

# RNS nukleotidok prebiotikus eredete

Szakdolgozat  
Biológia alapszak, biológus szakirány

Készítette:  
**OLASZ FERENC**

Témavezető:  
Dr. KUN ÁDÁM, tudományos főmunkatárs  
Növényrendszertani és Ökológiai Tanszék

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM  
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR  
BIOLÓGIAI INTÉZET



Budapest, 2010.

# Tartalomjegyzék

<b>A FÖLDI ÉLET EREDETE: AZ RNS VILÁG ELKÉPZELÉS .....</b>	<b>3</b>
<b>RNS-EK ÉPÍTŐKÖVEINEK PREBIOTIKUS SZINTÉZISE.....</b>	<b>7</b>
NUKLEOBÁZISOK SZINTÉZISE HCN-BÓL.....	8
FORMAMID MINT A NUKLEOTIDOK FŐ PREKURZORA .....	11
RIBÓZOK KELETKEZÉSÉNEK PROBLÉMÁI .....	14
NUKLEOZID SZINTÉZIS KÉRDÉSKÖRE .....	15
ÍGÉRETES MEGOLDÁSOK? .....	17
FOSZFORILÁCIÓ .....	19
OLIGOMERIZÁCIÓJA A MONOMEREKNEK.....	20
<b>DISZKUSSZIÓ.....</b>	<b>22</b>
<b>ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>	<b>25</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>26</b>
<b>IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>27</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>29</b>

## A földi élet eredete: az RNS világ elképzelés

A földi élet eredetének kérdése az egyik legrégebb és minden bizonnyal a legnehezebb is. 1859-ben Charles Darwin által „A fajok eredete” című könyv elfogadható magyarázatot adott, hogyan jöhetett létre a Földön tapasztalható rendkívüli változatosság, de az élet eredetére nem adott választ. Mai elképzelés szerint, egyszerű szerves anyagokból önszerveződéssel, kémiai folyamatok révén lépésről-lépésre jöttek létre az összetettebb molekulák (aminosavak, cukrok, telített zsírsavak, nukleotidok). Ezeknek a molekuláknak megfelelő körülmények közt tovább növekedhetett az összetettségük, vagyis polimereket alkothattak, kompartmentekbe záródhattak és kialakulhatott a mai élőlények közös őse.

Egyáltalán lehetséges-e, hogy a korai Földön megfelelőek voltak a fentebb vázolt folyamathoz a körülmények. Az ősi Föld hőmérsékleti feltételei (Miyakawa et al. 2001a) és a légkör összetétele mai napig viták tárgyát képezi. Az biztos, hogy az oxidatív légkör a Föld kialakulása után pár milliárd év múlva a fotoszintetizáló szervezetek tevékenysége révén alakult ki. A legelső prebiotikus kísérletek, mint például Stanley Miller klasszikus kísérlete erősen redukáló légkört (magas ammónia és metánszintet) tételezett fel. A kísérlet megmutatta, hogy redukzív körülmények közt  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  tartalmú légkörből UV sugárzás, elektromos kisülés, magas hőmérséklet hatására egyszerű szerves anyagok keletkeznek, mint például  $\text{HCN}$ , formaldehid ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), formamid, ammónium-cianid, cianoacetilén és néhány aminosav mint a glicin és alanin (Saladino et al. 2004). A legfrissebb kutatások fényébe elvetik, hogy erősen redukáló volt a légkör, ám még ezek szerint is megfelelően redukatív volt ahhoz, hogy szerves anyagok keletkezessenek (Orgel 2004). Egyes becslések szerint például a  $\text{HCN}$  keletkezési rátája évente  $100 \text{ nmol/cm}^2$  lehetett (Miyakawa et al. 2001a). Ezenkívül szerves anyagokat mennyisége az ősi Földön meteorok és üstökösök révén is növekedhetett.  $\text{C}_1$  molekulákat sikeresen detektáltak hosszú-periódusidejű üstökösökben, mint például a Hale-Bop-on, de csillagközi porból is sikeresen mutattak ki szerves anyagokat (Saladino et al. 2007). Fontos nukleobázisok csillagközi körülmények közt is képződhetnek, erre Senanayake kísérletei mutattak egy lehetséges utat. Formamidot  $\text{TiO}_2$  felszínen  $10^{-10}$  torr nyomáson, száraz környezetben 3,2 eV erejű UV sugárzásnak tették ki (ezen még nem bomlanak a szerves vegyületek), ami hatására az összes RNS-t és DNS-t felépítő nukleobázis megjelent. Két fontos reakció játszódik le ilyen körülmények közt. Az egyik a bomlás  $\text{NH}_4$ -á és  $\text{CO}$ -dá, a másik a dehidratáció  $\text{HCN}$ -dá és  $\text{H}_2\text{O}$ -é  $27^\circ\text{C}$ -on UV besugárzás hatására. Kísérlet során nagy molekulatömegű anyagok keletkeztek, amelyeknek a beazonosítása nehéz. Kutatóknak sikerült kimutatni adenin, guanin, citozin és uracil jelenlétét.

Ám timin keletkezése kérdéses, mivel tömegspektroszkóppal meghatározott molekulatömeg több sztereoizomert is takarhat, mint például 1-,3- vagy 5-metil uracilt (Senanayake & Idriss 2006). Így létrejövő vegyületek a meteorok, az üstökösök révén a Földre kerülhettek, és ezidáig nem ismert mértékben, hozzájárulhattak a földi élet keletkezéséhez.

Megállapíthatjuk, hogy a korai Földön elvileg megfelelőek voltak a körülmények az abiogenezishez. Ezután nézzük meg, mi jellemzi a ma élő biológiai rendszereket. Két alapvető tulajdonság jellemző rájuk: a DNS a genetikai információ hordozásáért, míg a fehérjék a sejtben zajló katalízisért felelősek. Ám a DNS nem képes fehérjék nélkül, és a fehérje meg nukleinsav nélkül szaporodni, mivel az élőlények örökítőanyaga nem tudja önmagát megsokszorozítani segítség nélkül, replikációjához mindenféleképp enzimek (DNS polimerázok) kellenek, amelyek fehérjék. Ők is rá vannak utalva a DNS-re, mivel az mRNS-ekről (ez a DNS-ről képződik DNS függő RNS polimerázok segítségével) szintetizálódnak riboszómákon, amik RNS-ekből és fehérjékből felépülő szupramolekuláris komplexek. Az élet eredetének kutatásában sokáig nehéz kérdés volt, hogyan alakulhatott ki az előbb felvázolt rendszer. Először úgy gondolták a fehérjék és a nukleinsavak együtt fejlődhettek az evolúció során, de a nagyfokú egymásra utaltság miatt nehéz volt egy lehetséges evolúciós útvonalat elképzelni. (Orgel 2004)

Már 1960-as években felvetették néhányan, elképzelhető, hogy léteztek (valamikor 4,2-3,8 milliárd év között) olyan szervezetek, amelyekben a DNS és a fehérjék funkcióit az RNS-ek látták el. Az RNS képes az információ tárolására, ez nem volt vitatott, de akkoriban még kérdés volt, hogy képes-e enzimeként működni. 1980-as években Tom Cech és Sid Altman kísérletei megerősítették a korábbi elképzelést, tudniillik megfigyeltek olyan RNS molekulákat, amelyek enzimaktivitással rendelkeztek. Ez egy forradalmat indított be, mert előtte sokáig azt gondolták, hogy csak a fehérje képes enzimeként működni. Az RNS-világ fogalmának megalkotása Walter Gilbert nevéhez fűződik, az elmélet szerint a mai RNS/DNS/fehérje rendszer előtt léteztek olyan szervezetek, amelyekben a DNS és a fehérje feladatait az RNS-ek látták el. (Joyce 2002; Zubay & Mui 1999)

Milyen erre utaló jeleket találhatunk? Ha megnézzük a ma élő szervezeteket, az RNS-ek mindenre kiterjedő szerepet kapnak bennük. DNS replikációban primerként szerepelnek, jelenlétük létfontosságú a DNS polimerázok működéséhez. Ők szállítják a genetikai információt a fehérjeszintézist végző sejtapparátushoz. Riboszómákon belül a peptidil-transzfert egy RNS rész katalizálja. Ezenkívül rengeteg fehérje használ szerves kofaktorokat, amelyek jó része ribonukleinsav-részletet is tartalmaz, például a közismert ATP, NAD, CoA,

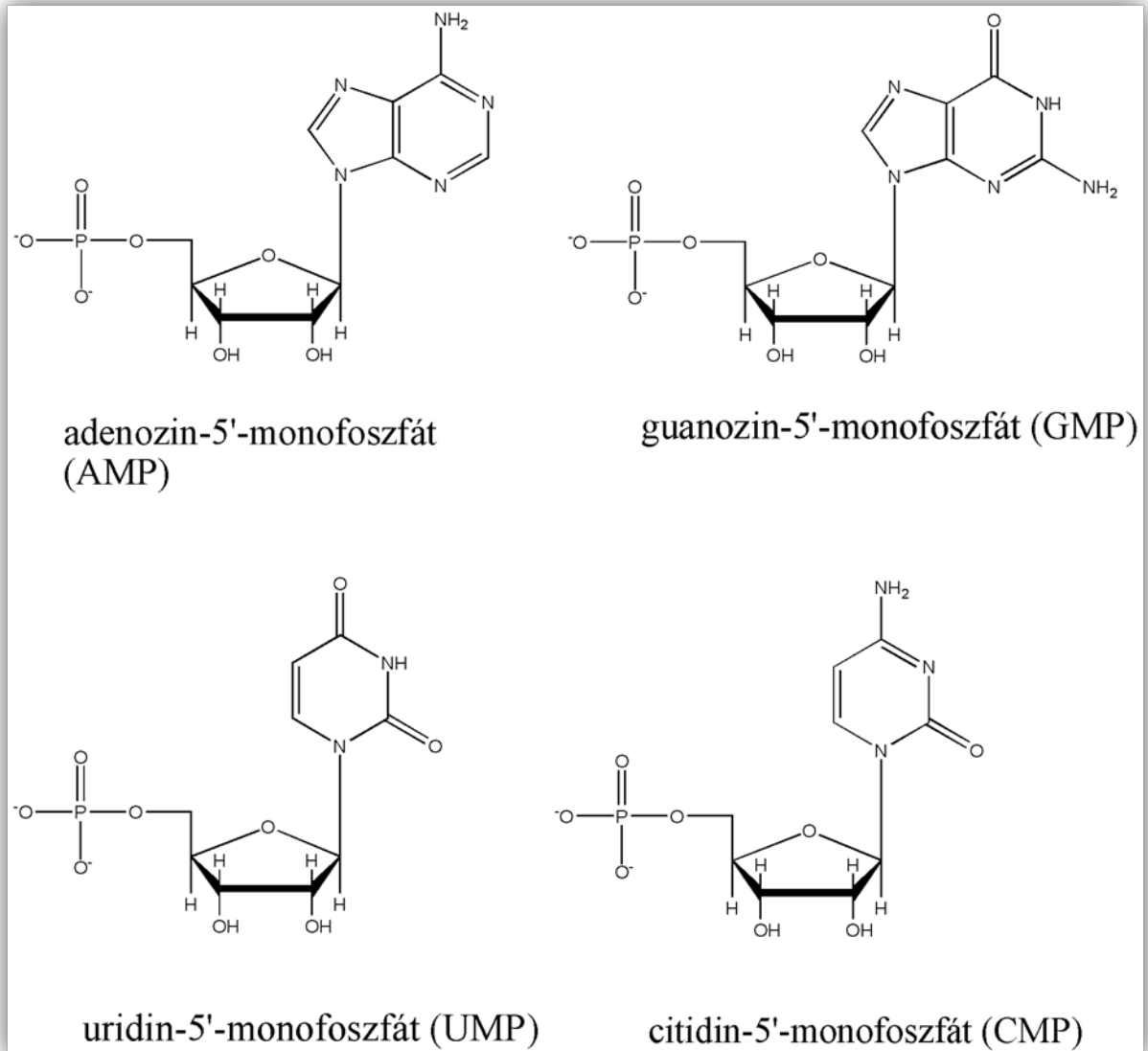
de a flavin-adenin-dinukleotid (FAD) is a borostyánkősav-dehidrogenázban. Az enzimatis funkciókkal rendelkező RNS-ek egyik ismert csoportja a mai élőlényekben az I. és a II. csoportbeli önkivágó intronok, ezek olyan RNS részletek, amelyek splicesoma nélkül képesek magukat eltávolítani az mRNS-ből. Külön érdekesség a C5-ös útvonalon történő tetrapirrol bioszintézis folyamán a glutamát-1-szemialdehid szintéziséhez egy glutamin-tRNS kell. (Joyce 2002)

Laboratóriumokban mesterséges szelekcióval sokféle ribozimet tudtak előállítani: pl.: acil-transzfert, N és S-alkilációt, nukleotid szintézist, tRNS aminoacetylizációját katalizálót, szén-szénkötés formálót, és RNS polimeráz aktivitással rendelkezőt is. Utóbbinak a processzivitása és másolási hűsége nem elégséges, hogy saját magát megsokszorozza. Elképzelhető, hogy soha nem lesz direkt fizikai bizonyíték az RNS-alapú életre, mert DNS-fehérje alapú élőlények évmilliárdokkal ezelőtt kiszoríthatták őket, így kicsi az esély, hogy bármit találunk róluk. DNS sokkal stabilabb, mint az RNS, jobb információátviteli molekula. Fehérje jobb enzim, mivel húszféle aminosav építi fel, sokkal változatosabb enzimatis funkciókat képes ellátni, mint csak a négy nukleotidból felépülő RNS. Például a ribozimek eddigi eredmények szerint képtelenek hidrofób kötőzsebet kialakítani, emiatt valószínűleg nem voltak képesek a ribózból dezoxiribóz képződést katalizálni. (Joyce 2002)

Beláthatjuk, hogy az RNS nélkülözhetetlen szerepet kap a mai szervezetekben, sőt régen ő lehetett az élet központi molekulája. Persze feltehetjük a következő kérdést ezután: Honnan származik az RNS-világ központi molekulája az RNS, amely nitrogén tartalmú bázisokból (adenin, guanin, citozin és uracil),  $\beta$ -D ribózból és foszfátból épül fel (1. ábra). Több mint 20 év telt az RNS-világ hipotézis megalkotása óta. Szakdolgozatban a legnépszerűbb tudományos elképzeléseket gyűjtöttem össze, amelyeknek fényében egyre jobban elképzelhető, hogy prebiotikus körülmények között létrejöttek az RNS-eknek az építőkövei, amelyek láncokká polimerizálódva először véletlenszerű szekvenciát alkottak, és enzimek segítségével sokszorozódtak. Később a természetes szelekción keresztül felbukkantak közöttük az első enzimatis funkciókkal rendelkező RNS szekvenciák (Orgel 2004).

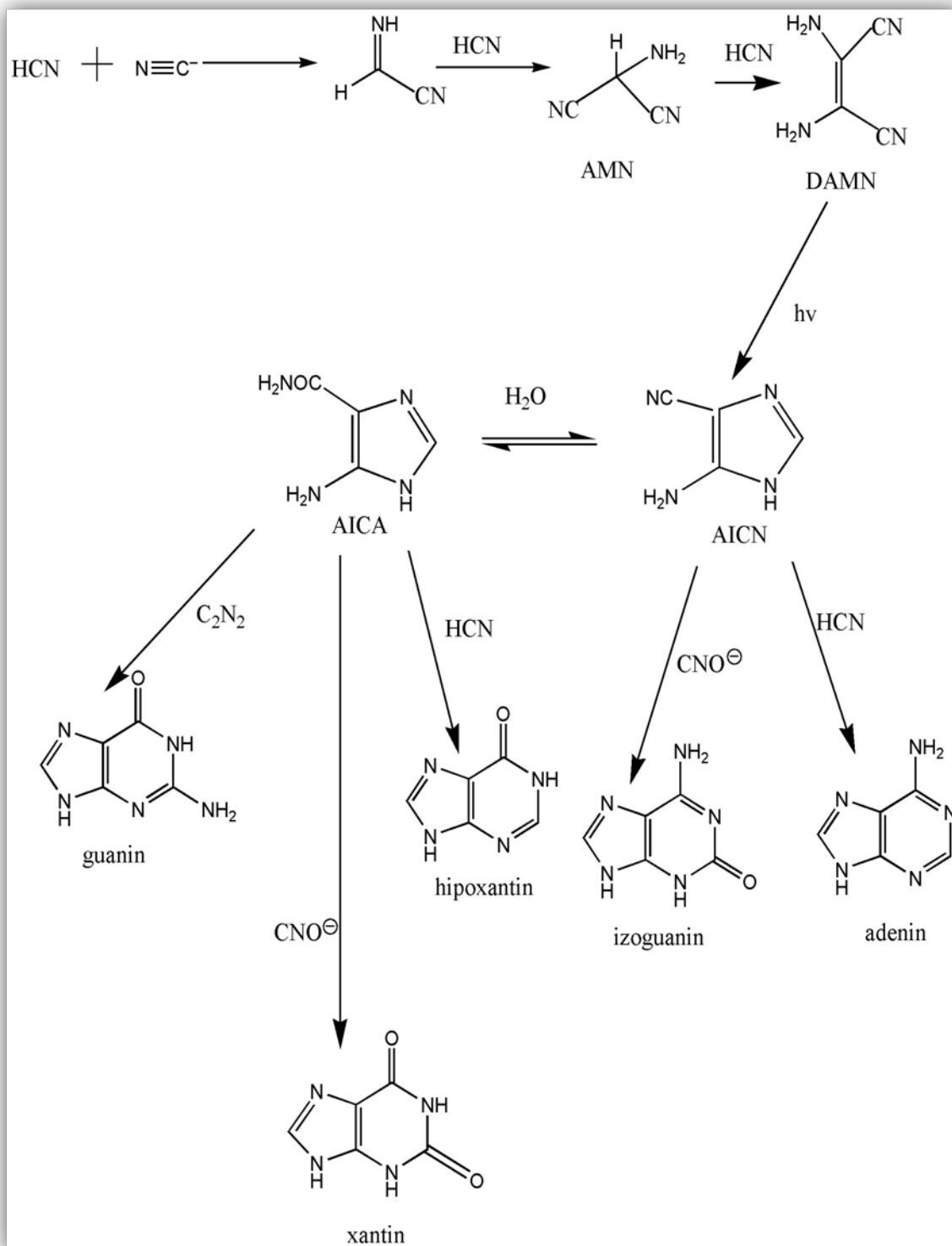
Legfőbb probléma, hogy találjunk egy olyan körülményt, amelyben mind a négy fontos nukleotid képes kialakulni, stabilan fennmaradni, és felhalmozódni, hogy majd a belőlük létrejövő első oligomerek és polimerek nem-enzimatis másolásához legyen elegendő monomer. Utóbbi idők kutatásai miatt egyre világosabbá vált, ha a monomerek képesek voltak kialakulni és aktiválódni, onnantól véletlenszerű szekvenciájú oligomerek

keletkezhetnek. Ferris és munkatársainak (Ferris 2002) Na-montmorillonit jelenlétében sikerült jelentősebb mértékű hosszabbodást elérni egy 10 monomer hosszúságú poliadenilát láncnál. Ennél sokkal érdekesebb az az eredmény, amikor katalizátorok nélkül vizes közegben figyelték meg az oligomerek képződését (Costanza et al. 2009). Ezeknek a kísérletek menetét később fogom részletezni.



**1. ábra:** RNS monomerjei

## RNS-ek építőköveinek prebiotikus szintézise



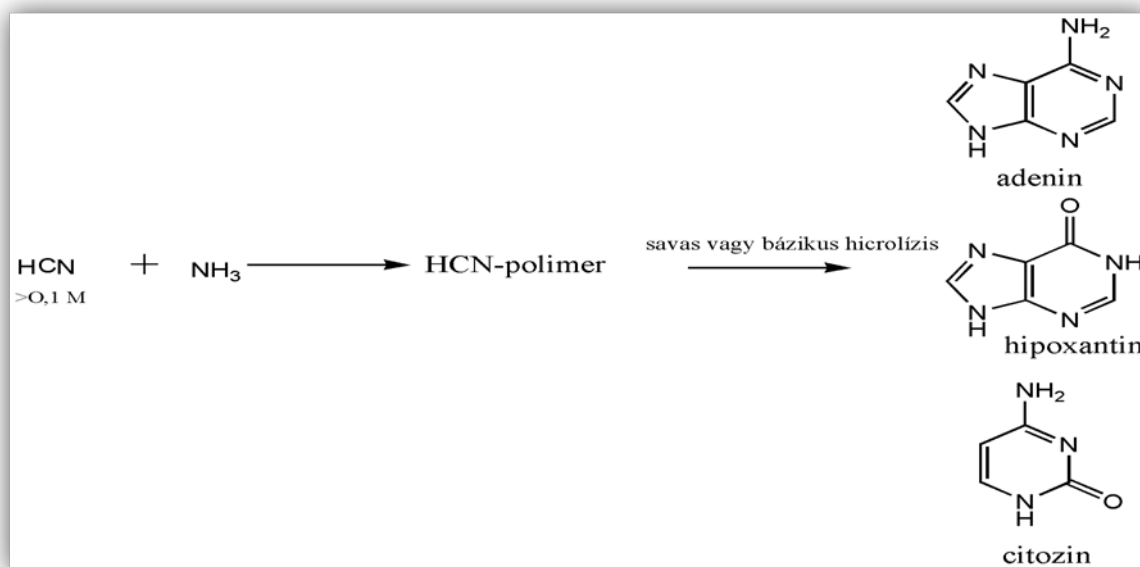
2. ábra: A HCN polimerizációjának a mechanizmusa

Most nézzük részletesen, hogyan történhet meg prebiotikus körülmények közt a nukleotidok szintézise. Klasszikus elképzelés szerint a nukleotid két fő alkotórészét a bázist és

a ribózt külön-külön szintetizálták meg, és ezután reagáltatták egymással. Az így létrejövő nukleozidokat foszforilálták és aktiválták, ezután megtörténhetett ezeknek az alkotórészeknek az oligomerizációja. Teljesen logikus elképzelés, hogy ez az ősi Földön is így ment végbe: részegységek kialakultak, összeálltak, foszforilálódtak megfelelő helyen, és kialakultak oligomerek. Ám mint látni fogjuk később, rengeteg probléma van ezzel a forgatókönyvvel.

### Nukleobázisok szintézise HCN-ből

Egyszerű szerves anyagok közül a legjelentősebb a HCN és a formamid lehetett az élet keletkezése szempontjából. Ezekből sikeresen állították elő mind a négy RNS felépítésében részt vevő fontos nitrogéntartalmú bázist, a két purinbázist az adenint, és a guanint és a két pirimidinbázist, a citozint és az uracilt. Egy korai kísérlet során Oro és munkatársai HCN-ből állítottak elő purinbázisokat. 1,0-11M-os HCN és ammónia oldatot reagáltattak egymással és néhány nap múlva adenin jelenlétet figyeltek meg, a hozam 0,5%-os volt. Azóta sikerült 0,01M töménységig megfigyelni a HCN polimerizálódását (2. ábra), de ennél hígabb oldatban már egyértelműen a HCN hidrolízise formamiddá dominál. Meg kell említeni, hogy a polimerizálódás sajnos nem áll meg adeninnél, hanem hosszú oldhatatlan amorf polimer keletkezik, aminek a térszerkezete mai napig rejtély. Ám ebből a polimerből savas vagy bázikus hidrolízissel mind purinokat, mind pirimideneket elő lehet állítani (3. ábra).



3. ábra: Bázisok előállításának sémája HCN-ből

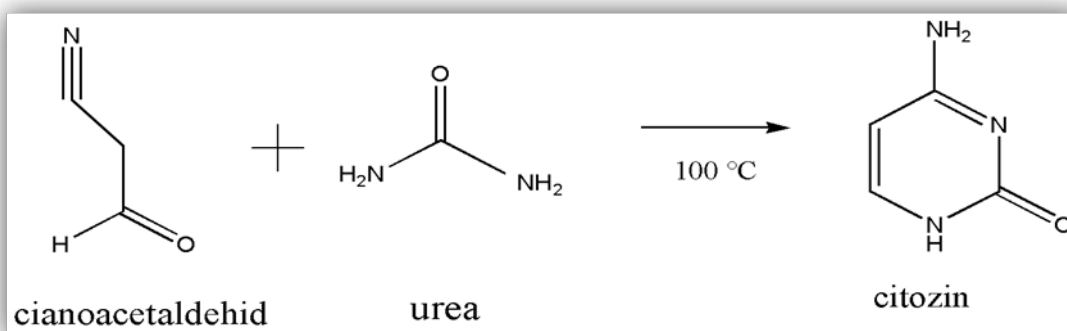
Polimerizáció során purinok képződésének fontos interemedierje a DAMN (díaminomalonitril), ami egy HCN tetramer, ebből UV besugárzás hatására AICN (4-aminoimidazol-5-karbonitril) jön létre. Ha ez vízzel reagál, akkor AICA (aminoimidazol-



karboxamid) lesz belőle. Ezekből további addícióval guanin, adenin, izoguanin, hipoxanthin keletkezik (Saladino et al. 2004). Pirimidin bázisokkal nehezebb a helyzetünk, mivel eddig nem figyeltek meg olyan közvetlen reakciót, amiben HCN-ből kiindulva citozin jött volna létre. Ráadásul az uracil jelenléte se volt sose magas. Elképzelhető, hogy a legelső RNS láncokban másféle bázispárok is lehetettek, ilyen például az alternatív orotsav-adenin bázispár. Az Orotsavat jelentős mértékben képződött a kísérletek során (Miyakawa et al. 2001b). A HCN egy jó jelöltnek tűnik, amely fontos szerepet játszhatott a földi élet keletkezésében. De azonnal felvetődik egy kérdés. HCN milyen mértékben fordult elő az ősi Földön? Ezt a kérdést vizsgálták meg Miyakawa és munkatársai (Miyakawa et al. 2001b). Azt találták, hogy 0 °C hőmérséklet felett semleges és bázikus pH-n olyan alacsony az egyensúlyi koncentrációja a HCN-nak, hogy nem a polimerizáció, hanem a formamiddá való hidrolízise dominál. Milyen további problémák vannak a HCN-dal? Fotokémiailag könnyen lebomlik, magasabb hőmérsékleten romlik a vízdékonysága, ráadásul sekély tavaeskába kerülve a HCN tartalmú víz nem fog betöményedni, mivel a HCN forráspontja 25,7 °C, és emiatt el fog illanni a vízből. Ráadásul a nagy reakcióképességének köszönhetően más szerves anyagokkal is könnyen reagál, vagyis a prebiotikusan termelődő HCN-nak nagy hányada a mellékreakciók miatt elveszik, például a formaldehiddel glikolnitrilt képez. A HCN polimerizációjához szükséges minimális töménység (0,01M) prebiotikus körülmények közt csak akkor volt képes kialakulni, ha az ősi Földnek voltak olyan területei, ahol hőmérséklet 0 °C alatt volt, ezenkívül savas körülmények uralkodni ott. 1972-ben -78 °C-os hőmérsékleten lezártak egy HCN és NH<sub>3</sub> keveréket, HCN koncentrációja 0,15 M volt, az ammóniáé 0,1 M. 27 év múlva megvizsgálták a keletkezett vízdéhatatlan polimert. Legelőször savas és bázikus hidrolízissel kisebb összetevőkre bontották. Adenin és guanin mennyisége a savas hidrolízis esetén volt a legtöbb, de sajnos uracil csak kis mennyiségben keletkezett, a legjelentősebb pirimidinbázis a 4,5-dihidroxipirimidin volt. Bázikus hidrolízis során jöllehet purin kitermelés romlott, de az uracilból több jött létre. Legnagyobb mennyiségben jelenlevő pirimidin bázis itt az orotsav volt, amely az adeninnel képes alternatív bázispárosodásra. Sajnos még a legjobb hozamú nukleobázisok mennyisége is bőven 1% alatt volt.

A két fontos pirimidin bázis, vajon milyen prekursorból szintetizálódott? Perris és munkatársai 1968-ban (Saladino et al. 2005) cianoacetilént 0,1M cianáttal reagáltatva (CNO<sup>-</sup>) 30 °C-on elfogadható mennyiségben kaptak citozint és uracilt. Cianát ekkora koncentrációban

való előfordulása az ősi Földön kérdéses, ugyanis a tömény vizes oldatában gyorsan elbomlik. Későbbi kísérletekben sikerült növelni a hatékonyságot, és 100 °C-on, cianoacetilént kisebb koncentrációjú cianáttal elegyítve 19%-os kitermelést értek el a citozin esetében. Cianoacetilénél jobb prekuzornak bizonyult a cianoacetaldehid, mivel százháromszor stabilabb nála, és formaldehid vizes oldatából UV sugárzás hatására könnyen képződik. A cianoacetaldehidet tömény ureával elegyítve 100 °C-on 53 %-os kitermelést sikerült elérni a citozintól (4. ábra), ez az eddigi egyik leghatékonyabb eljárás a pirimidin nukleobázisok prebiotikus szintézisére. A citozin vizes közegben lassan uracillé hidrolizál, vagyis az uracil eredete is van magyarázat.

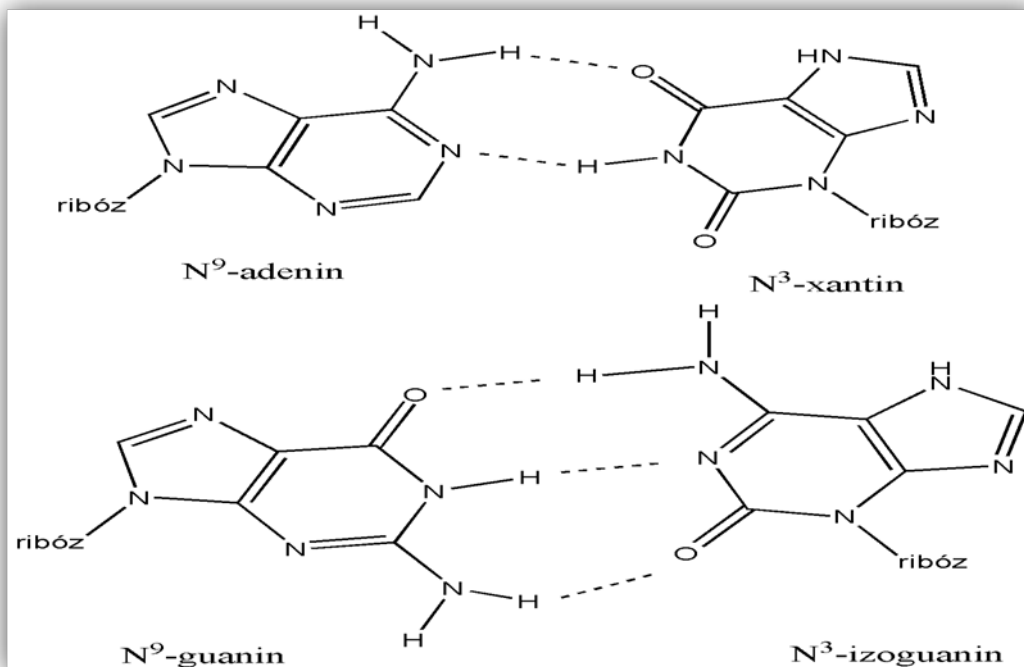


**4. ábra:** Citozin szintézise ureából és cianoacetaldehidből

Kísérletek szerint a pirimidinek hatékony keletkezéséhez 100 °C-os hőmérsékletre van szükség, ami szöges ellentétben van a HCN polimerizációjához szükséges 0 °C alattival. Ennek ellenére nem kell teljes mértékbe elvetni a HCN központi szerepét. 1987-ben Wächterhäuser felvetette (Wächtershäuser 1987), hogy az első RNS-ekben csak purin bázisok voltak. Pirimidinek helyett olyan purinok képzelt el, amelyekben a glikozidos kötés a purin és a ribóz közt a purin N<sup>3</sup> atomjánál létesül, míg ez a normál esetben N<sup>9</sup>-nél történik. Úgy gondolta, hogy N<sup>9</sup> adeninnel szemben N<sup>3</sup> xantin, az N<sup>9</sup> guanin párja pedig az N<sup>3</sup> izoguanin lehetett. (5. ábra) Spekulatívnak tűnik, de a ma elő szervezetekben is megtalálható az N<sup>3</sup> xantin, eddig ismeretlen funkcióval.

A hipotézis magyarázatot ad arra, hogy a purinok miért dominálnak a koenzimokban (NADH, ATP, FAD), és arra is, hogy a purin-pirimidin bioszintézis közt miért vannak nagy különbségek. A purin bioszintézis soklépéses folyamat. Bioszintézis során 5-foszfo-β-D-ribozilaminon kezd kialakulni a heterociklusos gyűrű, amelynek majdnem minden atomja más és más vegyületből származik. Ráadásul bioszintézisében található két olyan intermedier, amit prebiotikus kísérletek során is megfigyeltek, AICA és fAICA. Ezt a jelenséget kemomimézisnek hívjuk. Ezzel szemben a pirimidin szintézis tipikus bioszintetikus folyamat,

karbomiol-foszfát és aszpartát reakciójával kialakuló vegyület dehidratációjával keletkezik a pirimidingyűrű, ami későbbi lépésben egy ribózhhoz fog kötődni. Ribóz és a pirimidinbázis kondenzációját prebiotikusan még nem figyelték meg. A purinszintézis útvonala már az ősi, pre-enzimatis metabolizmusban kialakult, addig a pirimidin szintézis tipikus posztenzimatis útvonal, viszonylag kevés lépésből áll (harmadik lépés után kialakul a pirimidinvegyület), ráadásul karbomoiil-foszfát szintézis ATP és enzimigényes folyamat. Megemlíthető, hogy mind a négy Wächterhäuser elméletéhez szükséges purin előállhat a HCN polimerizáció során. Ennek is meg van a szépséghibája, mivel a hatékony ribózsintézishez 0 °C feletti (45 °C) hőmérséklet szükséges, ráadásul pH=12 is fontos körülmény, (Ricardo et al. 2004) igaz ez nem annyira extrém a 0 °C-hoz képest, mint a 100 °C.



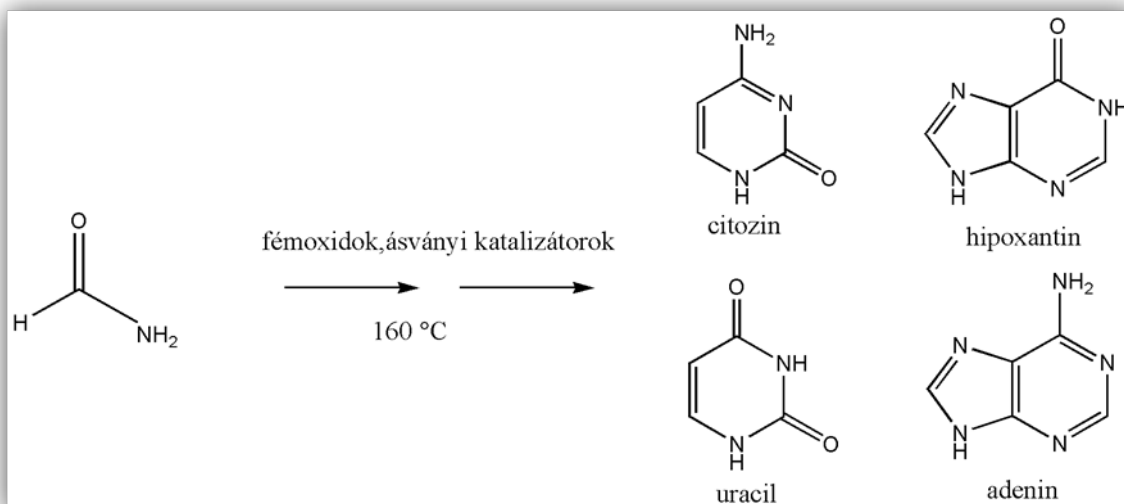
5. ábra: Alternatív bázispárok

### *Formamid mint a nukleotidok fő prekursora*

Láthatjuk a HCN-dal mint fő prekuzorral van néhány probléma, ami valószínűtlenné teszi, hogy ő lehetett a fő útvonala a nukleobázisok szintézisének. A másik potenciális jelölt erre a szerepre a formamid (Costanzo et al. 2007). Magasabb hőmérsékleten könnyen keletkezik a HCN hidrolízise során, bár az egyensúlyi koncentrációja a vízben alacsonyabb, mint a HCN-nak. De van egy nagy előnye. Képes a kisebb víztestekben koncentrálni a víz párolgása során. Forráspontja 210 °C, ráadásul nagy hőmérséklettartományban folyékony,

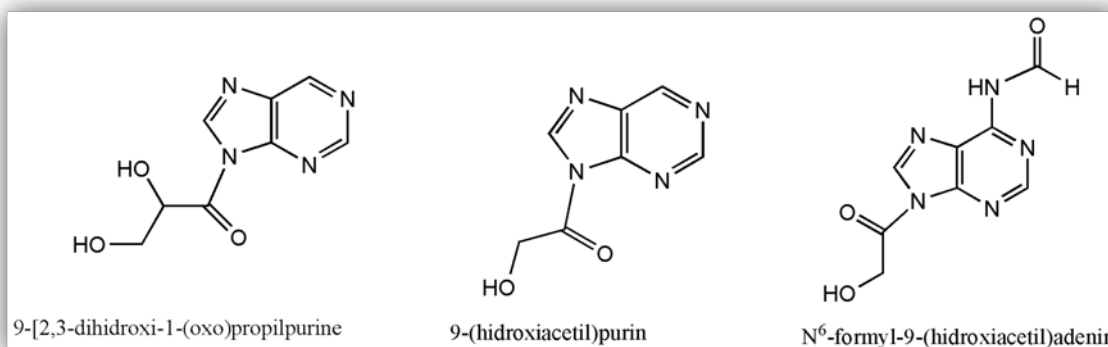
ezenkívül alacsony azeotropikus hatással rendelkezik. Ez azt jelenti, hogy a formamid-víz elegy melegítés hatására gyakorlatilag szétválasztható. Ha erős azeotropus hatással rendelkezne, a formamid vízben egy bizonyos koncentráció után nem töményedbe be jobban, mivel az eltávozó gőzök összetétele megegyezne a folyadék összetételével. A formamid a hangyasavnak az amidszármazéka. Reaktív karboxil és aminocsoportjának köszönhetően potenciálisan sok nitrogéntartalmú heterociklusos származék képzésében vehet részt a körülményektől függően.

Legbehatóbban Saladino és munkatársai vizsgálták a formamid szerepét (Costanzo et al. 2007). Magas dielektromos állandójának következtében kitűnően lép kölcsönhatásba fémoxidokkal és különböző szervetlen sókkal, amelyek befolyásolhatják a reakciók kimenetelét. Első kísérletben (Saladino et al. 2000) 160 °C-on melegítették a tiszta formamidot, csak kis mennyiségű purint kaptak eredményül. Következőkben különféle ásványi katalizátorokat adtak a formamidhoz.  $\text{CaCO}_3$  hatására a purinkitermelés javult 34,1 mg/g-ról 214 mg/g-ra. Mikor kaolint és zeolitot elegyítettek hozzá, adenin és a citozin is megjelent termékként. Ha katalizátorként alumínium-trioxidot vagy kaolint használtak előbb említettek mellett egy új vegyület is feltűnt, ez volt a 4(3)-pirimidinon. A szilika külön érdekessége, hogy a purinvegyületek jelenléte kevesebb a többi katalizátorhoz képest, de a citozin kitermelés viszonylag hatékony, 4,2 mg/g. Fő következtetésként levonhatjuk, hogy a katalizátortól nagymértékben függ a formamidból keletkező termékek milyensége. Néhány szervetlen katalizátor specifikusan viselkedik, míg mások széles spektrumát képesek előállítani nukleobázisoknak. Az egyik ígéretes katalizátorjelölt a KSF jelzésű aktivált montmorillonit (Saladino et al. 2007), amelynek segítségével sikerült egyszerre a citozint, uracilt, adenint és hipoxantint is előállítani (6. ábra). Hipoxantin a guanin bioizosztere, citozinnal képes bázispárt alkotni, igaz csak két hidrogénkötés lesz. Mellékesen megemlíthető, hogy AICA és fAICA is keletkezik.



**6. ábra:** Formamidból szintetizálható nukleobázisok

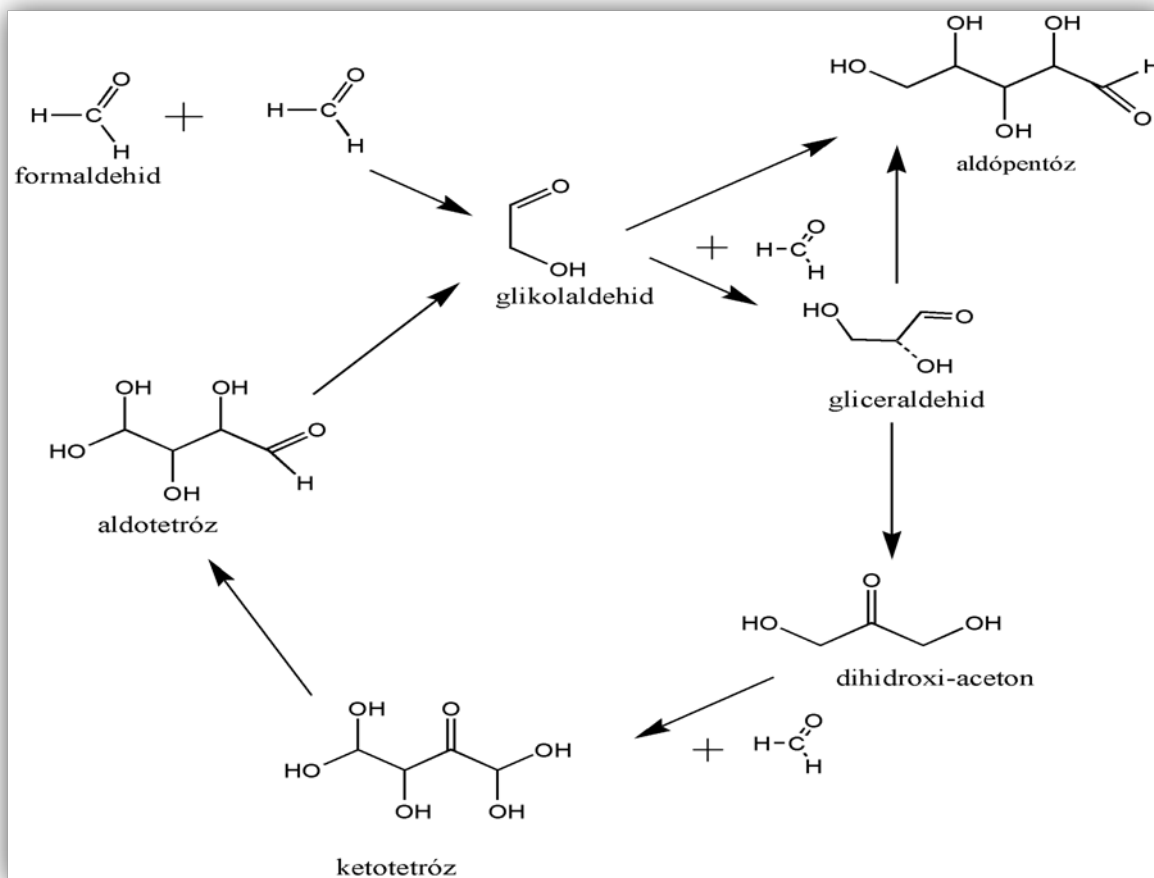
Külön figyelmet érdemel a  $\text{TiO}_2$ , mint katalizátor. Vele végzett kísérlet körülményei: 2 m/m%-os  $\text{TiO}_2$  és napfény (UV sugárzás) jelenlétében  $160\text{ °C}$ -on hevítették a formamidot. 48 óra múlva megvizsgálták a keletkező termékeket. Adenin és citozin mellett kis mennyiségben timin is keletkezett. Ezen felfedezés előtt csak egy kerülő úton tudták előállítani a timint, aholis az uracilt hangyasavval és formamiddal  $140\text{ °C}$ -on vizes közegben melegítették, hogy megkapják a timint. Talán a legfontosabb eredmény az aciklonukleozidok jelenléte (7. ábra). Ezek olyan nukleobázisok, amelyekhez két-három szénatomos cukor oldalláncok csatlakoznak, főként az  $\text{N}^9$ -es pozícióban. Fontossága, hogy a cukorrész közvetlenül a bázison képződik.  $\text{TiO}_2$  katalízis során a formamid egy része formaldehiddé bomlik, amiből a formózreakció során kisebb cukorláncok keletkeznek. (Saladino et al. 2003) Ezzel eljutottunk nukleozidok keletkezésének a problémájához. Ám mindezek előtt említést kell tenni a ribóizról, amely fontos összetevője az RNS-nek.



**7. ábra:** Aciklonukleozidok

## Ribózsok keletkezésének problémái

1861-ben Butlerow megfigyelte, hogy különféle cukorvegyületek keletkeznek a formaldehid enyhe melegítésével  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  jelenlétében (Zubay & Mui 1999). Sajnos a ribózsok mennyisége elhanyagolható volt. Formózs reakció lényege, hogy két formaldehidből kondenzálódik egy glikolaldehid, ami belép egy autokatalitikus ciklusba. Itt két formaldehid belépésével egy aldotetrózs fog keletkezni belőle, amelynek bomlásával két glikolaldehidet nyerünk (8. ábra). Aldopentózsok a glikolaldehid és gliceraldehid kondenzációjával keletkeznek. Első hatékony katalizátornak az  $\text{Pb}^{2+}$  bizonyult, amivel sikerült az aldopentózs kitermelést húszszorára növelni, ilyenkor a formaldehid aldopentózsá váló alakulásának hatékonysága 30% körül volt. Érdekességként megemlíthető hogy ebben a szintetikus rendszerben a ribózs az első, ami megjelenik, többi aldopentózs csak később tűnik fel. Fő probléma, hogy a gliceraldehid elég reakcióképes, mivel tartalmaz egy elektrofil és egy nukleofil támadási pontot, ráadásul egyik hidrogénje savas tulajdonságú. Emiatt a formózsreakció végén barna színű massa fog keletkezni, a reakciótérből eltűnnek a pentózsok, helyettük hosszú láncú komplex polimerek jelennek meg.



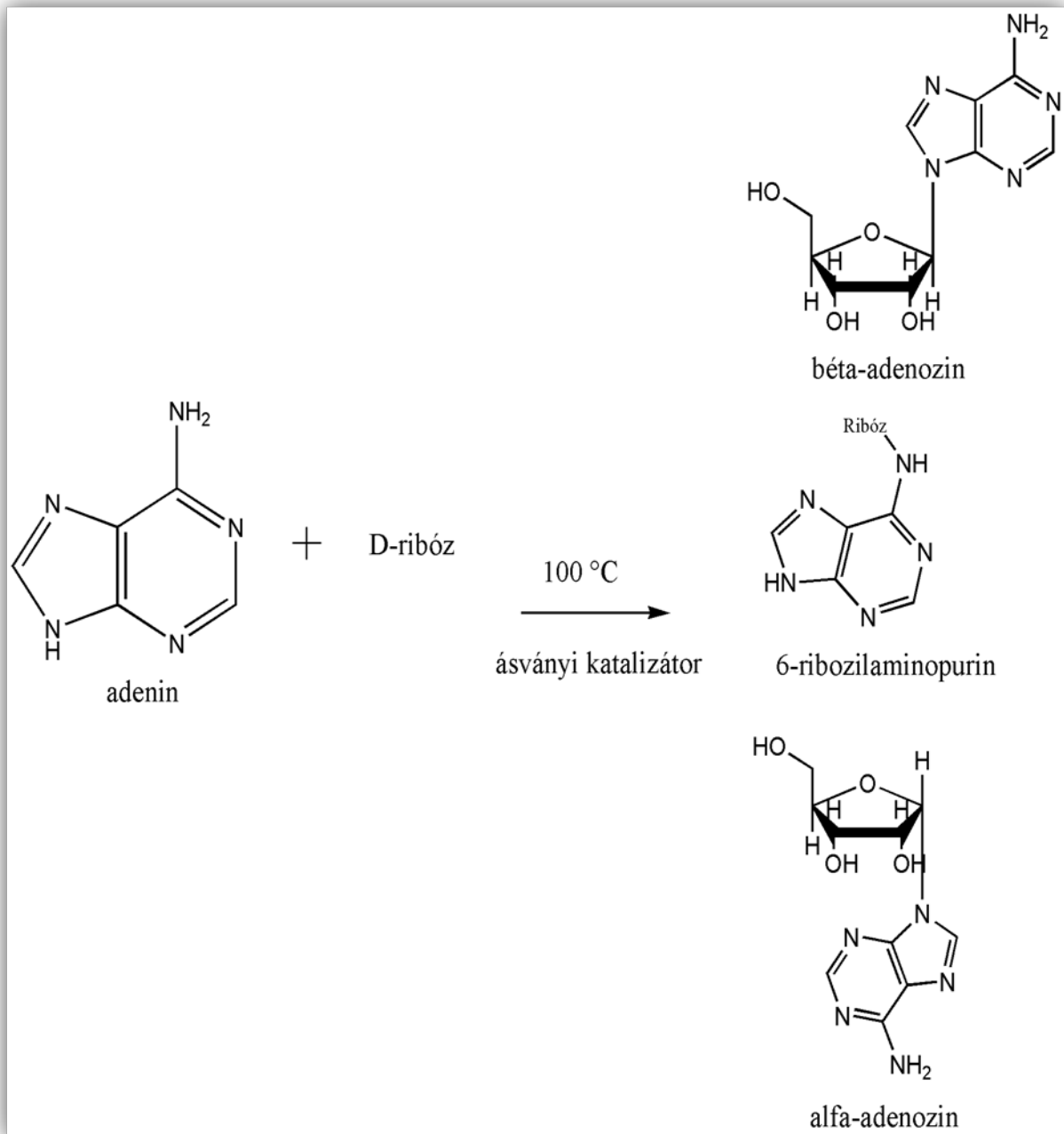
8. ábra: Formózs reakció

Ennek megértése miatt a formóz reakciót többen behatóan tanulmányozták (Ricardo et al. 2006). Nem meglepő módon magas hőmérsékleten (68 °C) hamarabb megtörtént sárgulása a reakciónak (hosszabb szénláncú cukorvegyületek megjelenése), és ilyenkor ribóz mennyisége lecsökkent, a C7, C8, C9 termékek kezdtek el dominálni. 40 °C esetén a sárgulás csak 135 perc múlva jelent meg, ám utána se kezdett el csökkenni radikálisan a C5 termékek mennyisége, persze a C8 és C9-ek dominanciája növekedett. Utóbbi idők egyik legígéretesebb katalizátorának a borátion bizonyosult (Ricardo et al. 2004). Megfigyelték, ha formózreakcióhoz különféle borát ásványokat adnak (ulexit vagy kernit), akkor a barnulás elmarad (reakciókörülmény: 45 °C, pH=12), még két hónap múlva se történik meg, és a xilóz, lixóz, arabinóz, sőt a ribóz jelenlétét is ki lehet mutatni. Hatásmechanizmusa: borátion negatív töltéssel látja el a gliceraldehidet, emiatt savas tulajdonság megszűnik, a nukleofil támadási pont eltűnik, csak az elektrofil központ marad meg. Összességében csökken a reakció hevessége, és a kellemetlen mellékreakció száma is jelentősen csökken. Másik ígéretes katalizátorjelölt a szilikát, amelynek az egyik fő előnye, hogy a Földön mindenütt közönségesen előfordul. Glikolaldehidet és gliceraldehidet egyenlő mértékben elegyítették és Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>-at adtak hozzá (ez amorf szilikátból bázikus körülmények közt keletkezik). A fő termékek közt megfigyelték a pentózok keletkezését, amelyeknek aránya a reakcióterben még 12 óra múlva is hasonló maradt (Lambert et al. 2010).

## *Nukleozid szintézis kérdésköre*

Áttérünk a nukleozidok képződésének problematikájára. Most tekintsünk el attól, hogy ribóz szintéziséhez más körülményekre van szükség, mint a nukleobázisokéhoz, tudniillik 45 °C felett a formózreakció hevessége nő, pentózok helyett barna színű massa keletkezik, 0 °C alatt meg nem megy végbe reakció. Következő kérdés merül fel. Hogy mehet végbe prebiotikus körülmények közt a nukleozidok képződése? Igaz a legújabb kísérletek fényében lehet, hogy erre a problémára van megoldás. Először tekintsük meg a klasszikus utat, amikor a ribózt és a bázist külön szintetizálták meg és próbálták egymással reagáltatni. D-ribózt közvetlenül melegítették hipoxantinnal szervetlen só (például MgCl<sub>2</sub>, de montmorillonit nem segít) jelenlétében (Orgel 2004), és körülbelül a 8% volt β-D-inozin kitermelés. Adeninnel nehezebb a helyzet, mivel ott az aminocsoportnál történik a kondenzáció. Ám alacsonyabb hőmérséklet esetén megfigyelték szabályos β-D-adenozin képződést is. Adenin, guanin esetén rengeteg mellékreakció nehezíti a nukleozid keletkezést (Saladino et al. 2005) (9. ábra). Probléma fő oka, hogy a ribóz sokkal hajlamosabb az aminocsoportnál reagálni a purinbázisokkal, mint glikozidos kötést képezni a purinok N<sup>9</sup>-es nitrogénatomjával.

Pirimidinek esetén sokkal rosszabb a helyzet: glikozidos kötés kialakulását nem figyeltek meg ribóz és pirimidinbázis közt. Shutterland és munkatársai (Orgel 2004) arabinóz-3-foszfátot, cianamidot és cianoactelilént reagáltattak egymással és sikeresen állítottak elő citidin-3-foszfátot. Ezzel csak az a gond, hogy prebiotikus körülmények közt nem világos, hogyan történhet az arabinóz-3-foszfát szintézise.

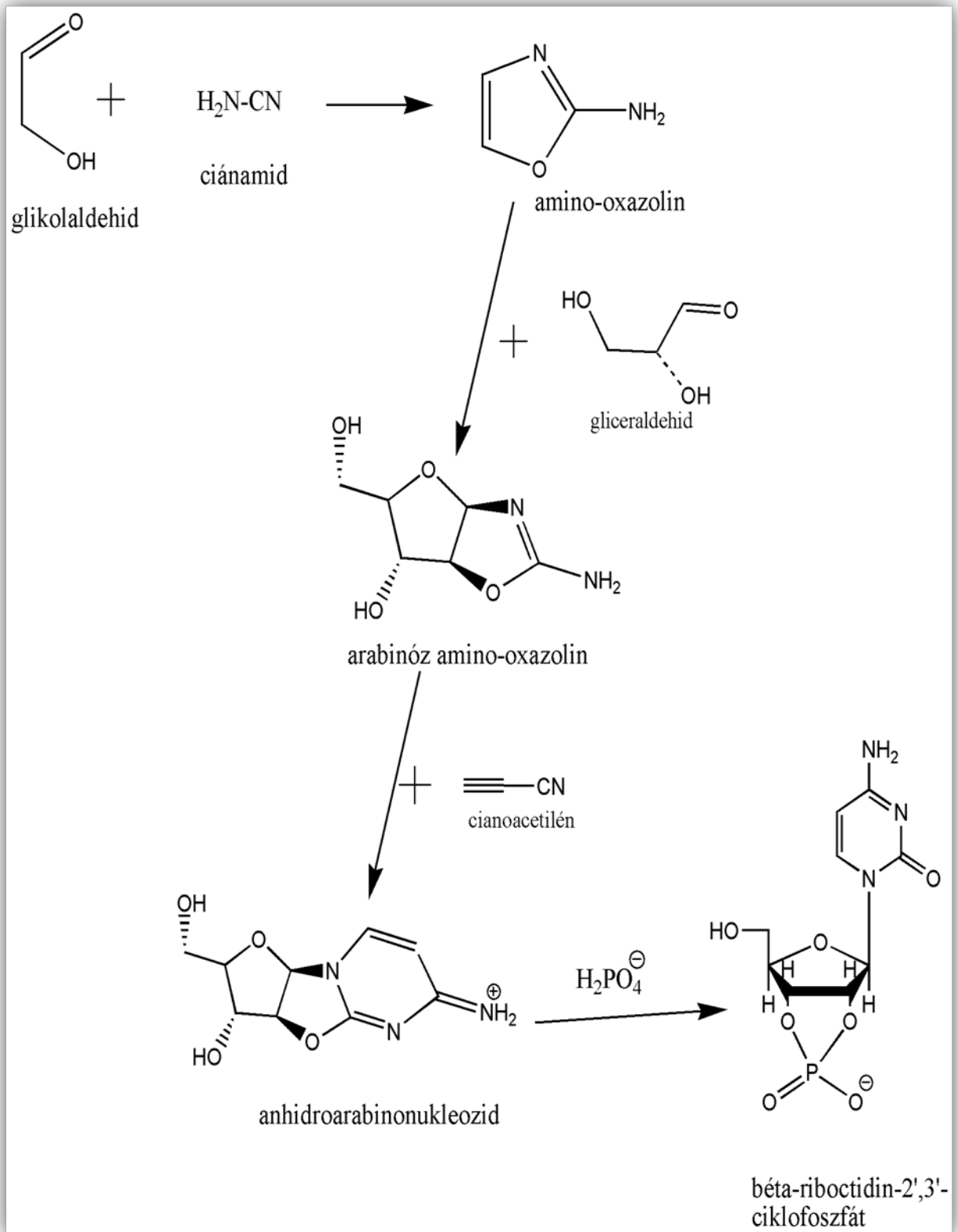


9. ábra: Adenin kondenzációja ribózzal



## *Ígéretes megoldások?*

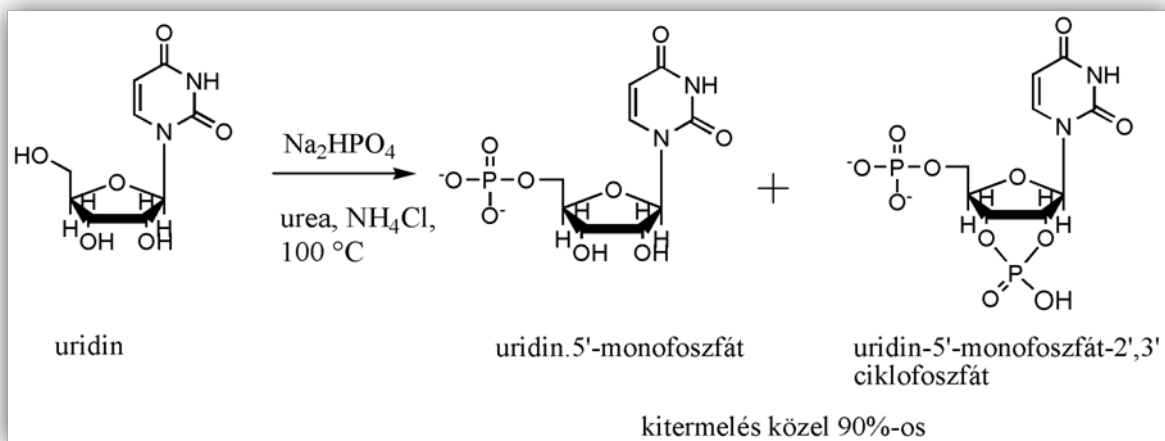
Fentebb leírtak miatt elég valószínűtlen a nukleozidok keletkezése klasszikus úton, amely során ribózt és bázist próbáltak egymással prebiotikusan reagáltatni. Emiatt 2009-ben egy kutatócsoport teljesen más megközelítést alkalmazott. Nem külön-külön akarták megszintetizálni a ribózt és a pirimidint, hanem együtt. Ciánamidot és glikolaldehidet elegyítettek 1 M-os foszfátpufferben semleges pH-n és 80% kitermelési hozamot sikerült elérni 2-amino-oxazolból. Ha ezt az anyagot gliceraldehiddel reagáltatták 40 °C-on, semleges pH-n, szervesen foszfát jelenlétében, pentóz amino-oxazolin keletkezett. Ezt reagáltatták cianoacetilénnel foszfátpufferben, és pH=6,5-nél anhidro-arabinonukleozid keletkezését észlelték nagy mennyiségben. Ezt szervesen foszfát és formamidós urea oldattal elegyítve  $\beta$ -ribocitidin-2,3-ciklofoszfáttá alakult (10. ábra). Következő lépésben a keletkezett  $\beta$ -ribocitidin-2,3-ciklofoszfátot besugározták 3 napig UV-vel, ennek hatására  $\beta$ -ribouridin-2,3-ciklofoszfát képződött. Kísérletben igazán az a szenzációs, hogy két-három szénatomos termékekből kiindulva létrehozták a foszforilált nukleozidot. Vagyis úgy tűnik a pirimidinbázisok szintéziséhez rendelkezünk egy olyan úttal ami prebiotikusan valószínű, ráadásul a foszforiláció kérdése, a cukorrész szintézise, és a glikozidos kötés kialakulásának nehézsége sem terheli. Azt mindenféleképp ki kell hangsúlyozni a pontosság kedvéért, hogy a foszfátpufferből az arabinonukleozidot át kellett helyezni formamidós ureaoldatba, hogy megtörténjen a foszforiláció (Powner et al. 2009). Purinnukleotidnál továbbra is megmaradtak ezek a kérdések, de az ő esetükben lehetséges a közvetlen szintézis bázisból és ribózból. Korábban már említettem, hogy  $\text{TiO}_2$  hatására a formamidban purin aciklonukleozidok keletkezését figyelték meg (Saladino et al. 2003). Ez a purinnukleozidok kialakulására kínál egy megoldást. Elképzelhető, ha együtt alkalmazunk különböző hatásokat, vagyis az oldatban emeljük a formaldehid koncentrációját, vagy talán borát ásványt adunk hozzá, megtörténik a komplett nukleozid kialakulása.



10. ábra: Citidin-2',3'-ciklofoszfát szintézise

## Foszforiláció

Nézzük a következő kérdést. Ha létrejöttek valahogy a nukleozidok, van-e mód a foszforilációjukra? Első gond, hogy a vízben a foszforiláció elég rossz hatékonysággal történik meg, mivel a víz és az aktivált foszfát intermedier verseng egymással. Emiatt más módokat kell találnunk a foszforilációra. Nukleozidok képesek foszforilálódni hevítés hatására száraz környezetben savas foszfátok jelenlétében, igaz ennek a hatékonysága elég alacsony. Különösen ígéretes az ammónium-hidrogén-foszfát, amiből melegítés hatására az ammónia eltávozik, hátramaradó hidrogén-foszfát megfelelően savas környezetet biztosít a reakcióhoz. Szerves oldószerek is jó közeget biztosítanak a kondenzálódásra. Nézzük formamid szerepét a nukleozidok foszforilációjában: (Saladino et al. 2009) 90% formamidos oldatban 90 °C-on 0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  foszfátdonor jelenlétében aránylag hatékony volt a nukleotid képződés, nukleozidok 25%-a foszforilálódott, ráadásul nagy részük 5' AMP volt, valamint 3',5' cAMP-t, 2',5' cAMP-t is detektáltak. Ha ezt vizes oldatban ismételték meg akkor sokkal rosszabb volt a foszforilálódási arány, csak 7,5%-uknál történt meg. Mivel 2',3'cAMP, és 3',5' cAMP vízben sokkal stabilabbak a nyílt formáknál (5'AMP, 2'AMP, 3'AMP), nőhet a foszforilált ciklonukleotidok aránya, így elképzelhető a foszforilált termékek felhalmozódása. Külön ki kell emelnem, hogy a formamid jelenlétében a vízben is megtörténik a nukleozidok foszforilációja, vagyis az ebben történő foszforiláció lehetőségét se szabad teljesen elvetni. Másik hatékony kondenzáló ágensnek az urea bizonyult. 1971-ben Orgel és munkatársai száraz környezetben ureával melegítettek a nukleozidokat szervesen foszfát jelenlétében, és sikeres foszforilációt figyeltek meg. Később tovább tökéletesítették az eljárást: 100 °C-on uridint hasonló mennyiségű  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  és nagy mennyiségű urea és ammónium-klorid mellett sikerült 97%-os kitermelést elérni (11. ábra).



11. ábra: Uridin foszforilációja

Citidin foszforilációja hasonló mértékű volt ilyen körülmények közt. Guanozin 71%-os, adenzin esetében 80% mértéket figyeltek meg. Fő termék mindnél a 2',3'-ciklikus alak volt. Zubay és munkatársai kutatták jobban ezt a kérdést. Száraz fázisban 100°C felett 2',3' ciklikus nukleotidok-foszfátok váltak dominánssá. Foszfátdonorok közül a polifoszfát és az ortofoszfát volt a leghatékonyabb, hidroxipatit kisebb mértékben, trimetafoszfátnál elhanyagolható mértékben történt foszforiláció (Saladino et al. 2005).

### *Oligomerizációja a monomereknek*

RNS lánc kialakulásának következő lépcsőfoka, a nukleotidok spontán polimerizációja. Első sikeres kísérletet e téren Orgel és munkatársai végezték 1970-es években, amikor templát jelenlétében sikerült aktivált nukleotidokkal (imidazol és 2-metilimidazol segítségével aktiválták) 20 monomer hosszúságú oligomerek képződését elérni, bár 2',5' foszfodiészter kötések tartották ezeket össze (Saladino et al. 2005). Ennél hosszabb oligomereket montmorillonit ásványi katalizátor jelenlétében figyeltek meg (Ferris 2002). Aktivált nukleotidként ImpA-t (adenozin 5'-foszfoimidazolid származéka) használtak a kísérlet első felében. A tapasztalati eredmény az volt, hogy a leghosszabb láncok elértek az akár 40-50 monomernyi is, de ennél hosszabbat nem sikerült előállítani. A kísérletet 1,7 ml-es centrifuga csövekben szobahőmérsékleten végezték, amiben összesen 40 µl térfogatú vizes oldat volt, ez pH=8-ra állították be. A primer egy tíz nukleotidnyi poliadenilát lánc volt. Előzetes vizsgálatok szerint az optimális mennyiség a montmorillonitból 2 mg. Először csak legfejlebb 17 monomerrel hosszabbodott a primereket figyeltek meg, de észrevették, hogy a kísérleti eljárás során (mosás, pipettázás) a montmorillonit egy része elveszett. Amikor ezt pótolták, sikerült a 40-50 monomernyi hosszúságot elérni. Eljárás hasonló volt az ImpU esetében is. Primerekhez aktivált uridineket adtak (ImpU, ami az uridin 5'-foszfoimidazolid származéka), és 6 nap után megfigyelték, hogy a primer húsz egységgel hosszabbodott, ez volt a maximális méret. Azoknál a primereknél, amelyekhez az ImpA-t adtak hozzá a 3',5' foszfodiészter kötések domináltak, ám ImpU-t esetében a 2',5' foszfodiészter kötések voltak többségben. Korábban már jelezték, hogy 6-13 nukleotid hosszú oligomerek keletkezését templát nélkül Na-montmorillonit jelenlétében pH 8-nál vizes oldatban 25 °C. Ez aktivált adenzin, guanozin, uridin, citidin és inozin 5'-monofoszfátnál is megtörténik. Ennél sokkal érdekesebb az a kísérlet, amiben katalizátor nélkül, vízben figyelték meg RNS oligomerek keletkezését. Külön érdemes kiemelni, hogy semmilyen aktiváló ágenst nem kellett külön a foszfátcsoportozhoz kapcsolni, hogy hatékonyan megtörténjen a polimerizáció. Ráadásul 3'5' ciklonukleotidok keletkezését már korábban megfigyelték prebiotikusan. A 3',5'-cGMP

1mM-os koncentrációban 85 °C-on viszonylag gyorsan 25 nukleotid hosszúságú láncokká álltak össze. 3',5'-cAMP-vel is elvégezték ezt a kísérletet. 30 perc alatt a 16 nukleotid hosszúságú láncok keletkeztek, 200 óra múlva 120 nukleotid hosszú polimerek is megjelentek. Kisebb problémaként megemlíthető a 3',5' cUMP-nél és 3',5' cCMP-nél csak rövid fragmentumok jöttek létre előbbiekhöz hasonló körülmények közt, amik sajnos nem növekedtek tovább. Enzimatis emésztéssel feltárták, hogy a keletkezett oligomerekben kanonikus 3',5' foszfodiészter kötések kapcsolják össze a monomereket (Costanza et al. 2009).

## Diszkusszió

Próbáljunk elképzelni egy lehetséges forgatókönyvet. Vihar, nagyobb dagály után létrejön egy sekély tavacska a szárazföldön. HCN a légkörből beleoldódik és elhidrolízál formamiddá. Magas hőmérséklet hatására a víz párolog, a tavacskában a formamid betöményedik, megnő a koncentrációja. Tavacska alja montmorillonit tartalmú ásvány, vagy  $\text{TiO}_2$  tartalmú kőzet, de mindenképp tartalmaz foszfáttartalmú ásványt is. Mikor elérte a megfelelő koncentrációt a formamid, az ásványi katalizátorok hatására megtörténik a formamid kondenzációja (külső hőmérsékletnek  $90\text{-}160\text{ }^\circ\text{C}$  közt kell lennie) és nukleobázisok, aciklonukleozidok és sok egyéb vegyület keletkezik. Elképzelhető, ha körülmények megfelelőek talán komplett nukleozid keletkezése is lehetséges, mivel laborkísérletek során  $\text{TiO}_2$  katalizátor jelenlétében megfigyelték, hogy a purinon  $\text{N}^9$  pozícióban két-három szénatomos cukorlánc kapcsolódott. Nukleozidok foszforilációja lejátszódik a kőzet foszfáttartalmával formamid jelenlétében, ezenkívül a formamid elősegíti a nukleotidok oligomerizációját is (Saladino et al. 2006).

Mi a baj ezzel az elképzeléssel? Magas hőmérséklet hatására gyorsan lebomlanak a bázisok. Ám a bomlástermékek bekapcsolódhatnak egy másik ciklusba, és a bázis újra kialakulhat, vagyis a keletkezés és a lebomlás ciklikus folyamat. Guanin és az adenin a legérzékenyebb erre, náluk a pirimidinbázisok stabilabbak valamelyest. Vagyis ha kialakulnak a nukleotidok és az oligomerek, a magas hőmérséklet és a formamidos közegben nem kedvez a stabilitásuknak. A vizsgálatok során észrevették (Saladino et al. 2007), hogy van egy olyan termodinamikai niche, ahol a polimerben a foszfátkötés stabilabb, mint a monomerben. Ezt a jelenséget RNS esetében  $90\text{ }^\circ\text{C}$ -on 66%-nál töményebb formamid oldatban figyelték meg. Igaz, a kötések félideje ilyen hőmérsékleten párezer percre csökken.

A nehézségek miatt felvetették sokan, hogy lehetséges, hogy az élet nem az RNS-ekkel kezdődött, hanem egy másik genetikai rendszer megelőzte azt. Eddigi kutatások szerint az egyik legígéretesebb ilyen molekula a treóznukleinsav (TNS), amelyben az  $\alpha$ -L-treózfuranozil egységeket 3',2' foszfodiészter kötések kapcsolják össze. Egyszerű felépítésűek, nincsen sok változatuk, és a formóz reakció során könnyedén keletkeznek a treózok. Mind a saját komplementerével mind egy RNS komplement szállal képes a TNS lánc Watson-Crick bázispárosodási szabály szerint kettős szálat alkotni. Nem nehéz elképzelni a

TNS-világ RNS világba való átfordítását, mivel a TNS és az RNS szál képes heteroduplexet alkotni, és egy TNS szálba csatlakozhatnak ribonukleotidok is. Másik ilyen ígéretes pre-RNS polimer a peptidnukleinsav vagyis PNS. Polimer gerincét N-(2-aminoetil)glicin egységek alkotják, melyekhez a bázisok metilén kötéssel csatlakoznak. PNS nemcsak magával, hanem RNS-sel is képes duplexet alkotni. Probléma vele, hogy még nem sikerült prebiotikus körülmények közt előállítani PNS monomereket.

Szakedolgozatom végén érdemes említést tennem a prebiotikus kémiáról, ami a laboratóriumokban folyik. Olyan kísérleti körülményeket próbálnak előállítani, amely elképzelhető lehetett az ősi Földön. Fokozza a nehézséget, hogy nem tudunk sokat arról, hogy pontosan milyen körülmények uralkodtak akkor. Ennek ellenére létezik néhány elv, ami alapján megmondható, hogy egy kísérlet prebiotikus vagy nem. Például: vizes oldatban is le kell tudnia játszódnia, vagy legalábbis oldószerek jelenléte nélkül. A keletkező termék mennyisége szignifikáns, vagy minimum szintézist végző szerint az. Mindezek mellett a legfontosabb hogy a kiindulási anyagok jelenléte legyen valószínűsíthető az ősi Földön. Innen látszik, jó pár szubjektív elem van annak eldöntésében, hogy egy kísérlet mennyire prebiotikus (Orgel 2004). Sok ilyen kísérlet eredményez összetett polimeret, ha nem megfelelő időben vesznek belőle mintát, vagy állítják le. Ennek tipikus példája a HCN polimerizációja, ami során, ha szignifikánsnak mondható mennyiségű nukleobázist szeretnének kapni, el kell hidrozálniuk a komplex polimert. Ez a forgatókönyv nem képzelhető el könnyen prebiotikusan. Montmorillonitos kísérlet során Ferrisék American Colloid Company által ajándékba adott homoionikus  $\text{Na}^+$ -montmorillonit használtak. Két apró kérdés merül fel: található természetben is ugyanilyen minőségű ásvány, ha nem akkor a természetes montmorillonit hasonló hatékonysággal katalizálja-e az oligomerizációját az aktivált nukleotidoknak. Még az utóbbi évek egyik legígéretesebb prebiotikus nukleotidszintézisének is vannak kisebb gondok, amik kritikára adnak okot. Ha egyszerűen megfelelő koncentrációiban elegyítették volna egymással a glikolaldehidnek, gliceraldehidnek, ciánamidnak, cianoacetilént kialakult-e volna anhidro-arabinonukleozid, vagy a mellékreakciók rossz irányba vitték volna el az egészet. Ha még így is sikeres a reakció a keletkezett anhidro-arabinonukleozidnak, át kell kerülnie egy másik környezetbe, hogy megtörténjen a foszforilációja. Kétféle módot találtak arra, hogy végbemenjen ez. Az egyik, hogy száraz környezet helyezették át és urea és pirofoszfát jelenlétében hevítették. Másik megoldás az volt, hogy ureás formamid oldatban melegítették szervesetlen foszfát jelenlétében. Összes kísérletnél meg lehet jegyezni, hogy pár napig, vagy hétig futott a reakció, mintát

vetek belőle, amit kielemezték. Addig az ősi Földön a prebiotikus „kísérletek” lejátszódásához évmilliók álltak rendelkezésre.

Szerintem egy „tökéletes” nukleotid szintézis úgy képzelhető el, hogy reakcióterbe belehelyezik a megfelelő katalizátorokat (olyan ásványok, amik előfordulnak természetes körülmények közt), és a kiindulási anyagokat (pár szénatomos szerves vegyület), ezután a kémiai-fizikai körülményeket beállítva indítják a kísérletet, ami után napokat, vagy ennél is hosszabb időt várnak. Ennek a kísérletnek végén nukleotidok, vagy rövidebb oligomerek is megjelennek, amik a reakcióterben hetekig, sőt hónapokig megmaradnak. Ám ha mindenféleképp kell a sikeres kísérlethez valamilyen laboratóriumi eljárást végezni, vagyis nem elég csak magára hagyni és várni, abban ne legyen radikális hőmérsékletváltoztatás, pH-változtatás, környezetváltoztatás. Sajnos az eddigi prebiotikus kísérletekről ezek nem mondható el, sőt a különböző sikeres részreakciók körülményei sem kompatibilisek. Nem lehet olyan sort összerakni, ami egyik végén a rövid szerves molekulák, másik végén RNS oligomerek találhatók, közben pedig hasonló körülmények közt lejátszódó kémiai reakciók vannak. Kis optimizmusra ad okot, ha megnézzük az első kísérlet óta milyen nagy sikereket értünk el, talán 40-50 év múlva sokkal kevesebb fehér folt marad az emberiség tudásában ezen a téren.



## Összefoglalás

Az élet egyszerű szerves anyagokból önszerveződéssel, kémiai folyamatok révén lépcsőről-lépcsőre jött létre. Először az összetettebb molekulák (aminosavak, cukrok, zsírsavak nukleotidok) jelentek meg. Megfelelő körülmények között ezeknek tovább növekedhetett az összetettségük és kialakulhattak az első élőlények. A mai DNS-fehérjén alapuló rendszert megelőzte egy olyan világ, amelyben mind az információátvitelért, mind az enzimműködésért RNS-ek voltak felelősek. Az RNS világ létrejöttéhez elengedhetetlen, hogy az RNS építőkövei a nukleotidok, sőt rövidebb oligonukleotidok is keletkezzenek prebiotikus körülmények között. Szakdolgozatomban az RNS építőköveinek, a nukleotidoknak a prebiotikus szintézisével foglalkoztam valamint azzal, hogy ezek hogyan képesek oligomereket alkotni.

Legelső kísérletek során HCN polimerizációjával próbálták a kutatók nukleobázisokat szintetizálni. Két probléma merült fel. Az egyik, hogy prebiotikus körülmények közt a megfelelő koncentráció, amelyen beindulhat a polimerizáció csak 0 °C alatti hőmérsékleten képzelhető el. A másik a HCN a polimerizációja során komplex vegyületeket alkot, amit savas vagy bázikus körülmények közt lehet nukleobázisokká és egyéb termékekké alakítani. Ezek miatt kérdésessé válik a HCN szerepe nukleotidok prekursoraként. Másik ígéretes vegyület a formamid, amiből ásványi katalizátorok segítségével sok fontos nukleobázist sikerült szintetizálni, kivéve a guanint. Sajnos itt is vannak nehézségek. Mivel nukleobázisok szintéziséhez magas hőmérséklet (100 °C feletti) szükséges, amelyek emiatt keletkezés után nemsokkal el is bomlanak. Az előbbieken felül a nukleozidok kialakulása bázisokból és ribózból is újabb kérdéseket vet fel. Uridin vagy, citidin kialakulását közvetlenül a ribóz és a bázis kondenzációval nem sikerült elérni, adenzin és guanozin keletkezése is elég kérdéses. Utóbbi években, úgy tűnik, hogy van megoldás. TiO<sub>2</sub> katalizátor jelenlétében formamidok közegben aciklonucleozidok (N<sup>9</sup> atomon 2-3 szénatomos cukrot tartalmazó purinbázisok) keletkeznek. Következő jelentős kísérlet 2009-ben történt, amely során két-három szénatomos prekursorokból sikerült közel hasonló körülmények közt foszforilált citidint előállítani. Újdonság az volt, hogy nem külön-külön állították elő a bázist és a cukrot, és utána reagáltatták, hanem olyan reakciósort találtak, amely során a két komponens egyszerre áll össze, és a nukleozid a foszforiláció során alakult ki. Nukleotidok oligomerizációjának legígéretesebb eredménye, hogy a 3',5' cGMP és 3',5'cAMP spontán polimerizálódik vizes közegben.

## Abstract

Life had developed step by step from inorganic materials through self-organization by chemical processing. First, complex molecules, like amino acids, carbohydrates, fatty acids and nucleotides, appeared. In the proper condition and circumstances these molecules become more complex, and in the end formed the first living organism. Before the present systems of DNA-protein based life there was a world, where RNAs stored information and acted as enzymes. As a minimal prerequisite for the RNA world nucleotides had to be formed, moreover oligonucleotides need to be assembled. In my thesis I deal with nucleotides as building block of RNA and how it could develop oligomers.

Early studies tried to synthesize nucleobases by polymerization of HCN polymerization. There are two major problems with the reaction: (a) under prebiotic conditions proper condensation begins below 0 °C; and (b) polymerization does not stop at nucleobases, but results in huge, complex polymers, that could only yield nucleobases after hydrolysis. It is thus doubtful that HCN acted as the prebiotic precursor of nucleobases. Formamide proved to be a promising candidate. It can yield a number of important nucleobases on mineral surfaces, except guanine. Unfortunately there are some problems as well. The reaction requires temperature over 100 °C, at which nucleobases degrade right after forming. A further question is the production of nucleosides from bases and ribose. There was no success to form uridine or cytidine with ribose and base condensation. It is also doubtful, that guanosine and adenosine could be formed. A recent study might offer a solution: reactions starting from formamide was shown to yield acyclonucleosides in the presence of TiO<sub>2</sub>. Furthermore, another recent study described the formation of cytidine under the same condition from 2-3C precursors. The novelty of the result lies in the fact that the nucleobase and the sugar forms together, and the product can be phosphorylated in the same reaction mixture. Oligomers can be formed both on mineral surfaces and in aqueous solution.

# Irodalomjegyzék

- Costanza, G., Pino, S., Ciciriello, F. & Mauro, E. D. 2009 Generation of Long RNA Chains in Water. *Journal of Biological Chemistry* **284**, 33206-33216.
- Costanzo, G., Saladino, R., Crestini, C., Ciciriello, F. & Mauro, E. D. 2007 Formamid as the Main Building Block in the Origin of Nucleic Acids. *BMC Evolutionary Biology* **7**, 1-8.
- Ferris, J. P. 2002 Montmorillonite Catalysis 30-50 mer Oligonucleotides: Laboratory Demonstration of Potential Steps in the Origin of the RNA World. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **32**, 311-332.
- Joyce, G. F. 2002 The Antiquity of RNA-Based Evolution. *Nature Publishing Group* **418**, 214-221.
- Lambert, J. B., Gurusamy-Thangavelu, S. A. & Ma, K. 2010 The Silicate-Mediated Formose Reaction: Bottom-Up Synthesis of Sugar Silicates. *Science* **327**, 984-986.
- Miyakawa, S., Cleaves, H. J. & Miller, S. L. 2001a The Cold of Origin of Life: A. Implications Based on the Hydrolytic Stabilities of Hydrogen Cyanide and Formamide. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **32**, 195-208.
- Miyakawa, S., Cleaves, H. J. & Miller, S. L. 2001b The Cold Origin of Life: B. Implications Based on Pyrimidines and Purines Produced from Frozen Ammonium Cyanide Solutions. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere* **32**, 209-218.
- Orgel, L. E. 2004 Prebiotic Chemistry and the Origin of the RNA World. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **39**, 99-123.
- Powner, M. W., Gerland, B. & Sutherland, J. D. 2009 Synthesis of Activated Pyrimidine Ribonucleotides in Prebiotically Plausible Conditions. *Nature Publishing Group* **459**, 239-242.
- Ricardo, A., Carrigen, M. A., Olcott, A. N. & Brenner, S. A. 2004 Borate Minerals Stabilize Ribose. *Science* **303**, 196.
- Ricardo, A., Frey, F., Carrigen, M. A., Tipton, J. D., Powell, D. H. & Benner, S. A. 2006 2-Hydroxymethylboronate as a Reagent to Detect Carbohydrates: Application to the Analysis of the Formose Reaction. *JOCNote* **25**, 9503-5.
- Saladino, R., Ciambecchini, U., Crestini, C., Costanzo, G., Negri, R. & Mauro, E. D. 2003 One-Pot TiO<sub>2</sub>-Catalyzed Synthesis of Nucleic bases and Acyclonucleosides from Formamide: Implications for the Origin of Life. *ChemBioChem* **4**, 514-521.
- Saladino, R., Crestini, C., Ciciriello, F., Costanzo, G. & Mauro, E. D. 2006 About a Formamide-Based Origin of Informational Polymers: Syntheses of Nucleobases and Favourable Thermodynamic Niches for Early Polymers. *Orig Life Evol Biosph* **36**, 523-531.
- Saladino, R., Crestini, C., Ciciriello, F., Costanzo, G. & Mauro, E. D. 2007 Formamid Chemistry and the Origin of Informational Polymers. *Chemistry & Biodiversity* **4**, 695-718.
- Saladino, R., Crestini, C., Ciciriello, F., Pino, S., Costanzo, G. & Mauro, E. D. 2009 From Formamide to RNA: the Roles of Formamide and Water in the Evolution of Chemical Information. *Research in Microbiology* **160**, 441-448.
- Saladino, R., Crestini, C., Costanzo, G. & DiMauro, E. 2005 On the Prebiotic Synthesis of Nucleobases, Nucleotides, Oligonucleotides, Pre-RNA and Pre-DNA Molecules. *Top Curr Chem* **259**, 29-68.
- Saladino, R., Crestini, C., Costanzo, G. & Mauro, E. D. 2004 Advances in the Prebiotic Synthesis of Nucleic Acids Bases: Implications for the Origin of Life. *Current Organic Chemistry* **8**, 1425-1443.
- Saladino, R., Crestini, C., Costanzo, G., Negri, R. & Mauro, E. D. 2000 A Possible Prebiotic Synthesis of Purin, Adenin, Cytosine, and 4(3)-Pyrimidinone from Formamide: Implications for the Origin of Life. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **9**, 1249-1253.
- Senanayake, S. D. & Idriss, H. 2006 Photocatalysis and the Origin of Life: Synthesis of Nucleoside Bases from Formamide on TiO<sub>2</sub>(001) Single Surfaces. *PNAS* **103**, 1194-1198.
- Wächtershäuser, G. 1987 An all-purine precursor of nucleic acids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 1134-1135.

Zubay, G. & Mui, T. 1999 Prebiotic Synthesis of Nucleotides. *Origin of Life and Evolution of the Biosphere* **31**, 87-102.

## **Köszönetnyilvánítás**

*Szeretném megköszönni a témavezetőmnek, Kun Adámnak a rengeteg segítséget és a sok hasznos tanácsot. Bármilyen felmerülő problémámra hathatós segítséget nyújtott, a nehezen elérhető cikkeket megkereste nekem, és elküldte. Nélküle nem sikerülhetett volna a szakdolgozatom.*