

Podstawowy dogmat biologii molekularnej

Mirostawa Barciszewska
Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Poznań

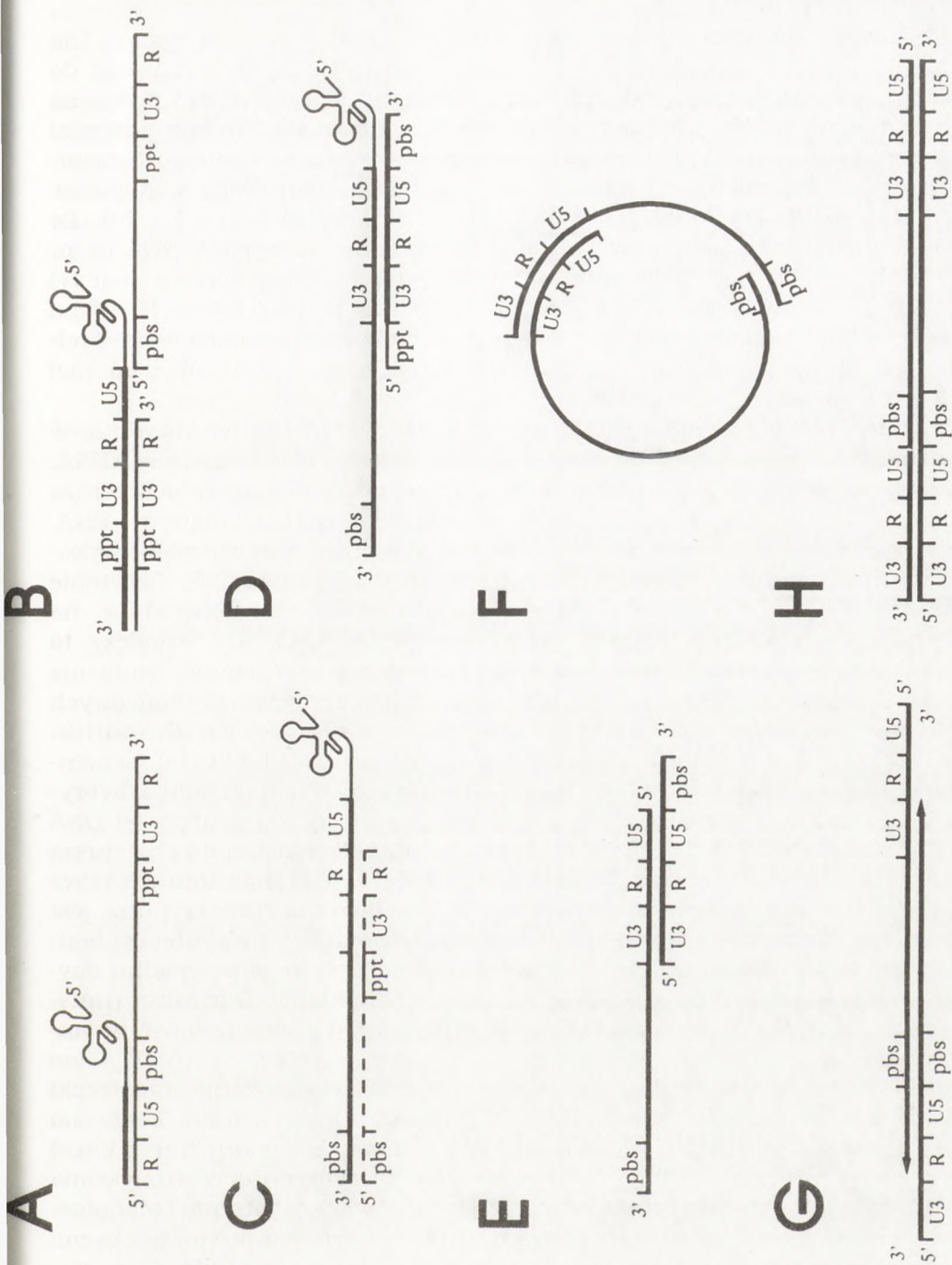
Model struktury DNA zaproponowany przez Watsona i Cricka potwierdził wcześniejsze przypuszczenia, że cała informacja genetyczna zawarta jest w genach. Stało się oczywiste, że DNA jest nośnikiem informacji genetycznej, a struktura podwójnej helisy DNA wskazywała możliwość przekazywania tej informacji w wyniku specyficznego parowania zasad A-T i G-C. Pod koniec lat pięćdziesiątych F.Crick zaproponował, że informacja zawarta w DNA przekazywana jest do białka poprzez RNA mając na myśli rybosomalny RNA. Zatem określony łańcuch zależności: jeden DNA, jeden rybosomalny RNA, jeden rybosom oraz jedno białko tworzy naturalną drogę przepływu informacji genetycznej. Mało kto zauważył początkową nieścisłość tej hipotezy. F.Crick zweryfikował swoją propozycję wpisując do znanego nam dzisiaj centralnego dogmatu biologii molekularnej informacyjny a nie rybosomalny RNA.

Biosynteza białka, zgodnie z odczytaną informacją genetyczną zawartą w mRNA zachodzi na rybosomie. Tam znajdują się dwa miejsca wiązania A i P wiążące odpowiednio aminoacylo-(A) i peptydylo-(P) transferowe kwasy rybonukleinowe (tRNA).

Prostota centralnego dogmatu spowodowała szybki rozwój badań w zakresie biosyntezy białka i kodu genetycznego. W miarę przybywania nowych danych okazało się, że dogmat ten nie uwzględnia wszystkich możliwości i musi być zmodyfikowany. Pod koniec lat 60. Howard Temin (Uniwersytet Wisconsin, USA) i David Baltimore (MIT, Cambridge) zauważyli, iż niektóre wirusy (retrowirusy) zawierają RNA jako jedyny materiał genetyczny oraz, że informacja w nich zawarta przepisywana jest na DNA za pomocą polimerazy DNA zależnej od RNA (odwrotna transkryptaza). Odkrycie tego enzymu spowodowało rewizję centralnego dogmatu biologii molekularnej poprzez dodanie jeszcze jednego możliwego kierunku przepływu informacji od RNA do DNA.



Za proces ten odpowiedzialna jest odwrotna transkryptaza. Jest to jedyny enzym wirusowy, niezbędny dla syntezy prowirusowego DNA (EC 2.7.7.49), kodowana przez region *pol* genomowego RNA. Katalizuje on syntezę łańcuchów polinukleotydowych na matrycy RNA. Ponadto enzym ten wykazuje



Rys. 1. Schemat przebiegu odwrotnej transkrypcji (zob. tekst).

aktywność RNazy H, hydrolizującej wiązania fosfodwuestrowe RNA w hybrydach DNA-RNA.

Mechanizm odwrotnej transkrypcji (2) przedstawiony jest na rys. 1. Dla inicjacji łańcucha konieczny jest starterowy tRNA. Ulega on związaniu do genomowego RNA w miejscu pbs. Do końca 3' tRNA polimeraza RNA przyłącza kolejne dezoksynukleotydy inicjując syntezę nici (-) DNA (A). Produkt pośredni — komplementarny do 5' końcowego regionu genomu wirusowego przenoszony jest na 3' koniec innej lub tej samej cząsteczki wirusowego RNA wiążąc się z rejonem R, co pozwala na kontynuację syntezy nici (-) DNA (B). Po ukończeniu syntezy nici (-) DNA, RNaza H degraduje matrycowy RNA pozostawiając odcinek bogaty w puryny ppt (C), który inicjuje syntezę nici (+) DNA (D). Po zakończeniu syntezy pierwszego odcinka (+) DNA RNaza H odcina starterowy RNA i odcinek ppt (E), następuje hybrydyzacja komplementarnych odcinków pbs (F) w wyniku czego zostaje ukończona synteza obydwu nici DNA (G) i powstaje prowirusowy DNA (H).

Wspólną cechą enzymów katalizujących syntezę DNA jest ich niezdolność do inicjacji łańcucha *de novo*. Dla syntezy konieczny jest starterowy tRNA, posiadający wolną grupę hydroksylową na końcu 3', do której polimeraza przyłącza kolejne dezoksynukleotydy, komplementarne do matrycy RNA. Wszystkie, dotychczas opisane, odwrotne transkryptazy retrowirusowe wykorzystują, jako startery cząsteczki transferowych RNA gospodarza. Tworzenie kompleksu tRNA z odwrotną transkryptazą wpływa prawdopodobnie na rozluźnienie struktury ramienia akceptorowego tRNA (3, 4). Świadczy to o zdolności odwrotnej transkryptazy do częściowego rozplatania ramienia akceptorowego. Aktywność ta jest niezbędna dla hybrydyzacji 3' końcowych odcinków tRNA z komplementarnym miejscem pbs w genomowym RNA wirusa (5). Ramiona akceptorowe i rybotymidyny są najbardziej stabilnymi elementami struktury tRNA i nie mogą ulegać spontanicznemu topnieniu i hybrydyzacji z pbs (6). Transferowe RNA, stanowiące startery dla syntezy (-) DNA poza komplementarnością 3' końcowej sekwencji nukleotydowej do pbs muszą wykazywać pewne cechy strukturalne, decydujące o rozpoznawaniu ich przez odwrotną transkryptazę. Oddziaływanie tRNA z odwrotną transkryptazą jest specyficzne i może być porównywane do oddziaływania tRNA z syntetazą aminoacylo-tRNA. Analogia ta jest tym bardziej uderzająca, że w przypadku obydwu kompleksów istotną rolę odgrywa pętla antykodonu. Odwrotne transkryptazy różnych retrowirusów wykazują zróżnicowaną specyficzność w stosunku do tRNA. Enzymy wirusów ptasich z grupy AMV/ASV (AMV-Avian Myeloblastosis Virus, ASV-Avian Sarcoma Virus) wykorzystują cząsteczki tRNA^{Trp} jako startery dla syntezy DNA. W przypadku MuLV (Murine Leukemia Virus) starterem jest tRNA^{Pro} natomiast MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus) i HIV-1 wykorzystują tRNA^{Lys}₃. Wydaje się, że o specyficzności oddziaływania tRNA z odwrotną transkryptazą decyduje budowa samego enzymu. Monomeryczny enzym MuLV wiąże kilka różnych tRNA z podobnym powinowactwem. Dimeryczne enzymy wirusów ptasich wykazują wysoką specyficzność w stosunku do tRNA^{Trp}, podobnie jak enzym HIV-1 w stosunku do tRNA^{Lys} (1).

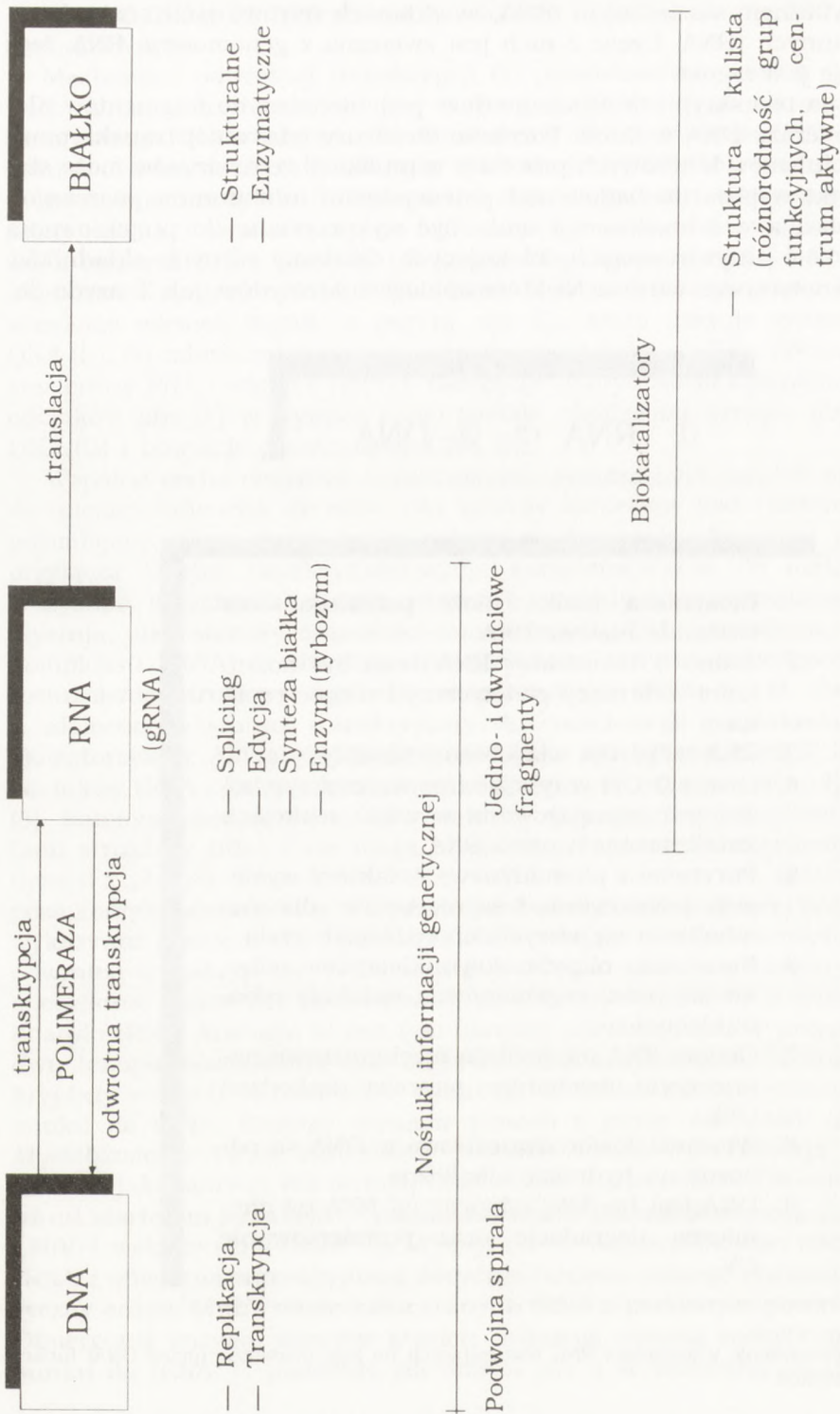
Poza specyficznym starterowym tRNA, w wirionach retrowirusów stwierdzono obecność innych tRNA. Część z nich jest związana z genomowym RNA, lecz ich rola nie jest znana.

Odwrotna transkryptaza wykazuje duże podobieństwo do fragmentów Klenowa polimerazy DNA z *E.coli*. Poznanie struktury odwrotnej transkryptazy oraz mechanizmów kluczowych procesów w replikacji retrowirusów może stanowić punkt wyjścia do badań nad potencjalnymi inhibitorami poszczególnych etapów, a w konsekwencji może być wykorzystane do projektowania nowych leków antywirusowych, blokujących działanie różnych składników aparatu genetycznego wirusa. Niektóre analogi nukleotydów, jak 3' azido-de-

① RNA ↔ ② DNA

1. Biosynteza białka może przebiegać bez DNA, ale nie bez RNA.
2. Jedno- i dwuniciowe RNA mogą być nośnikami informacji genetycznej i ulegać replikacji.
3. RNA wykazują właściwości katalityczne.
4. Grupa 2-OH w rybozie (nie w dezoksyrybozie) jest zaangażowana w wielu reakcjach katalizowanych przez RNA.
5. Purynowe i pirymidynowe kofaktory występują powszechnie i są niezbędne dla metabolizmu we wszystkich rodzajach życia.
6. Biosynteza oligodezoksynukleotydów odbywa się przez enzymatyczną redukcję rybonukleotydów.
7. Genom RNA nie podlega mechanizmom naprawczym (mechanizm naprawy uszkodzeń UV).
8. Wiązania fosforodwuestrowe w DNA są odporne na hydrolizę alkaliczną.
9. DNA jest bardziej odporny od RNA na chemiczną degradację oraz promieniowanie UV.

Rys. 2. Zestawienie właściwości RNA wskazujących na jego pierwotną (przed DNA) funkcje nośnika informacji.



Rys. 3. Schemat centralnego dogmatu biologii molekularnej.

oksytymidyna (AZT) i dideoksyinozyna (ddI), blokują aktywność odwrotnej transkryptazy i są wykorzystywane w terapii AIDS. Związki te nie posiadają grupy hydroksylowej przy atomie węgla 3' dezoksyrybozy i po wbudowaniu do nowo tworzonego łańcucha DNA powodują terminację jego syntezy.

Odkrycie odwrotnej transkrypcji, a następnie *splicingu* RNA wyraźnie zmodyfikowało poglądy na mechanizm przepływu informacji genetycznej co spowodowało, że centralny dogmat biologii molekularnej stał się mniej czytelny. Jeśli jeszcze dodać redagowanie (*editing* RNA) z udziałem gRNA (*guide*) oraz *splicing* białek, dyskutowany dogmat nie rysuje się już tak klarownie jak to się na początku wydawało. Przy założeniu, że RNA mają właściwości katalityczne okaże się, że pierwotnym materiałem genetycznym był RNA a nie DNA (rys. 2). Dysponujemy wieloma dowodami na potwierdzenie tego stwierdzenia (zob. schemat — rys. 2).

Podsumowując można powiedzieć, że obecnie dogmat biologii molekularnej przedstawia się inaczej aniżeli pod koniec lat 50. Jego obecną postać przedstawia rys. 3. Jednoznacznie z niego wynika, że kwasy nukleinowe są nośnikami informacji genetycznej, a białka są biokatalizatorami. Obecnie wiadomo, że właściwości katalityczne charakteryzują również cząsteczki RNA.

Literatura

1. Jacobo-Molina A., Arnold A., (1991), *Biochemistry*, 30, 6351 – 6361.
2. Peliska J.A., Benkovic S.J., (1992), *Curr. Biol.*, 2, 521 – 523.
3. Araya A., Sarik L., Litvak S., (1979), *Nucleic Acids Res.*, 6, 3831 – 3843.
4. Litvak s., Araya A., (1982), *Trends Biochem. Sci.*, 7, 361 – 364.
5. Bordier B., Tarrago-Litvak L., Sallafranque-Andreola M.L., Robert D., Tharand D., Fournier M., Barr P.J., Litvak S., Sarik-Cottin L., (1990), *Nucleic Acids Res.*, 18, 429 – 436.
6. Sallafranque Andreola M.L., Robert D., Barr P.J., Fournier M., Litvak S., Sarik-Cottin L., Tarrago-Litvak L., (1989), *Eur. J. Biochem.*, 184, 367 – 374.

Central dogma of molecular biology

Summary

In this article evolution of the central dogma DNA RNA protein was discussed. Especially some properties of reverse transcriptase were described.

Also new findings on RNA catalysis, which make flow chart of the genetic information more complicated were presented.

key words:

genetic information; reverse transcriptase; RNA catalysis; origin of life.

Adres dla korespondencji:

Mirosława Barciszewska, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, ul. Noskowskiego 12, 61-704 Poznań.