	”Peptidit ensin” -hypoteesi	17
6	Yhteenveto.....	18
	Kirjallisuus	19

1 Johdanto

Solujen biomolekyylit noudattavat kaikkia fysiikan ja kemian lakeja, mutta niiden ainutlaatuinen interaktioverkosto antaa soluille kyvyn käyttää ympäristönsä energiaa ylläpitääkseen omaa homeostaattista tilaansa, käytännössä tarkoittaen metaboliaa, mikä pohjimmiltaan erottaa elämän elottomasta maailmasta. Tähän solut tarvitsevat tiettyjen kemiallisten reaktioiden nopeuttamista, minkä vuoksi solut ja muut biokemiallisesti aktiiviset systeemit ovat riippuvaisia näiden reaktioiden voimakkaasta ja spesifisestä katalyyysistä. Katalyyttisestä tehosta vastaavat entsyymit, joiden rakenne määräytyy DNA-sekvenssin perusteella. Informaatiojärjestelmänä DNA pystyy säilyttämään tietoa katalyyttisten entsyymien tarkasta rakenteesta, tarvittaessa aikaansaamaan tietonsa perusteella uuden entsyymin sekä jakamaan tietoa myöhemmille sukupolville replikoimalla itseään. Näistä kahdesta elämälle tärkeimmästä funktiosta, katalyyysistä ja informaation käsittelystä, vastaa kaikelle nykyelämälle universaali DNA–proteiini-systeemi. DNA:n replikaatio sekä sen sisältämien geenien ekspressio vaatii kuitenkin DNA:n itsensä koodaamia entsyymejä. Tämä elämälle välttämätön riippuvuussuhde johtaakin klassiseen arvoitukseen – kumpi tuli ensin. (Nelson ja muut 2021.)

Koska tällaisen toisistaan riippuvan binäärisysteemin ilmaantuminen samanaikaisesti on erittäin epätodennäköistä, voidaan olettaa elämän alkuaajoilla vallinneen aika, jolloin alkeellinen yksittäinen informaatiopolymeeri pystyi katalysoimaan omaa replikoitumistaan. Yksi molekyyli toimi siten molemmissa elämän perusfunktiossa ja mahdollisti evoluution, joka johti lopulta alkusoluun (engl. *last universal common ancestor*, LUCA) sekä nykyelämän kehittymiseen. (Fine ja Pearlman 2023; Higgs ja Lehman 2015.) 1960-luvulla Alexander Rich, Carl Woese, Francis Crick ja Leslie Orgel viittasivat julkaisuissaan RNA:n kykenevän tähän tehtävään perustuen uusiin löytöihin RNA:n monimuotoisesta rakenteesta. (Fine ja Pearlman 2023; Nelson ja muut 2021; Sankaran 2016.)

1980-luvun alussa julkaistiin kaksi hyvin merkittävää tutkimusta, jotka todistivat näiden spekuloitujen katalyyttisten ribonukleinihappojen eli ribosyymien (engl. *ribozyme*) olemassaolon. Vuonna 1982 Kruger ja muut esittelivät löytämänsä itsesilmukoituvan intronin (engl. *self-splicing intron*) 26S-ribosomaalisesta pre-RNA:sta. Edelleen 1983 Guerrier-Takada ja muut osoittivat tutkimuksessaan RNAasi P:n katalyyttisen osan olevan RNA:ta. Tutkimusryhmien johtajat Thomas Cech ja Sidney Altman saivat katalyyttisten RNA:iden löytämisestä myös kemian Nobel-palkinnon 1989. (Fine ja Pearlman 2023; Nelson ja muut 2021; Sankaran 2016.)

Todisteet RNA:n katalyyttisistä funktioista ja viitteet RNA:n merkityksestä abiogeneesissä johtivat Walter Gilbertin ajatukseen aikaisen elämän kehittymisestä, jossa itsereplikoituva RNA toimi molemmissa elämän perusfunktioissa eikä DNA:ta tai proteiineja siten tarvittaisi tällaisen

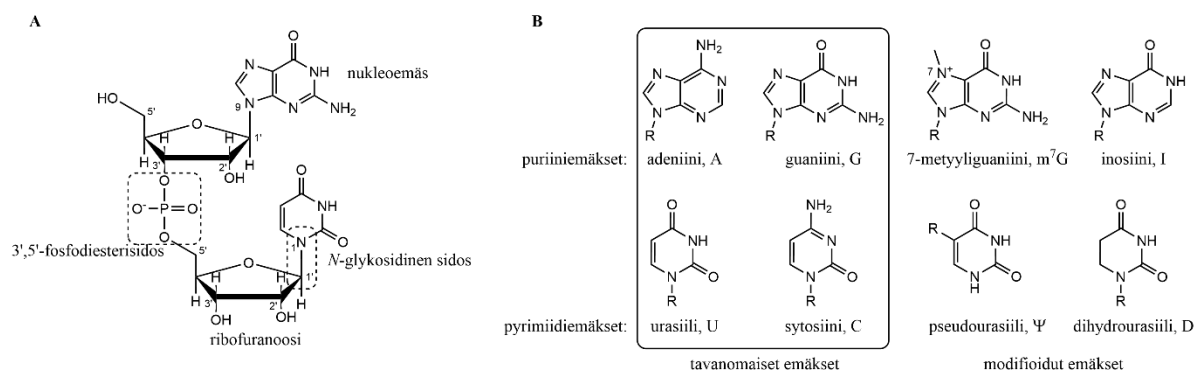
systemin evoluutioon ollenkaan. Hypoteesinsa RNA-maailmasta (engl. *RNA world*), jossa siis katalyyseistä sekä informaation käsittelystä vastasi vain RNA, Gilbert julkaisi *Nature*-lehdessä vuonna 1986, minkä jälkeen se on saanut lisätodisteiden myötä kannatusta ja noussut lupaavimmaksi elämän alkuperästeoriaksi (engl. *Origin of Life, OoL*). (Sankaran 2016.)

Tässä tutkielmassa tutustutaan RNA-maailmaan ja sen evoluution keskeisiin tapahtumiin painottaen RNA:n funktionaalisuutta. Lisäksi havainnollistetaan RNA-maailman jäänteiden roolia nykysoluissa sekä esitellään aiheeseen liittyviä haasteita.

2 RNA:n molekyyli rakenne ja katalyyssiaktiivisuus

2.1 RNA:n molekyyli rakenne

RNA eli ribonukleiinihappo (engl. *ribonucleic acid*, RNA) on ribonukleotideistä koostuva lineaarinen polymeeri, jossa nukleotidit kiinnittyvät toisiinsa 3',5'-fosfodiesterisidoksella. RNA:n runkorakenteessa vuorottelevat fosfaattiryhmä sekä riboosisokeri, jonka 1'-hiileen on liittyneenä jokin nukleoemäs (engl. *nucleobase*) N-glykosidisella sidoksella (**kuva 1A**). RNA:n informaationaalinen osa on nukleoemäsekvenssi, joka määrää suurimmaksi osaksi RNA-molekyylin lopullisen rakenteen ja siten myös funktion. RNA:ssa tavallisesti esiintyviä emäksiä (engl. *canonical bases*) ovat adeniini ja guaniini (puriiniemäksiä) sekä urasiili ja sytosiini (pyrimidiiniemäksiä), mutta rakenteessa voi esiintyä myös monia modifioituja nukleotidejä (engl. *non-canonical bases*) (**kuva 1B**). (Nelson ja muut 2021.)



Kuva 1. RNA:n sekä erilaisten nukleoemästen molekyyli rakenne. A) RNA koostuu peräkkäisistä 3',5'-fosfodiesterisidoksella yhteen liittyneistä ribofuranoosirenkaista, joiden 1'-hiileen on liittynyt myös N-glykosidisella sidoksella jokin nukleoemäksistä. B) Nukleoemäksistä neljä esiintyy tavanomaisesti solujen RNA:ssa. Modifioiduilla emäksillä, joita tässä on esitetty vain muutamia, on erityisiä tehtäviä RNA:n laskoksen stabiloinnissa sekä katalyyttisissä funktioissa. Emäksiä merkitään sekvensseissä 5'→3'-suunnassa yleensä niiden yksikirjaimisilla lyhenteillä. (Nelson ja muut 2021.)

2.2 Laskostuminen ja katalyyssiaktiivisuuden perusta

DNA:n tavoin RNA:n puriini- ja pyrimidiiniemäkset voivat pariutua niiden välisillä vetysidoksilla. Perinteisten Watson–Crick-parien (A=U, G=C) lisäksi RNA:ssa esiintyy G=U-pareja (**kuva 2A**; merkitty pisteellä kahden juosteen välissä), ja riboosin 2'-hydroksyyliiryhmän, fosfodiesterisidosten happien sekä epätavallisten emästen välillä voi esiintyä monimutkaisempia vetysidosverkostoja. Myös puriiniemästen pinoutumista (engl. *base-stacking*) aiheuttavat Van der Waalsin vuorovaikutukset ovat merkittävässä osassa. Kaikkien näiden vuorovaikutusten stabiloimana RNA laskostuu voimakkaaseen sekundääri- ja tertiäärirakenteeseen (**kuva 2A**; **kuva 2B**), joka DNA:sta poiketen on usein enemmän globulaarinen kuin lineaarinen. Intramolekulaariset antiparalleelit komplementaariset sekvenssit muodostavat A-tyypin oikeankätisen kaksoiskierteen, ja jos tällaisen sekvenssiparin erottaa vain muutama emäs, voi muodostua hiusneularakenne (engl. *hairpin*). Kaksoiskierrerakenteesta voi erottua yksittäisen emäksen pullistumia (engl. *bulge*) ja laajempia sisäisiä silmukkarakenteita (engl. *internal loop*). Tämän lisäksi rakenteissa voi esiintyä myös yksijuosteisia alueita. (**kuva 2A**). (Nelson ja muut 2021.)



Kuva 2. Ribonukleaasi P:n eli RNAasi P:n rakenne ja toiminta. A) Tasoitettu sekundäärilaskos. Katalyyttinen domeeni on esitetty punertavalla sävyllä ja spesifiteetin aikaansaava domeeni keltaisella. B) RNAasi P:n kolmiulotteinen rakenne kiinnittyneenä pre-tRNA-substraattiin (vihreä). RNAasi P on ribonukleoproteiini, mutta tässä proteiini-osaa ei ole esitetty. Proteiini-osaa ei ole täysin välttämätön ribotsyymin toiminnalle, mutta se helpottaa substraatin assosiaatiota alentamalla repulsiivisia vuorovaikutuksia. C) RNAasi P:n katalyyttinen mekanismi perustuu ribotsyymin ja kofaktoreina toimivien Mg²⁺-ionien vuorovaikutukseen transiitotilan kanssa. Vuorovaikutukset stabiloivat hydrolysoitavan fosfodiesterisidoksen hapen (R_p) varausta sekä aktivoivat hyökkäävän nukleofiilin ja lähtevän ryhmän. RNAasi P katkaisee pre-tRNA:sta lyhyen 5' *leader*-sekvenssin, joka toimii tässä siis lähtevänä ryhmänä. (Kuvat muokattu lähteestä Reiter ja muut 2010.)

Ribotsyymejä on tukittu niiden löytymisestä lähtien hyvin aktiivisesti, ja näiden 40 vuoden aikana RNA:n katalyyttinen repertuaari on osoitettu hyvin laajaksi synteettisten ribotsyymien avulla. Ribotsyymit ovat keskiössä RNA-maailmassa, mutta niillä on merkitystä myös nykysoluissa (kts. luku 4.1). Kuten entsyymeillä, myös ribotsyymeillä tietty kolmiulotteinen laskos on välttämätön

katalyyttiselle aktiivisuudelle ja denaturointi eli RNA:n ”sulaminen” inhiboi katalyyysin täydellisesti. Ribotsyymien katalyysiteho perustuu entsyymien tavoin transitiotilojen stabilointiin (**kuva 2C**) ja reaktioentropian reduktioon, jotka laskevat tarvittavaa aktivaatioenergiaa. Ribotsyymit ovat substraatilleen spesifisiä ja ne noudattavat samoja kineettisiä malleja kuin entsyymit. (Nelson ja muut 2021.)

3 RNA-maailma ja sen evoluutio

3.1 Prebioottinen kemia

Orgaanisten yhdisteiden esiintyminen soluissa ja jokapäiväisen ympäristömme materiaaleissa vääristää helposti käsitystä niiden yleisyydestä prebioottisella maapallolla. Biosfäärin autotrofiset nykysolut, kuten kasvit ja syanobakteerit, pystyvät tuottamaan itsensä ja muiden eliöiden tarvitsemat biomolekyylit epäorgaanisista lähtöaineista, kuten vedestä, hiilidioksidista ja ammoniakista, mutta tähän vaaditaan jo toimivia biomolekyylejä, kuten proteiineja (entsyymejä) ja pienempiä orgaanisia yhdisteitä. (Nelson ja muut 2021.) Biokemiallisesti relevanttien orgaanisten molekyylien, kuten RNA:n monomeerien, muodostuminen ja polymerisaatio spontaanisti prebioottisissa olosuhteissa on siksi lähtökohtainen osa RNA-maailma-hypoteesia yhtä lailla kuin muitakin elämän alku -teorioita. (Fine ja Pearlman 2023.)

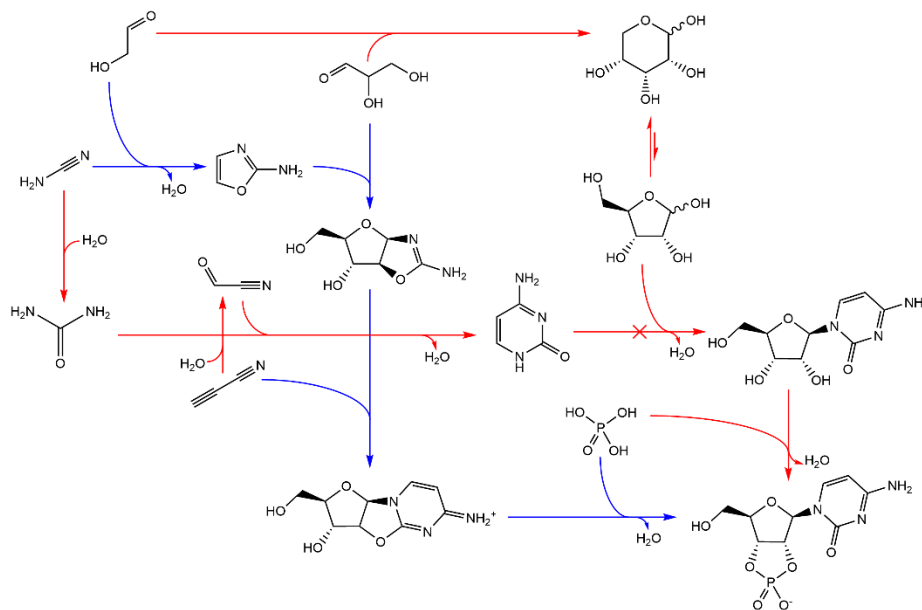
3.1.1 Prebioottinen nukleotidisynteesi

Yksinkertaisten orgaanisten yhdisteiden, kuten amino- ja hydroksihappojen, aldehydien ja nitrilien, on todistettu pystyvän muodostumaan spontaanisti aikaisen maapallon pienistä epäorgaanisista molekyyleistä, kuten metaanista (CH_4), ammoniakista (NH_3), vedestä (H_2O), vedystä (H_2), hiilimonoksidista (CO) ja hiilidioksidista (CO_2) silikaattikatalyyttisesti. Kuuluisassa Miller–Urey-kokeessa käytettiin aktivoitumisenergian lähteenä sähköpurkauksia, ja aikaisella maapallolla näihin reaktioihin tarvittavan aktivaatioenergian oletetaan olevan peräisin salamoinnin lisäksi myös muista luonnonvoimista, kuten voimakkaasta ultravioletisäteilystä, geo- ja hydrotermisistä lähteistä, tulivuorenpurkauksista sekä erilaisten taivaankappaleiden törmäyksistä maahan. (Criado-Reyes ja muut 2021; Fine ja Pearlman 2023; Miller 1953; Miller ja Urey 1959; Nelson ja muut 2021.)

RNA:n rakenteessa (kts. luku 2.1) esiintyvien kahden hyvinkin erilaisen molekyylin muodostuminen samaan paikkaan ja samaan aikaan (engl. *one-pot reaction*) on todettu epätodennäköiseksi. Sokerin ja typpipitoisen emäksen (engl. *nitrogenous base*) muodostumiseen vaaditaan kaksi fysikaalisesti ja kemiallisesti erilaista ympäristöä, joiden eroavat ominaisuudet, kuten lähtöaineet ja epäorgaaniset katalyytit, suosivat vain tiettyjen orgaanisten molekyylien

muodostumista. *N*-glykosidisen sidoksen muodostuminen on myös osoittautunut haasteelliseksi. (Nelson ja muut 2021; Wachowius ja muut 2017.)

Nukleotidien prebioottiselle synteesille on esitetty siksi muita, nykyään jopa todennäköisempinä pidettyjä, kemiallisia reittejä, joissa sokerin ja nukleoemäksen sisältämä rakenne muodostuu yhtäaikaaisesti aktiiviseksi nukleosidiksi amino-oxazolinivälituotteen kautta ilman kyseisten osien erillistä synteesiä ja kondensoitumista (**kuva 3**). Myös puriini- ja pyrimidiiniemästen samanaikainen prebioottinen synteesi tällä tavalla on todettu mahdolliseksi. (Becker ja muut 2019; Powner ja muut 2009.)



Kuva 3. Nukleotidien prebioottisen synteesin vaihtoehtoiset reaktiotiet. Nukleotidi β -ribosytidiini-2',3'-syklofosfaatin muodostuminen ilman nukleoemäs- ja ribosiosan erillistä kondensaatiota vaativaa reaktiota (siniset nuolet) pidetään todennäköisempänä kuin aikaisemmin oletettua reaktiotietä (punaiset nuolet), sillä ribosin spesifinen muodostuminen ja sen konjugoituminen nukleoemäksen kanssa on tehotonta tai sitä ei tapahdu ollenkaan. (Kuva muokattu lähteestä Powner ja muut 2009.)

3.1.2 Polymerisaatio ja ensimmäiset katalyyttiset RNA:t

Nukleotidien kondensaatioreaktio RNA-polymeeriksi on lähtökohtaisesti epäsuotuisa reaktio korkean aktivaatioenergian ja entropian vähenemisen vuoksi, joten jonkin katalyyttisen osan oletetaan olleen osallisena myös tässä prebioottisessa tapahtumassa. Potentiaalisena vaihtoehtona on pidetty montmorilloniittisaven ja nukleoemästen pinoutumisen aikaansaamaa polymerisaatiota suosivaa orientoitumista, joka laskee vaadittavaa aktivoitumisenergiaa ja tuottaa lyhyitä oligonukleotidejä. Eutektisen seoksen ja lipidivesikkeliin aiheuttama lokerointi (engl. *compartmentalization*) on voinut mahdollistaa myös suhteellisen korkean nukleotidi- ja magnesiumionikonsentraation kertymisen, mikä edesauttoi polymerisoitumista ja stabiloi muodostuvaa polymeeriä. Ilman valmista RNA-templaattia (engl. *non-templated*) on näin voinut

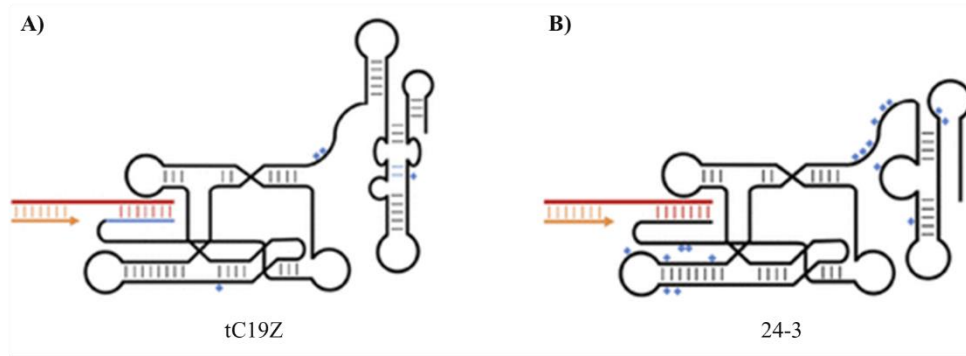
muodostua jopa 20–50 nukleotidin pituisia satunnaisia oligonukleotidejä. (Fine ja Pearlman 2023; Wachowius ja muut 2017.)

Funktionaalisten ribotsyymien löytyminen satunnaisten nukleotidien joukosta on toki epätodennäköistä, mutta todistetusti mahdollista. Käyttämällä kiihdytettyä *in vitro* -evoluutiota (engl. *systematic evolution of ligands by exponential enrichment*, SELEX) satunnaisten RNA-sekvenssien joukosta on onnistuttu löytämään monia lyhyitä ribotsyymejä. Katalyyssiaktiivisuus ei välttämättä vaadi pidempää sekvenssiä, kuin mitä prebioottisesti voi muodostua. Esimerkiksi jo viiden nukleotidin sekvenssi (GUGGC) voi katalysoida toisen RNA-juosteen aminoasylointia (Turk ja muut 2010), joten katalyyttisestikin aktiivisia RNA:ita on voinut nousta esiin prebioottisen kemian seurauksena. (Fine ja Pearlman 2023; Nelson ja muut 2021; Wachowius ja muut 2017.)

3.2 RNA-replikaattorit

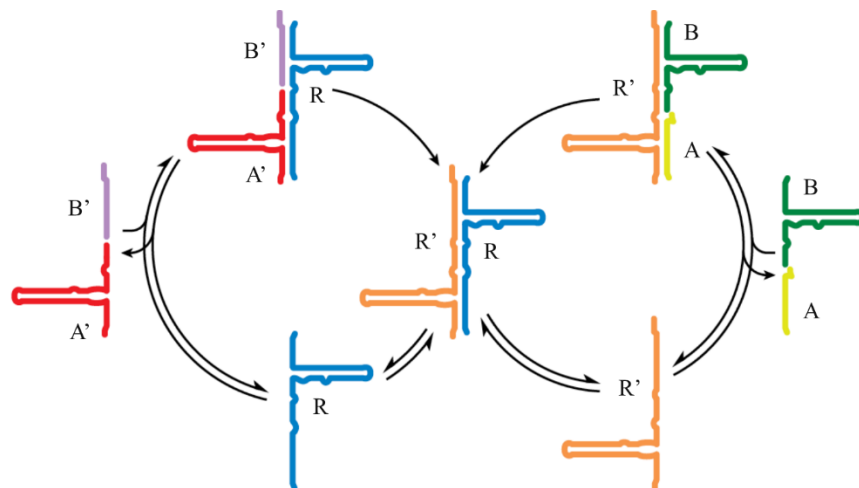
Prebioottisesta kemiasta siirryttiin RNA-maailmaan ensimmäisten RNA-pohjaisten replikaattoreiden (engl. *replicator*) ilmentyessä. RNA-replikaattori on systeemi, jossa RNA replikoituu autokatalyyttisesti. Periytyvä replikaatiotehokkuus määrää replikaattorin kelpoisuuden (engl. *fitness*) ja replikaattori voi siten altistua luonnonvalinnalle. Replikaatiovirheet ja nykysolujenkin kaltaiset mutaatiomekanismit aiheuttivat replikaattori-populaatioihin lisäksi vaihtelua. Yhdessä geneettinen muuntelu ja replikaatiossa periytyvät alkeelliset ominaisuudet mahdollistavat tällaisten entiteettien darwinistisen evoluution. Replikaattorit täyttävät siten elämän primitiivisimmät kriteerit: metabolian ja evoluution. (Fine ja Pearlman 2023; Nelson ja muut 2021; Wachowius ja muut 2017.)

Visiona tehokkain ratkaisu RNA-replikaattorille olisi niin kutsuttu yleinen RNA-polymeraasi (engl. *general RNA polymerase*), joka katalysoi RNA:n muodostamista RNA-ohjatusti riippumatta alkuperäisestä sekvenssistä nykysolujen RNA-polymeraasientsyymien tavoin. Itsensä kopioimisen lisäksi tällainen RNA-polymeraasiribotsyymi (engl. *RNA polymerase ribozyme*, RPR) pystyisi myös kopioimaan muita RNA-sekvenssejä, esimerkiksi välttämättömiksi ajateltujen nukleotidien synteesiä katalysoivia ribotsyymejä. Yleistä RPR:ää, joka katalysoisi oman aktiivisen muotonsa replikaatiota, ei kuitenkaan ole löydetty. Polymeerasien yleistä aktiivisuutta haastavat monet tekijät, joista merkittävimmät liittyvät templaattiin, jonka vaaditaan usein olevan laskostumaton ja sekvenssin suotuisa tietylle polymeerasille. Myös kopioinnin tarkkuus (engl. *fidelity*) on tuottanut ongelmia. Kuitenkin ainakin osittain näitä haasteita ohittavia RNA-polymeraasiribotsyymejä on kehitetty (**kuva 4**). Esimerkiksi yksi uusimmista RPR-ribotsyymeistä, 38-6, pystyy katalysoimaan oman rakenteellisen esi-isänsä replikaatiota (Tjhung ja muut 2020), mikä vahvistaa käsitystä yleisen RPR:n olemassaolosta. (Fine ja Pearlman 2023; Portillo ja muut 2021.)



Kuva 4. RNA-polymeraasiribotsyymejä. A) Ensimmäinen kehitetty todellinen RNA-riippuvainen RNA-polymeraasiribotsyymi kehitettiin mutatoimalla R18-ribotsyymiä ja yhdistämällä kaksi eri mutanttia yhdeksi ribotsyymiksi. tC19Z kykenee katalysoimaan 95 nt pituisen templaatin ja aktiivisen *hammerhead*-ribotsyymien replikointia tietyin ehdoin. (Wochner ja muut 2011.) B) Samasta kantamuodosta kehitetyn 24-3 ribotsyymien katalyyttinen tehokkuus on noin 100-kertainen. (Horning ja Joyce 2016.) RNA-templaatti on merkitty kuvaan punaisella ja aluke oranssilla. (Kuva muokattu lähteestä Janzen ja muut 2020.)

Vaikka lyhyitä funktionaalisia RNA:ita voi kehittyä prebioottisesti, ei sekvenssiltään pidempiä RPR:iä kuitenkaan todennäköisesti saada aikaan tällä tavoin. Pidempien sekvenssien voidaan olettaa muodostuneen lyhyiden RNA-oligomeerien ligoitiossa, jota katalysoi pienet ligoasiribotsyymit. Näin muodostuneiden modulaaristen kompleksien ja hybridien muodostumista pidetään mahdollisena tapana saada lyhyiden RNA:iden reservistä aikaiseksi pidempiä funktionaalisia ribotsyymejä, kuten RNA-polymeraasiribotsyymejä. Edelleen ligoasiaktiivisuutta voidaan pitää myös päätekijänä alkeellisemmässä replikaattorityyppissä, autokatalyyttisessä sarjassa (engl. *autocatalytic set*) (**kuva 5**). (Briones ja muut 2009; Fine ja Pearlman 2023; Lincoln ja Joyce 2009; Wachowius ja muut 2017.)

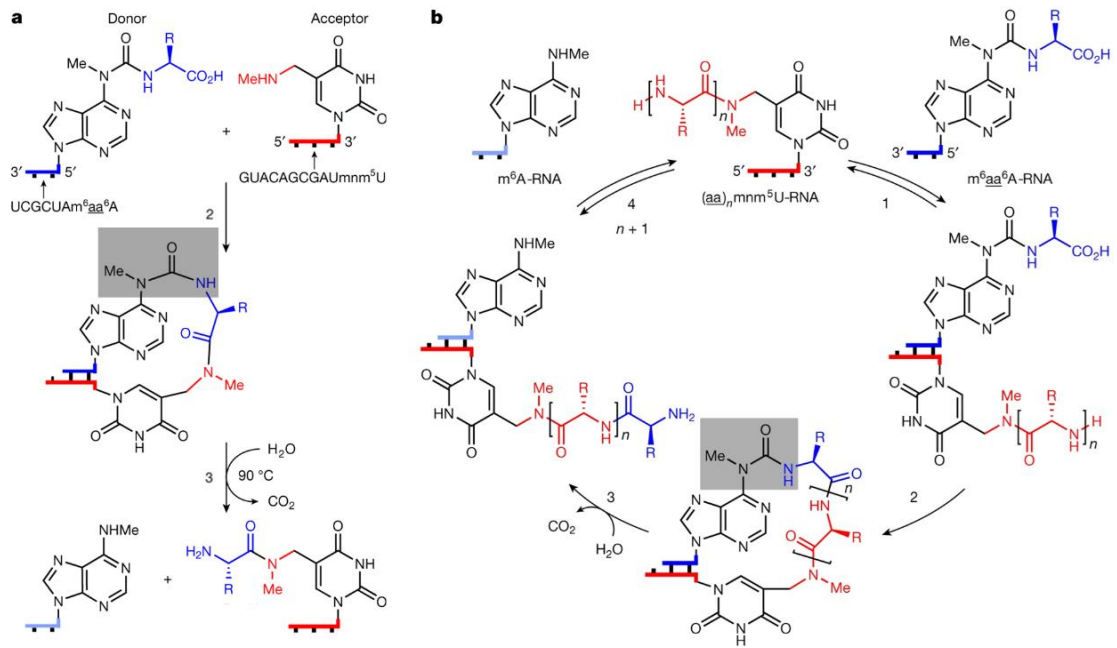


Kuva 5. Autokatalyyttinen sarja. Sarja koostuu kahdesta tai useammasta ribotsyymistä, jotka katalysoivat jonkun toisen sarjan ribotsyymien muodostumista, ja siksi vain kokonainen sarja voi replikoitua. Yksinkertaisimmillaan tällainen systeemi voi muodostua kahdesta ligoasiribotsyymistä (R ja R'), jotka katalysoivat toistensa muodostumista liittämällä vastaavat prekursorit (A ja B sekä A' ja B') yhteen. (Kuva muokattu lähteestä Lincoln ja Joyce 2009.)

3.3 RNA–peptidi-maailma

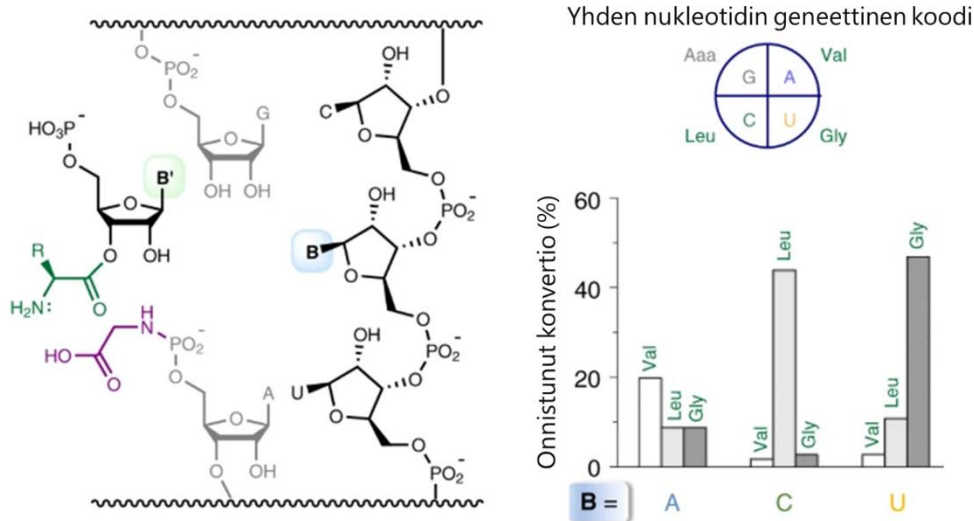
Nykysoluissa ribosomi vastaa geneettisen koodin kääntämisestä funktionaaliseksi proteiineiksi. Ribosomin katalyyttinen osa, peptidyilin siirtokeskus (engl. *peptidyl transfer center*, PTC) koostuu RNA:sta, ja sen toiminta on riippumatonta mRNA:sta, tRNA:sta tai nykyribosomin rakenteellisista proteiineista. Siksi ribosomin kehityksen on oletettu alkaneen vain alkeellista proteiinisynteesiä katalysoivana ribotsyyminä. Juuri ribosomin RNA-keskeisyys todistaa hyvin vakuuttavasti RNA-maailma-hypoteesin perusolettamuksen siitä, että RNA edelsi koodattuja proteiineja. (Fine ja Pearlman 2023; Polacek ja Mankin 2005.)

Tiellä kohti alkeellista ribosomia ja translaation kehittymistä esiintyi hyvin todennäköisesti koodaamatonta peptidisynteesiä katalysoivia ribotsyymejä. Nämä ribotsyymit mahdollistivat erilaisten RNA–peptidi-kimeerirakenteiden ja ribonukleoproteiinien (engl. *ribonucleoprotein*, RNP) muodostumisen. Mielenkiintoisesti RNA:n on todistettu myös pystyvän ”koristelemaan” itsensä peptidirakenteilla autokatalyyttisesti (**kuva 6**). Aminohappotähteet ja oligopeptidit laajensivat todennäköisesti ribotsyymien katalyyttistä repertuaaria ja lisäsivät niiden tehokkuutta merkittävästi. Kationisten oligopeptidien, kuten lyysiini- ja ornitiinidekapeptidien, on todettu edesauttavan RNA:n laskostumista, stabiloivan ribotsyymien rakenteita ja tehostavan katalyyysiä toimimalla vastaionina (engl. *counterion*) RNA:n negatiivisesti varatulle fosforiboosirungolle. Kationiset peptidit myös vähentävät magnesiumionien tarvetta stabiilin RNA-laskoksen muodostumisessa, mikä puolestaan sallisi lipidimembraaniin suljettujen (lokeroitujen) protosolujen muodostumisen. RNA:n ja peptidien koevoluution alkua oli siten merkittävä virstanpylväs RNA-maailman evoluutiossa, ja siksi puhutaankin siirtymisestä RNA–peptidi-maailmaan. (Fine ja Pearlman 2023; Jash ja muut 2021; Müller ja muut 2022; Wachowius ja muut 2017.)



Kuva 6. Autokatalyyttinen RNA–peptidi-kimeerin synteesireitin initiaatio (a) ja elongaatio (b). Terminaalisen modifioidun emäksen (*N*⁶-metyyliadenosiini, m⁶A; 5-metyyli-aminometyyli-uridiini, mnm⁵U) sisältävät komplementaariset RNA-sekvenssit (sininen ja punainen nauha) voivat pariutua (vaihe 1). Sekvenssien pariutuminen tuo reagoivat mnm⁵U:n aminoryhmän ja m⁶aa⁶A:n karboksyyli-ryhmän lähekkäin, mikä edistää peptidisidoksen muodostumista (vaihe 2). Urealinkityksen (harmaalla pohjalla) hajotessa mnm⁵U:iin on konjugoitunut uusi aminohappo (vaihe 3). Tyhjän m⁶A:n sisältämän RNA:n dissosioituttua (vaihe 4) sykli voi jatkua, kun jo peptidikonjugoitunut mnm⁵U ((aa)_nmnm⁵U) pariutuu uuden m⁶aa⁶A:n kanssa (vaihe 1). (Kuva muokattu lähteestä Müller ja muut 2022.)

Monimutkaisuudessaan surullisen kuuluisan translaation evoluutio, on ollut aktiivisen tutkimuksen kohteena erityisesti viime vuosina. Eräs uusi elegantti skenaario translaation kehityksen alulle on yhden nukleotidin translaatio, joka jäljittelee hyvin jopa nykysolujen mRNA:n ja tRNA:n rooleja (**kuva 7**). Kuitenkin kokonaisuudessaan koodattujen proteiinien, translaation ja siihen liittyvän molekulaarisen koneiston sekä koko muun RNA–peptidi-maailman evoluutio on vielä hyvin epäselvää, ja siksi siihen liittyvää lisätutkimusta tarvitaan. (Fine ja Pearlman 2023; Jash ja muut 2021.)



Kuva 7. Alkeellinen translaatiokoneisto. Templaattijuosteeseen pariutuva fosforamidaatti-linkitetty aminoasidyylä oligonukleotidi (violetti, kokonaisuudessaan 7 nukleotidiä) ja 3'-aminohappoesteröitynyt nukleotidimonofosfaatti (vihreä) muodostavat reagoidessaan dipeptidin. Liitettävä aminohappo vaihtelee 3'-aminohappoesteröityneen nukleotidin emäksen ja templaatin välisen pariutumisen mukaan (B' ja B) samaan tapaan kuin tRNA:n antikodoni pariutuu mRNA:n kodonin kanssa translaatiossa. Erilaisten 3'-aminohappoesteröityneiden nukleotidien joukosta tietyn emäksen ja aminohapon sisältämät molekyylit reagoivat toisia yleisemmin (konvertioprosentti), minkä perusteella valikoi yhden nukleotidin geneettinen koodi. (Kuva muokattu lähteestä Jash ja muut 2021.)

3.4 DNA–proteiini-maailma

Aminohappojen monimuotoisuuden tuoma katalyyttinen lisäteho todennäköisesti kuljetti RNA-maailmaa kohti aikaa, jossa RNA:n tehtävät vähenivät enemmän vain informaationaliseksi ja peptidit korvasivat metaboliaan liittyvät katalyyttiset funktiot. Koska proteiinitkin turvautuvat kofaktorien apuun (luku 4.3), on esitetty, ettei katalyyttinen teho tai edes stabiilimpi rakenne olleet ainoita syitä tähän transitiioon. RNA:n polaariset nukleoemäkset ja polyanioninen fosforiboosirunko estävät hydrofobisten vuorovaikutuksien muodostumisen. Siten esimerkiksi RNA-pohjaisten integraalisten membraanirakenteiden, kuten reseptorien ja kuljetusmolekyylien, muodostuminen on lähes mahdotonta. Lisäksi poolisessa ympäristössä hyvin epävakaita intermediaatteja sisältävien reaktioiden katalyyysi ribotsyymeillä on erittäin vaikeaa. Proteiinientsyymien funktionaalinen skaala niin katalyyttisesti kuin rakenteellisestikin ajoittain entsyymien yleistymistä RNA:n väistyessä enemmän informaationaliseen asemaan. Todennäköisenä pidetään sitä, että koodattujen proteiinien katalyyysiaktiivisuus kehittyi erikseen, ja ne korvasivat vähitellen RNA:n tehtäviä. (Fine ja Pearlman 2023; Forster 2022; Nelson ja muut 2021.)

DNA:n 2'-deoksiribonukleotidit sekä tiukempi ja vakaampi kaksoiskierrerakenne antavat DNA:lle merkittävää kemiallista stabiiliutta, mikä luultavimmin puolsi genomien siirtymistä DNA:han. RNA:n korvautuminen DNA:lla on kuitenkin vielä epäselvää niin tapahtumien

järjestyksen kuin mekanismienkin osalta. Vaikka RNA:sta koostuva kääntämisestä vastuussa ollut käänteinen transkriptaasi on evolutiivisesti yksinkertaisin skenaario, ei rakenteen polymeerityypistä voida olla varmoja. Koska DNA-replikaasiin ja RNA-transkriptaasiin rakenteista ei löydy viitteitä aikaisempaan RNA-rakenteisuuteen samoin kuin esimerkiksi spliseosomissa ja polymeeraaseissa, on oletettu, että ne ovat olleet alun alkaen proteiinirakenteisia. Hyvin todennäköisesti RNA:sta siirryttiin vaiheittain DNA:han, ja vasta suurien määrien DNA:n ollessa läsnä, kehittyi DNA:n replikoitumiseen ja transkriptioon vaadittavat ribotsyymit ja/tai entsyymit, minkä jälkeen siirryttiin nykyelämän kaltaiseen tertiäärisysteemiin. (Fine ja Pearlman 2023.)

Kuten jo todettua, on epävarmaa, miten RNA-peptidi-maailmasta siirryttiin nykysolun kaltaiseen DNA-proteiini-systeemiin. Mikä kuitenkin on selvää, entsyymien ja lopulta DNA:n ilmentyminen päätti RNA-maailman, ja loi perustan alkusolulle ja sen kautta kaikelle nykyelämälle. Alkusoluun kehittynyt DNA-proteiini-systeemi periytyi kaikille jälkeläisilleen ja toimii edelleen jokaisessa tämän maapallon solussa. (Fine ja Pearlman 2023; Nelson ja muut 2021.)

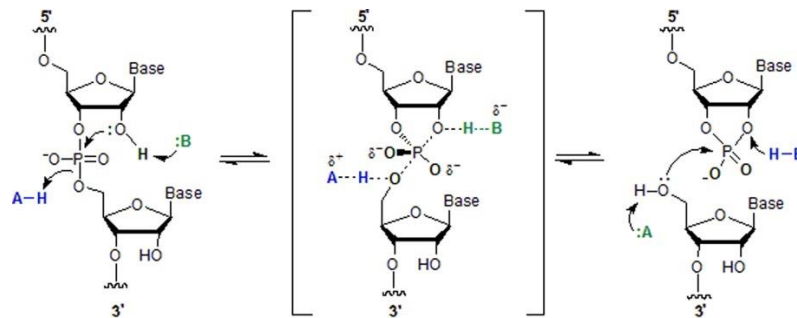
4 RNA-maailman molekulaariset jäänteet nykysoluissa

Vaikka RNA-maailma-hypoteesi ei välttämättä kerro RNA:n olleen ensimmäinen tai ainut katalyyttisen ja informaationaalisen funktion omaava polymeeri, nykysoluissa esiintyvät molekulaariset jäänteet (engl. *molecular relics*; *molecular fossils*) osoittavat RNA:n olleen vähintään osa aikaista ja yhteistä elämän alkua. Nykysolussa esiintyvät funktionaaliset koodaamattomat RNA:t (engl. *non-coding RNA*, ncRNA) toimivat useassa geeniekspressioon liittyvässä tehtävässä, kuten silmukoitumisessa, translaatiossa ja RNA-interferenssissä. Erikoisempaan asiana nykysoluista löytyy myös aitoja ribotsyymejä, ribokytymiä, ribonukleotidipohjaisia kofaktoreja ja signaalintimolekyylejä sekä parasiittisia RNA:ita. Voidaan sanoa, ettei RNA-maailma todellisuudessa hävinnyt kokonaan. (Fine ja Pearlman 2023; Goldman ja Kacar 2021; Higgs ja Lehman 2015.)

4.1 Ribotsyymit

Nykysoluista löytyvät aktiiviset ribotsyymit voidaan jakaa pieniin sekä isoihin ribotsyymeihin. Pieniä ribotsyymejä ovat *hammerhead-* (HHR), *hairpin-* (HR), Varkud-satelliitti- (VS), hepatiitin delta-agenssi- (engl. *hepatitis delta virus*, HDV), *glmS-* ja *twister-*ribotsyymit, joiden katalyyysiaktiivisuus perustuu yleiseen happo-emäs-katalyyysiin (**kuva 8**). Suuret ribotsyymit ovat ribonukleoproteiini-komplekseja, joihin kuuluu luokan I ja II itsesilmukoituvat intronit (engl. *group I/II self-splicing intron*), ribonukleaasi P (**kuva 2**) ja spliseosomi (engl. *spliceosome*), joiden katalyysimekanismi perustuu kahden metallikationin sitomiseen (**kuva 2** **Error!**

Reference source not found.) Kaikki nämä ribotsyymit ovat nukleolyyttisiä, eli ne hajottavat RNA:n fosfodiesterisidoksia. Suurin suurista ribotsyymeistä on ribosomi, jolla on ainutlaatuinen peptidyyliinsiirtoaktiivisuus (kts. luku 3.3). (Fine ja Pearlman 2023; Wachowius ja muut 2017.)



Kuva 8. Pienten ribotsyymien katalyysi perustuu yleiseen happo-emäs-katalyysiin. Yleinen emäs (B, vihreällä) deprotonoi hyökkäävän 2'-hydroksyyliiryhmän ja yleinen happo protonoi lähtevän 5'-oksidianioniryhmän lyytteisessä reaktiotiessä (vasemmalta oikealle). Vastaavasti näiden konjugaatit toimivat ligaatioissa päinvastaisissa rooleissa (oikealta vasemmalle). (Kuva lähteestä Wachowius ja muut 2017.)

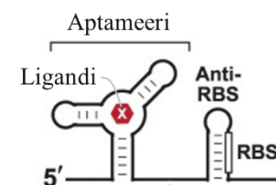
4.2 Ribokytkimet

2000-luvun alussa, tehtiin merkittävä löytö uudesta solujen mRNA:n ominaisuudesta: ligandin sitoutuminen mRNA:han aiheutti konformaatiomuutoksen, joka vaikutti geenin ekspressioon (**kuva 9**). Tällaisten ribokytkimien (engl. *riboswitch*) toiminnan tulos vaihtelee geenistä toiseen. Ligandin läsnäolo tai puuttuminen voi aiheuttaa muutoksen transkription ja translaation etenemisessä (**kuva 9**) tai vaihtoehtoisessa silmukoinnissa. Harvinaisemmin ligandin sitoutuminen vaikuttaa RNA-interferenssiin tai RNA:n stabiiliuteen. (Fine ja Pearlman 2023; Kavita ja Breaker 2023.)

A) Transkription säätely



B) Translaation säätely



Kuva 9. Ribokytkimien toimintaperiaate. A) Ligandin sitoutuminen transkriptoitavan mRNA:n apatameeriosaan saa aikaan muodostuvaan mRNA:han prokaryoottisen rho-tekijästä riippumattoman transkription terminaation aiheuttavan rakenteen (terminaattori). Jos ligandia ei ole läsnä, geenin transkriptointi jatkuu normaalisti. B) Ligandin sitoutuminen voi vaikuttaa sytoplasmiaan kuljetettavan mRNA:n rakenteeseen siten, että ribosomin kiinnittymispaikka (engl. *ribosome binding site*, RBS) ei ole ribosomin pienen alayksikön tunnistettavissa. (Kuva muokattu lähteestä Kavita ja Breaker 2023.)

Ligandia sitovien mRNA:iden lisäksi luonnollisia aitoja ribokytkin-ribotsyymejä, eli allosteerisia ribotsyymejä, on löydetty vain yksi (*glmS* vaatii glukosamiini-6-fosfaatin sitoutumisen toimiakseen), mutta synteettisesti ribotsyymien ja ribokytkimien fuusiolla on aikaansaatu useampia tapauksia. Metabolisesti aktiivisia ribotsyymejä tarvitaan erityisesti ribonukleotidien synteesissä takaamaan tarvittavan nopea RNA-molekyylien replikointi. Tämän vuoksi erilaisten metabolisten ribotsyymien osallistuminen RNA-maailman evoluutioon on jopa todennäköistä. Allosteeriset ribotsyymit, jossa siis ligandin sitoutuminen aiheuttaa muutoksen RNA:n funktioon, ovat voineet toimia alkeellisena signaalintijärjestelmänä metabolisen tilan ja genomien välillä säädellen esimerkiksi metabolisten ribotsyymien replikaatiota RNA-maailmassa. (Fine ja Pearlman 2023; Kavita ja Breaker 2023; Nelson ja Breaker 2017.)

4.3 Ribonukleotidipohjaiset kofaktorit ja signaalintimolekyylit

Jo vuonna 1976 Harold White huomasi, että nykysoluissa entsyymien katalyysitehoa laajentavat kofaktorit sisältävät ribonukleotidien rakenteita. Hän esitti ajatuksensa siitä, että kofaktorit jäivät jäljelle entsyymien aktiivisiin keskuksiin, kun proteiinit korvasit ribotsyymien muun rakenteen. Kofaktorit voivat olla epäorgaanisia tai orgaanisia ei-proteiinirakenteisia osia, joista jälkimmäisiä kutsutaan yleisesti myös koentsyymeiksi. (Goldman ja Kacar 2021; Nelson ja muut 2021.)

Adenosiinitrifosfaatti (engl. *adenosine triphosphate*, ATP) on solulle hyvin tärkeä molekyyli. Sen hydrolyysi on linkittynyt solujen endergonisiin reaktioihin tehden niistä spontaaneja, ja ATP:lta siirretty fosfaattiryhmä vaikuttaa merkittävästi metaboliareittien säätelyyn muuttamalla entsyymien rakenteita aktiiviseen tai inaktiiviseen muotoon. ATP:ta käytetään myös RNA:n synteesissä. Muita solulle tärkeitä adenosiinin sisältämiä koentsyymejä ovat niin energiametaboliaan kuin kataboliaankin osallistuvat elektroninsiirtäjät nikotiiniamidiadeniini-dinukleotidi(fosfaatti) (engl. *nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)*, NAD(P)) ja flaviiniadeniini-dinukleotidi (engl. *flavin adenine dinucleotide*, FAD) sekä asetyyliryhmän siirtäjä koentsyymi A (engl. *coenzyme A*, CoA) ja metyyliiryhmän siirtäjä *S*-adenosyylimetioniini (engl. *S-adenosylmethionine*, SAM). Näissä adenosiiini-ribonukleotidin lisäksi esiintyvät nikotiiniamidi- ja flaviinimononukleotidit (engl. *flavine mononucleotide*, FMN) sekä vitamiini B₅ (pantoteenihappo) ja aminohappoja. Aktiivinen osa ei suoranaisesti ole adenosiiiniin liittyvä, vaan se esiintyy niin kutsuttuna kahvana (engl. *handle*), johon konservoituneet proteiinirakenteet voivat tarttua. (Goldman ja Kacar 2021; Wachowius ja muut 2017.)

Monet soluissa esiintyvät signaalintimolekyylit ovat ribonukleotidijohdannaisia, useimmiten syklisiä ribonukleotidimonofosfaatteja (engl. *3',5'-cyclic nucleotide monophosphate*, cNMP) tai dinukleotideja (engl. *3',5'-cyclic dinucleotide monophosphate*, c-di-NMP). Sekundäärilähehtinä (engl. *secondary messenger*) toimivat muun maussa cAMP ja cGMP. Erityisesti bakteereissa esiintyy c-di-GMP:tä ja eksoottisemmissä tapauksissa myös heterogeenistä cGAMP:ia (engl.

3',5'-cyclic GMP-AMP). Mielenkiintoisesti nykysolussakin esiintyvä c-di-GMP:n tavallaan allosteerisesti säätetelmä tyyppin I itsesilmukoituva introni antaa viitteitä siitä, että signaali oli nukleotidilähtöistä jo RNA-maailmassa. (Goldman ja Kacar 2021; Nelson ja Breaker 2017.)

4.4 Parasiittiset RNA:t

Luvussa 3.2 esitettiin ajatus yleisestä RNA-riippuvaisesta RNA-polymeraasista, ja todettiin, että sillä on hyödyllinen kyky replikoida myös muita RNA-molekyylejä, kuten metabolisia reaktioita katalysoivia ribosyymejä. Yleinen RPR katalysoi kuitenkin myös kaikkien muiden RNA-molekyylien, kuten hyödyttömien tai jopa haitallisten parasiittisten RNA-molekyylien replikointia. Yleisen RNA-polymeraasin sisältävät systeemit ovat siten herkkiä parasiittisille sekvensseille. Myös nykysolujen virukset hyödyntävät pyyteettömiä solun replikaattorimekanismeja omaksi hyödykseen, ja on mahdollista, että virusten evoluutio alkoi jo RNA-maailmassa parasiittisina RNA-molekyyleinä. (Higgs ja Lehman 2015; Wachowius ja muut 2017.)

Parasiittisten RNA:iden kehittyminen jo aikaisessa RNA-maailmassa viittaa siihen, että kehittyvällä systeemillä on ollut myös keinoja selviytyä parasiittiselta vaikutukselta. Yksi tapa on systeemin lokeroituminen, joka estää parasiittia tuhoamasta koko systeemiä. Tällainen ryhmävalinta (engl. *group selection*) onkin yksi tärkeimmistä evolutiivisista seikoista jo aikaisessa elämän kehityksessä, sillä pelkän replikaattorin molekyyleiden lisäksi luonnonvalinnan kohdistuessa lokeroituun ryhmään molekyylejä, on vaihtelu voimakkaampaa ja siten myös evoluutio monimuotoisempaa. Parasiiteilta suojautuminen on siten saattanut olla osasy siihen, miksi nykyelämä on lokeroitunut soluihin. (Higgs ja Lehman 2015.) Lisäksi on esitetty replikaatiomekanismeja, joissa toimii myös alkeellinen promootterin tunnistus, mikä mahdollistaa parasiittisen ja oman RNA-sekvenssien erottamisen ja siten myös parasiittisten RNA:iden diskriminaation. (Cojocar ja Unrau 2021.)

5 Vastustavat argumentit ja vaihtoehtoiset hypoteesit

Vaikka molekulaariset fossiilit ovat hyvin vahvoja todisteita RNA-maailmasta, on merkittäviä tapahtumia vielä selvittämättä. Esimerkiksi translaation kehittyminen ja DNA:han siirtyminen ovat vielä suurimmaksi osaksi mysteerejä. Tämän lisäksi RNA-maailman perusoletuksia on kritisoitu ja sille on esitetty myös vaihtoehtoisia hypoteeseja. Kuitenkin RNA-maailma on säilynyt lupaavimpana elämän alku -teorian, eikä tähän näyttäisi olevan tulossa muutosta. (Bernhardt 2012; Fine ja Pearlman 2023.)

5.1 Riittääkö RNA?

5.1.1 Miksi juuri RNA?

Vaikka todisteet siitä, että RNA edelsi DNA:ta, ovat vakuuttavia, on epävarmempaa, edelsikö RNA:ta vielä jokin muu polymeeri. RNA-maailma-hypoteesissa RNA:n hallitsemaa aikaa pidetään todennäköisenä, mutta sitä edeltäviin tai vaihtoehtoisiin polymeerirakenteisiin ei käytännössä oteta kantaa. Vaihtoehtoisia *xeno*-nukleiinihappoja (engl. *xeno-nucleic acid*, XNA) on esitetty useita erilaisia. Sokeriosan voi korvata muun muassa treoosi tai arabinoosi, koko fosforiboosirungon *N*-(2-aminoetyyli)glysiini (engl. *peptide nucleic acid*, PNA) ja emäkset voi korvata analogisilla rakenteilla. Näillä vaihtoehdoilla ei ole osoitettu olevan parempia ominaisuuksia kuin RNA:lla, mutta niitä ei voida sulkea poiskaan. Tutkimuksin on osoitettu RNA:n kaltaisten polymeerien muokkaantumisen RNA:ksi olevan mahdollista, ja edelleen vahvat todisteet RNA-asemasta nykysoluissa osoittavat aikaisen elämän saaneen siten jossain vaiheessa RNA:n muodon. On myös tärkeää huomata, ettei DNA:ta mainita osana potentiaalisia vaihtoehtoja. Vaikka niin kutsuttuja DNAsyymejä (engl. *DNAzyme*) on kehitetty synteettisesti, ei niitä esiinny luonnossa. DNA:n katalyyttinen kyky on myös hyvin rajoittunutta, eikä ”DNA-maailmaa” siksi pidetä vaihtoehtona. (Bernhardt 2012; Fine ja Pearlman 2023; Wachowius ja muut 2017.)

Vaikka RNA-molekyylien polymerisoituminen on osoitettu mahdolliseksi (kts luku 3.1.2), RNA on melko labiili molekyyli, koska se hydrolysoituu jo matalissakin lämpötiloissa 2'-hydroksyyliiryhmän hyökätessä fosfodiesterisidokseen. Siksi väitetään, ettei RNA pystyisi muodostamaan tarpeeksi pitkiä polymeerejä, joiden elinikä sallisi niiden toiminnan osana aikaista elämää. Kylmän lämpötilan on todettu hidastavan RNA:n hydrolyysinopeutta sekä nostavan ribosyymien katalyysitehokkuutta, ja tällainen kylmäsystemi on hyvin voinut olla mahdollinen eutektisen seoksen lokeroimassa RNA-replikaattorissa. Stabiiliuteen liittyy myös RNA:n polymerisaatioon ja laskostumiseen vaadittavat Mg^{2+} -kationit, jotka ongelmallisesti katalysoivat myös RNA:n hydrolyysiä ja destabiloivat lokeroinnista vaihtoehtoisesti vastaavia lipidimembraaneja. Kuten jo todettua, dekapeptidit vähentävät magnesiumin tarpeellisuutta (kts. luku 3.3). Myös matalan pH:n aikaansaaman adeniinin protonaation on osoitettu vähentävän magnesiumin tarpeellisuutta. Vaihtoehtoisesti sitraatti-ionien läsnäolo protosolussa mahdollistaa Mg^{2+} -ionin korkean konsentraation ja hidastaa RNA:n hydrolyysiä. (Bernhardt 2012; Fine ja Pearlman 2023; Higgs ja Lehman 2015.)

5.1.2 RNA:n katalyyttinen teho

RNA:n katalyyttisen repertuaarin on epäilty olevan riittämätön RNA-maailman kehittymiselle. Ottaen huomioon RNA:n koostuvan pääosin neljästä nukleoemäksestä, on sen funktionalisuuden laajuus huomattavan suuri. Modifioidut nukleoemäket nostavat katalyyttistä kykyä, ja niillä on

osoitettu olevan suuri merkitys esimerkiksi RNA-peptidi-maailman translaatiomekanismeissa (**kuva 6**). Huomion arvoista on myös se, että entsyymienkin katalyyttinen kyky on rajallinen ja niiden toiminta vaatii kofaktoreita (kts. luku 4.3). Vaikka yleisesti RNA:t ovat huonompia katalyyttejä verrattuna entsyymeihin, nykysoluissakaan entsyymit eivät ole pystyneet korvaamaan kaikkien katalyyttisten RNA:iden tehtäviä miljardien vuosien evoluution aikana, mikä viittaa siihen, ettei myöskään proteiineilla ole tarpeeksi laajaa katalyyttistä repertuaaria yksin toimimiseen. (Bernhardt 2012; Goldman ja Kacar 2021.)

5.2 ”Peptidit ensin” -hypoteesi

RNA-peptidi-maailman kehitykseen liittyvän epävarmuuden (kts. luku 3.3) myötä on päädytty myös hypoteesiin siitä, että peptidit kehittyivät ennen RNA:ta tai vähintäänkin yhdessä RNA:n kanssa. Tämä niin kutsuttu ”peptidit ensin” -hypoteesi väittää proteiinien katalyyttisen ylivoiman perusteella peptidien olleen ensimmäisiä katalyyttejä ja esimerkiksi kofaktorien olevan vain RNA:sta omaksuttuja rakenteita. Kuitenkin koodaamattomien aktiivisten entsyymien esiintyminen on hyvin epätodennäköistä niiden valtavan molekyylikoon vuoksi. Lisäksi ”peptidit ensin” -hypoteesi vaatii proteiinien pystyvän toimimaan replikaattorina, mutta peptidien peptidiriippuvaiselle replikaatiolle ei ole pystytty kehittämään toimivia teorioita. (Bernhardt 2012.)

Merkittävin tätä teoriaa tukeva argumentti nousi esiin Harishin ja Caetano-Anollésin (2012) fylogeneettisestä tutkimuksesta, jossa todettiin ribosomin erään peptidirakenteisen osan olevan evolutiivisesti vanhempi kuin ribosomi peptidyilin siirtokeskuksen RNA-osat. Kyseinen malli vaatisi kuitenkin koodattujen proteiinien ilmentymistä ennen ribosomia, mitä pidetään nykyään mahdottomana. Suuremmalta ristiriidalta vältytään huomioimalla myös se, että fylogeneettinen menetelmä käsittää vain koodattuja proteiineja, eli kyseisen tutkimuksen perusteella ei voida tehdä johtopäätöksiä koodaamattomien proteiinien aikaisista eli ribosomia edeltävistä tapahtumista. (Bernhardt 2012; Fine ja Pearlman 2023.)

Samasta ribosomin rakennetutkimuksesta on herännyt myös teoria sille, että ribosomin alkuperäinen funktio olisikin ollut RNA-replikaasi, edelleen siis tukien ”peptidit ensin” -mallia. Ribosomin RNA-replikaatiomekanismiksi on esitetty ligaasiaktiivisuutta, jossa muokatut tRNA:t kuljettivat RNA-oligonukleotidejä ribosomille. Tätä teoriaa kuitenkin haittaa tällaisen RNA-replikaasin saavuttamiseksi vaadittava valtava evolutiivinen harppaus sekä edelleen oletus koodattujen proteiinien olemassaolosta ennen ribosomia, oli ribosomin tehtävä sitten replikaasi tai translaatiokoneisto. (Bernhardt 2012.)

6 Yhteenveto

Todisteet RNA:n katalyyttisistä funktioista loivat perustan RNA-maailma-hypoteesille, jonka mukaan elämä sai alkunsa prebioottisissa olosuhteissa muodostuneista autokatalyyttisistä RNA-molekyyleistä. Ribotsyymien niin rakenteellinen kuin funktionaalinen diversiteetti laajeni RNA-maailman sisällyttäessä itseensä aminohapporakenteita, jolloin siirryttiin RNA:n ja peptidien vahvan koevoluution aikaan eli RNA-peptidi-maailmaan. Samalla alkoi siirtyminen kohti nykyaikaista translaatiokeskeistä elämää. Entsyymien syrjäyttäessä RNA:n monessa katalyyttisessä funktiossa ja DNA:n otettua vallan pääasiallisena informaationaalisenä molekyylinä suppeni RNA:n rooli nykyiseen muotoonsa.

Vastustuksesta huolimatta molekulaariset fossiilit ja loogiset päättelyketjut päätyvät lähes välttämättä RNA-maailmaan. Hypoteesi ei kuitenkaan vielä pysty selittämään kaikkea tarpeellista elämän alkuaajoilta eikä siten saa teorian statusta ennen lisätutkimuksen tuomaa tietoa. Alkukantaisen elämän tutkiminen saattaa tarjota myös tärkeää tietoa nykysolujen toiminnasta, kun monimutkaiset molekyylitason syy-seuraussuhteet eivät sekoita kuvaa niin paljoa. Nykysoluista löytyy jäänteitä RNA-maailmasta, ja näistä muun muassa ribosomia on tutkittu niin yleisellä tasolla kuin lääkekehityksenkin kohteena hyvin paljon. Vaikka proteiinit ovat erittäin keskeisiä elämän komponentteja ja tutkimuksen kohteita, ei pidä unohtaa, että RNA-maailma ei todellisuudessa hävinnyt kokonaan, ja lisätutkimus RNA:n funktiosta niin elämän alkuaajoilla kuin tämänkin päivän elämässä saattaa avata ovia aivan uudenlaisille näkemyksille ja teorioille, joiden merkitystä tulevaisuudessa voi vain spekuloida!

Kirjallisuus

- Becker, S., Feldmann, J., Wiedemann, S., Okamura, H., Schneider, C., Iwan, K., ... Carell, T. (2019) Unified prebiotically plausible synthesis of pyrimidine and purine RNA ribonucleotides. *Science* **366**:76–82.
- Bernhardt, H. S. (2012) The RNA world hypothesis: The worst theory of the early evolution of life (except for all the others). *Biol Direct* **7**:23.
- Briones, C., Stich, M. & Manrubia, S. C. (2009) The dawn of the RNA World: Toward functional complexity through ligation of random RNA oligomers. *RNA* **15**:743–749.
- Cojocaru, R. & Unrau, P. J. (2021) Processive RNA polymerization and promoter recognition in an RNA World. *Science* **371**:1225–1232.
- Criado-Reyes, J., Bizzarri, B. M., García-Ruiz, J. M., Saladino, R. & Di Mauro, E. (2021) The role of borosilicate glass in Miller–Urey experiment. *Sci Rep* **11**:21009.
- Fine, J. L. & Pearlman, R. E. (2023) On the origin of life: An RNA-focused synthesis and narrative. *RNA* **29**:1085–1098.
- Forster, A. C. (2022) Revisiting the Extinction of the RNA World. *Biochemistry* **61**:749–751.
- Gilbert, W. (1986) Origin of life: The RNA world. *Nature* **319**:618–618.
- Goldman, A. D. & Kacar, B. (2021) Cofactors are Remnants of Life’s Origin and Early Evolution. *J Mol Evol* **89**:127–133.
- Guerrier-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.
- Harish, A. & Caetano-Anollés, G. (2012) Ribosomal History Reveals Origins of Modern Protein Synthesis. *PLOS ONE* **7**:e32776.
- Higgs, P. G. & Lehman, N. (2015) The RNA World: Molecular cooperation at the origins of life. *Nat Rev Genet* **16**:7–17.
- Horning, D. P. & Joyce, G. F. (2016) Amplification of RNA by an RNA polymerase ribozyme. *Proc Natl Acad Sci* **113**:9786–9791.
- Janzen, E., Blanco, C., Peng, H., Kenchel, J. & Chen, I. A. (2020) Promiscuous Ribozymes and Their Proposed Role in Prebiotic Evolution. *Chem Rev* **120**:4879–4897.

- Jash, B., Tremmel, P., Jovanovic, D. & Richert, C. (2021) Single nucleotide translation without ribosomes. *Nat Chem* **13**:751–757.
- Kavita, K. & Breaker, R. R. (2023) Discovering riboswitches: The past and the future. *Trends Biochem Sci* **48**:119–141.
- Kruger, K., Grabowski, P. J., Zaug, A. J., Sands, 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.
- Lincoln, T. A. & Joyce, G. F. (2009) Self-Sustained Replication of an RNA Enzyme. *Science* **323**:1229–1232.
- Miller, S. L. (1953) A Production of Amino Acids Under Possible Primitive Earth Conditions. *Science* **117**:528–529.
- Miller, S. L. & Urey, H. C. (1959) Organic Compound Synthesis on the Primitive Earth. *Science* **130**:245–251.
- Müller, F., Escobar, L., Xu, F., Węgrzyn, E., Nainytc, M., Amatov, T., ... Carell, T. (2022) A prebiotically plausible scenario of an RNA–peptide world. *Nature* **605**:279–284.
- Nelson, D. L., Cox, M. M. & Hoskins, A. A. (2021) *Lehninger principles of biochemistry*. (8. painos). New York, NY: Macmillan International, Higher Education.
- Nelson, J. W. & Breaker, R. R. (2017) The lost language of the RNA World. *Sci Signal* **10**:eaam8812.
- Polacek, N. & Mankin, A. S. (2005) The Ribosomal Peptidyl Transferase Center: Structure, Function, Evolution, Inhibition. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **40**:285–311.
- Portillo, X., Huang, Y.-T., Breaker, R. R., Horning, D. P. & Joyce, G. F. (2021) Witnessing the structural evolution of an RNA enzyme. *eLife*.
- Powner, M. W., Gerland, B. & Sutherland, J. D. (2009) Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions. *Nature* **459**:239–242.
- Reiter, N. J., Osterman, A., Torres-Larios, A., Swinger, K. K., Pan, T. & Mondragón, A. (2010) Structure of a bacterial ribonuclease P holoenzyme in complex with tRNA. *Nature* **468**:784–789.

- Sankaran, N. (2016) The RNA World at Thirty: A Look Back with its Author. *J Mol Evol* **83**:169–175.
- Tjhung, K. F., Shokhirev, M. N., Horning, D. P. & Joyce, G. F. (2020) An RNA polymerase ribozyme that synthesizes its own ancestor. *Proc Natl Acad Sci* **117**:2906–2913.
- Turk, R. M., Chumachenko, N. V. & Yarus, M. (2010) Multiple translational products from a five-nucleotide ribozyme. *Proc Natl Acad Sci* **107**:4585–4589.
- Wachowius, F., Attwater, J. & Holliger, P. (2017) Nucleic acids: Function and potential for abiogenesis. *Q Rev Biophys* **50**:e4.
- White, H. B. (1976) Coenzymes as fossils of an earlier metabolic state. *J Mol Evol* **7**:101–104.
- Wochner, A., Attwater, J., Coulson, A. & Holliger, P. (2011) Ribozyme-Catalyzed Transcription of an Active Ribozyme. *Science*.