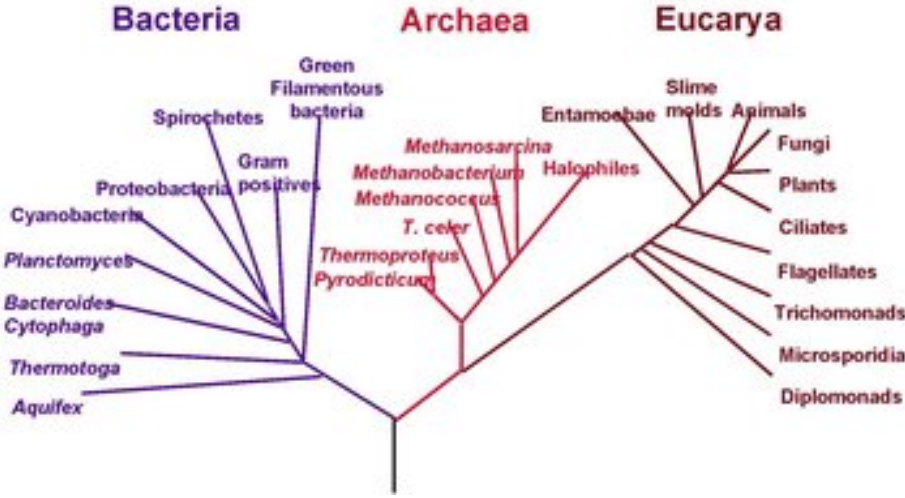


Moleküler Evrimin Kilit Molekülü: RNA

Yaşam yaklaşık olarak 4 milyar yıl önce ortaya çıkmıştır ve yaşamın kökeni sadece dolaylı kanıtlar kullanılarak ortaya konulmak zorundadır. Biyologlar, farklı bilgi kırıntılarını bir araya getirmeye ve bunları yap-boz bilmecenin parçaları gibi uygun biçimde birleştirmeye yönelmişlerdir.

Phylogenetic Tree of Life

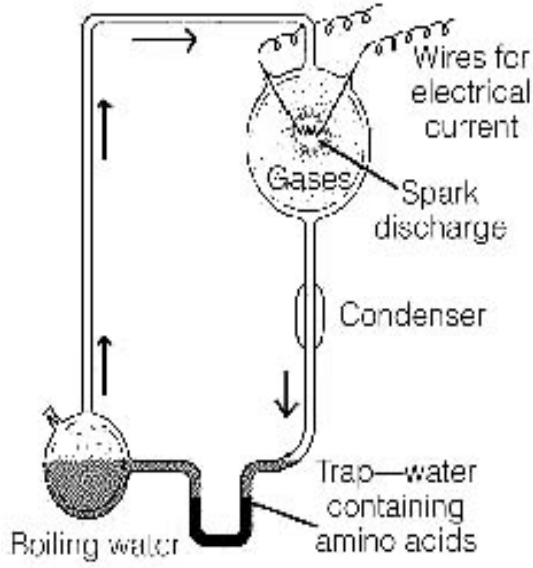


Panspermia Hipotezi

Murchison Meteoriti

Meteoritteki amino asitler rasemikti; yani D- ve L- stereoizomerlerin oranları hemen hemen eşitti. Yerküre'deki biyolojik amino asitlerin hemen hepsi saf L- formunda olduğundan, meteoritte bulunan bileşiklerin kaynağı yerküresel yaşam olamazdı. Ayrıca Murchison meteoritinin bir diğer önemli getirisi de, en azından bazı organik moleküllerin yer yüzüne düştüklerinde canlı kalabildiklerinin doğrudan kanıtı olmasıdır.

1920'lerde ilk olarak Oparin ve Haldane'in ortaya attığı prebiyotik çorba modelinin, 1953'te Miller ve Urey tarafından deneyi gerçekleştirilmiştir. Yerküre'nin ilk canlılığın ortaya çıktığı zamandaki çevre şartlarını yansıtan, sıcak su buharı, metan, amonyak ve hidrojenle oluşan ve indirgen bir karaktere sahip atmosferin küçük bir maket düzenine inşa ettiler. Sistem bir hafta kadar işlediğinde, kırmızı renk alarak bulanıklaşan sıvı, kromatografiyle test edilmiş ve içerisinde glisin, α -alanin ve β -alanin gibi sık bulunan amino asitler bulunmuştur.



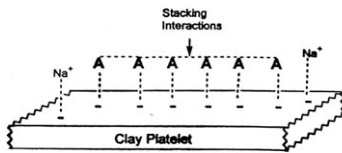
Oparin-Haldane'in Takipçileri

1972'de Fox ve Dose ise benzer deneylerle çeşitli amino asitler, şekerler ve nükleotitleri sentezleyebilmişlerdir. Panspermia hipotezinin öngördüğü dünya dışı yaşam kökeni öngörüsü, prebiyotik çorbanın evrenin derinliklerindeki henüz gözlemleyemediğimiz başka gezegenlerde de vuku bulabileceğini tahmin edersek, yine de geçerliliğini sürdüren hipotezlerden olma özelliğini korumaktadır.

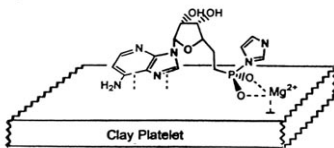
Ferris ve montmorillonit

Ferris laboratuvarında prebiyotik çorba hazırlamış ve içine kil montmorillonit ilave etmiştir. Montmorillonit doğal olarak oluşan, organik moleküllerin kolaylıkla tutunabildiği bir alüminyum-silikat kilidir. Aktif hale getirilmiş nükleotitler montmorillonite tutunursa, kil kataliz olarak hareket eder ve polinükleotit bir zincirde bunları birlikte bağlamayı başarır. Kile bağlı iken polinükleotitler hidrolizlerinden daha hızlı meydana gelirler ve Ferris bir oligonükleotit primerden aktif nükleotit ilavesiyle uzun süre tekrarlayarak 40 nükleotitten daha uzun bir poliadenilat sentezlemeyi başarmıştır. Bu gözlem Oparin-Haldane modelinin ikinci basamağının bir deneysel desteğini teşkil etmektedir.

A. Stacking Interactions of Adenosine Nucleotides Bound to the Same or an Adjacent Clay Platelet-----



B. Hydrophobic Binding of Adenine (-----) and Ionic Binding Via Mg²⁺----



Morowitz ve Smith

Yaşamın gelişimi, şayet sterilizasyon olayları kendini çoğaltmanın her defasında tekrardan evrimleşmesine yetecek süre kadar izin vermişse, gerçekte sayısız kez başlatılmış olmalıdır. Buna alternatif olarak, yaşam meteorit çarpmalarının bazılarında kurtulmuş olmalı ve derin deniz hidrotermal oluşumlarında olduğu gibi ortamlardaki koruyucu nişlerde tecrit edilmiş olmalıdır.

Şu ana kadar bilim insanları bu görüşe bağlı kalarak, paradoksal bir biçimde, yer kürenin bugün dahi yaşamın ortaya çıkışı için çok daha elverişsiz durumda olduğunu savunmaktaydılar. Onlara göre yaşam, ekstrem nişleri kullanmada o kadar başarılı olmuştur ki, inorganik moleküllerin kendini çoğaltan bir sistemi yeniden oluşturması girişiminin daha ilk basamağında, yaşayan yaratıklarca ortadan kaldırılmayacağı bir alan bırakılmamıştı.

Geçtiğimiz yıl Morowitz ve Smith, aslında söz konusu koşullarda yaşamın kaçınılmaz olabileceği varsayımını ortaya atmışlardır. Onlara göre yaşam, Dünya'nın erken dönemlerine hakim jeolojik süreçlerle gerçekleşen enerji birikiminin doğal ve zorunlu bir sonucudur. Tahminleri yaşam başlangıcında devreye giren kimyasal süreçlerin, şimdi metabolizmamızı yöneten süreçlerle aynı, ancak ters yönde olduğu yolundadır. Onlara göre jeolojik enerjinin kaynaklarından biri, volkanik etkinlikler sonucu oluşan polifosfat bileşikleridir. Bu moleküller canlı hücrelerin enerji gereksinimlerini karşılayan bugünkü moleküllere benzerdir. Yanardağlar aracılığıyla atmosfere püsküren hidrojen ve karbon dioksit arasındaki tepkimelerle organik moleküllerin öncülleri oluşmuş olabilir.

Morowitz ve Smith'e göre, genç dünyanın enerji depoları, sitrik asit döngüsü mantığının tersine işleyerek yaşamın yapı taşlarını ortaya çıkarmış, bu arada da çevrenin enerji basıncını hafifletmiş olabilir. Termodinamiğin ikinci yasasına göre, evren bir bütün halinde düzensizliğe doğru ilerlemektedir. Artan düzensizlikle, canlılarda son derece örgütlü ve düzenli işleyen biyokimyasal süreçlerin kendiliğinden varolabilmeleri ters korelasyonlu gibi gözükmektedir.

Fakat Morowitz ve Smith'e göre sorunun tahmini yanıtı, küçük düzen yığınlarının, çevrelerindeki düzensizliği artırma pahasına varolabildikleri ve bu düzenin fazla enerjiyi boşaltmada daha iyi bir araç olduğu için ortaya çıkmış olabileceğidir.

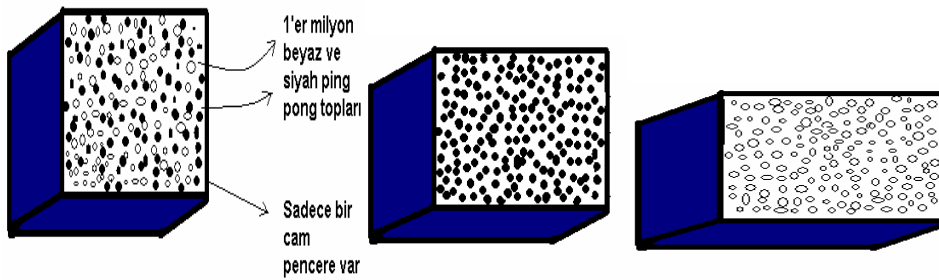
Sistem dağılıp bir kaosamı dönüşecek, yoksa yeni, daha farklılaşmış, daha yüksek seviyede bir düzene veya onların dissipatif organizasyonlarına mı atlayacaktır?

Prigogine ve Stengers'in Kimyevi Saatleri

Entropi (yoldaki enerji) sadece dağılmaya götüren bir kayma değil, hatta belli şartlar altında bizzat kendisi düzenin atası olabilir. Geri-dönüşlülük sadece kapalı sistemlere mahsustur. Geri dönüşsüzlük ise kainatın geri kalanına mahsustur. Prigogine ve Stengers, dengesiz şartlar altında entropinin düzeni, organizasyonu ve hayatı azaltmayacağını bilakis üreteceğini göstermiş ve geleneksel termodinamik görüşlerin ayağını kaydırmışlardır. Eğer durum böyle ise, entropi de "ya o ya bu" özelliğini kaybeder. Belirli sistemler çökerken diğerleri aynı zamanda daha ahenkli bir şekilde evrimleşip gelişirler.

Dengeye uzak şartlarda çeşitli türden self-organizasyon süreçleri olabilir. Bunlar kimyasal salınımların ya da mekansal yapıların belirmesine yol açabilirler. Doğrusal olmayan reaksiyonların sonuçlarının her ne kadar kendi sebepleri üzerinde geri besleyici etkileri olsalar ve göreceli olarak inorganik dünyada nadir bulunuyor olsa da, moleküler biyoloji bu reaksiyonların yaşayan sistemlerin genel kuralı olduğunu keşfetmiştir. Oto-kataliz (X'in varlığının kendi sentezini hızlandırması), oto-inhibisyon (X'in varlığının kendi sentezi için gerekli katalizi durdurması) ve çapraz kataliz (iki ayrı reaksiyon zincirine ait iki ürünün birbirlerinin sentezlerini karşılıklı aktive etmeleri) metabolik fonksiyonun iç uyumunu sağlayan klasik düzenleme mekanizmasını oluştururlar.

Kimyevi saate bir göz atalım: Toplar karışık ve düzensiz sürekli zıplırlar. Pencereden görünen yığın gri, ara sıra düzensiz anlarda, pencerenin civarındaki topların o andaki dağılımına bağlı olarak siyah ve beyaz gözükabilir.

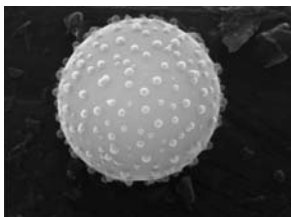


Başka bir anda pencere aniden tamamen siyah görünür. Sonra başka bir anda da tamamen beyaz görünür ve sonra tekrar siyah görünür. Sabit aralıklarla –bir saat tıklıyor gibi- rengini bütünüyle değiştirmeye devam eder. Geleneksel kurallar gereği böyle olmaması gerekirdi. Fakat kimyasal reaksiyonlar da aynı şekilde işlemektedirler. Buna “kendi kendine organizasyon veya düzenleme” denir. Eğer sistemleri 3D düşünürsek muhtemel organizasyon sayısı çok artar.

Kimyasal reaksiyon ile bir enzim üretiminin kendi üzerine katalizi, olumlu bir geri beslemedir ve moleküler biyologlara göre böyle halkalar yaşamın temellerini oluşturur.

Mikrosferler

En erken organizmaların hücresel formu nasıl kazandıkları yolundaki soruna potansiyel yanıt Fox'tan gelmiştir. 1972'de Fox ve meslektaşları, poliamino asit karışımlarının suda veya tuz çözeltisinde yaşayan hücreleri anımsatan özelliklere sahip mikrosferlere kendiliğinden organize oluşunu ortaya koyan çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Buna ilaveten ilkin hücreyi saran lipid bileşiklerinin suda kendi aralarında lipozomlar oluşturdukları gerçeği mikrosferlerin atasal özellikleri taşıdığı düşüncesini kuvvetlendirmektedir.

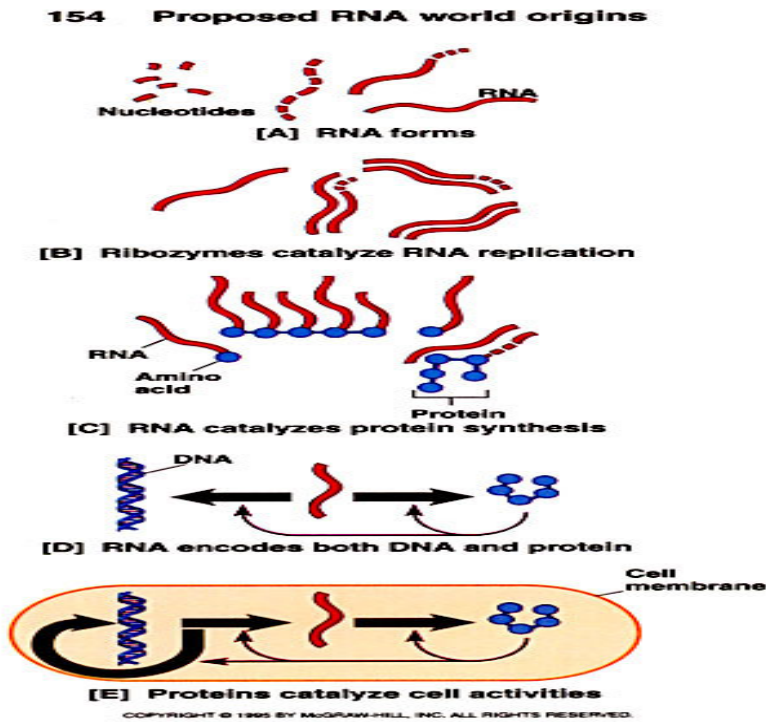


RNA World

Katalitik RNA

Yaşam öncelikle proteinlerden mi yoksa DNA'dan mı ortaya çıkmıştır? Proteinler kendi kendine çoğalamazlar, kopyalamayla ilgili bilgiyi aktaramazlar. Öte yandan DNA bilgiyi saklamak ve aktarmak için uygundur, fakat daha başka biyolojik işleri bilinmemektedir. Hangisinin daha önce geldiği, esas olarak katalitik RNA'nın keşfiyle çözülmüştür. RNA, bilgiyi depolama ve taşıma kapasitesine ve biyolojik iş yapabilme yeteneğine sahip olduğundan, şu anda yaşamın kökenine gidilen yolda, proteinler ve DNA'nın ikisinin de önünde olduğu düşünülmektedir. Bu temelde oturan yaşamın kökeni ile ilgili hipoteze RNA dünyası (yaşamın tümüyle RNA üzerine kurulu olduğu bir zaman) hipotezi denilmektedir.

Hipotez, ribozimlerin (RNA enzimleri) keşfi ile RNA'nın aynı anda bir fenotip ve bir genotip taşıyabileceğinin anlaşılmasını temel almaktadır. Genotip RNA'da yer alan nükleotitlerin birincil dizisidir. Fenotipse RNA molekülünün bir substrat üzerinde, bir kimyasal reaksiyonu katalizleyen reaktivitesidir.



Evrimleşme, kalıtsal bilgide hem kayıt yapabilme yeteneği ve hem de değişiklikler yapmayı ve bazı yollarla yararlı değişimleri zararlı olandan ayırt etmeyi gerektirir. İlki bir genotip ile başarılırken, diğeri bir fenotip yoluyla başarılır. Bugün doğal yolla oluşan onlarca ribozim keşfedilmiştir ve bunların tümünün fenotipleri, RNA veya DNA'daki fosfoester bağlarının oluşumu ve kırılmasında işlev görür. Bir RNA molekülü hata ve mutasyon olasılıklarının eşliğinde kendi kopyasını yapabildiyse, o molekül, modern yaşamın bir çok karakteristiğini sergileyeceğinden dolayı canlı olarak düşünülebilir. Bu gözlem, söz konusu hipotezin gözlemsel desteğini teşkil eder.

RNA'nın ilkinliğine dair kanıtlar

Katalitik RNA'nın keşfi. RNA'nın her yerde, hücrelerin temel çoğalma aygıtında bulunuşu. Ribozomlar RNA'dan yapılmış bir çerçeve üzerinde inşa edilmektedir. Ayrıca RNA adaptörüne (tRNA) gerek duyarlar. Keskin deliller, gerçekte protein sentezinde katalitik basamakları yürütenin RNA kısmı olduğuna işaret etmektedir. ATP ve GTP gibi ribonükleosit trifosfatların biyolojik enerji için temel kaynak olmaları.

RNA dünyası hipotezi ile ilgili bir problem: RNA evrimleşebilir mi?

Beaudry ve Joyce 1992'de Tetrahymena riboziminden kısaltılmış 5-30 nükleotitlik bir oligonükleotit dizisi kullanarak, çoklu döngü nesilleri sonucunda ribozim parçasında dört nükleotit pozisyonunda özgül mutasyonlar gerçekleştirdiler ve yeni oluşan ribozimlerin yabanıl tipten 100 kat daha fazla katalitik etkinliğe sahip olduklarını buldular. Bu deneyler RNA molekülünün canlı organizmaların evrimleşmelerine izin veren özelliklere sahip olabildiğini göstermiştir. 1993'te dizayn ettikleri deneylerde RNA havuzları kullanarak, RNA'nın fosfoester bağı yapabilen ribozimlerini evrimleştirmişlerdir.

RNA World (Gilbert, 1986), non-living World'den şu 5 basamakta köken almıştır

1. Nükleotitlerin prebiyotik sentezi
2. Nükleotitlerden polinükleotitlerin oluşumu
3. Primordial RNA replikazları-kendi replikasyonunu katalizleyen özel RNA moleküllerinin ortaya çıkışı
4. Primordial replikazların daha verimli olanlarına evrimi
5. Doğal seleksiyona uyan replikasyon için değişik katalitik RNA moleküllerinin oluşumu

Ma, Zhang ve Yu'nun Simülasyonları (2006)

Temel Varsayımları:

- 2D yüzey kullanıldı, çünkü simüle etmek daha kolaydı ve lokal moleküler etkileşimleri sunmaya daha yeterliydi.
- Reaksiyonlar mineral yüzey üzerinde düşünüldü.
- Sistemin sığ bir havuzda, kayalık üzerinde veya kaya üzerinde su birikintisi olduğu düşünüldü.
- A, G, C ve U sentezi için ham materyal çorbası düşünüldü.
- Nükleotitler ayrıca ham materyallere tekrar dönüşebilmekteydi.
- Bir polinükleotit komplementer zinciri için templatelik yapar. Bu olay RNA-catalyzed template directed ligation veya nonenzimatik template directed ligationdur. Fakat polimerizasyon değildir. Bu da, havuzdaki bir çok kısa oligonükleotitin mineral katalizi yoluyla oluşmasıdır.
- Replikaz karakteristik sekansı içeren polinükleotit primordial replikaz olarak kabul edilir.
- Bir RNA replikaz kendi katalizini gerçekleştiren bir ribozimdir.
- Binding ribozim 3 yönde fonksiyon görür:
 1. Template substratları çekmesine yardım eder.

2. Bağlanma bölgesinde çekilen substratları düşmekten korur.
 3. Template'e dizilen substratların ligationunu katalizler.
- Simülasyonda enerji problemi, her nükleotidin 5'-ucunun aktive edilmiş olduğu düşünülerek çözülmüştür (NTPs).
 - Her nükleotit eşit olarak düşünülmüştür.
 - Her nükleotit ya da polinükleotit zinciri bozulma ve degrade olma probabilitesine sahiptir (PND ve PBB)
 - Bir polinükleotit diğer nükleotitleri Watson-Crick kuralına göre çekebilir (PAT)
 - Incorrect base-pairing probabilitesi (PFP)
 - Template dizili iki ardışık nükleotidin ligation probabilitesi (PLT)
 - Bir ızgara hücredeki bir ünite diğer bitişik hücreye hareket edebilme olasılıkları da hesaplanmıştır

Parametreler:

- 130 nt.lik bir RNA'nın, 50 C0 5 mM Mg²⁺ solüsyonunda nötral pH'da 101 saat yarılanma ömrü vardır.
- Her bir step 0,38 saat sürmektedir.

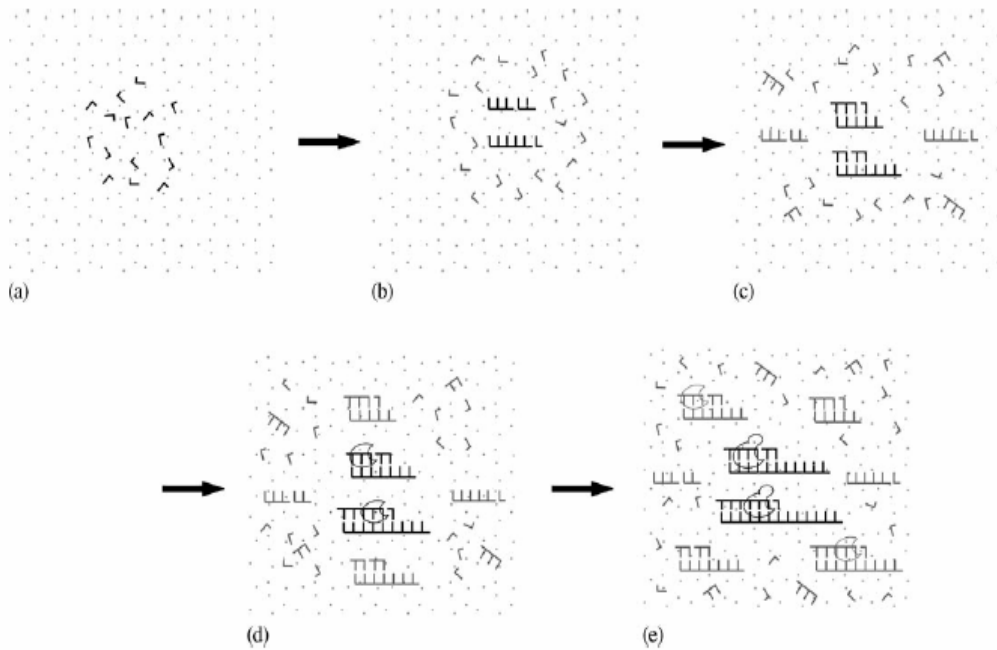


Fig. 1. A scheme describing the events emerging successively in the modeled system. New events are drawn in black in the center of the graphics while old events in grey aside. (a) Formations of nucleotides (L-shaped) from raw materials (dot). (b) Mineral catalyzed ligations. (c) Nonenzymatic template-directed ligations. (d) Template-directed ligations catalyzed by primordial replicases. (e) Template-directed ligations catalyzed by more complex and more efficient replicases.

Önemli Basamaklar:

- 112400. step: Sistemde sadece bir replikaz vardı
- 112407. step: İkinci replikaz görüldü
- 113243. step: İki replikaz bitişik hücrelere hareket ettiler
- 113244. step: İki replikaz aynı hücreye hareket ettiler
- 113247. step: Bir replikaz, diğerini kopyalamak için onu template olarak kullanıp üstüne bağlandı.

- 113669. step: Kopyalama sonlandı ve double stranded template'den ribozim ayrıldı.
- 113672. step: Ayrılan replikaz ve double strand template iki farklı hücreye ayrıldı
- 113703. step: Double strand template dissosiyeye oldu ve iki tane replikaz oluşturdu. Sistemde 3 tane replikaz oldu.
- Böylece primordial replikazlar ilk replikasyonlarını bitirmiş ve sistemde yayılmaya başlamışlardır (step 130000-150000)

1. basamak tam bir kimyasal basamaktır ve hayat aktivitesi yoktur. 5. basamakta hayat aktivitesine hazırdır ve doğal seleksiyonla evolve olur. 3. basamak hayatın iki anahtarının ortaya çıkışında çok önemlidir. Bunlar; self-replication ve Darwinian evolution'dur. 2. basamak genetik bilgi deposunu oluşturur. 3. basamak self-replicationu işaret eder ve 4. basamak ta Darwinian evrimin olabilirliğini kanıtlar.

Basamakların Çalışmaları

- 2. basamak için mineral-catalyzed synthesis of polynucleotides (Ferris, 2002) ve polymerization (Orgel, 2000)
- 3. basamak için RNA catalyzed template-directed ligation (Jaeger., 1999; Joyce., 2002)
- 4. basamak için artificial construction of an autoevolving replicase system (Szostak et al., 2001)
- Basamakların çalışmaları bugüne kadar pek çok kez yapıldı (Szabo et al., 2002) fakat tüm basamakların simule edildiği deneyler geçtiğimiz yıla kadar gerçekleştirilmemişti.
- Monte Carlo simulation model kullanılarak söz konusu prebiotik basamaklar gerçeğine uygun koşullar kurularak gösterilmiştir.

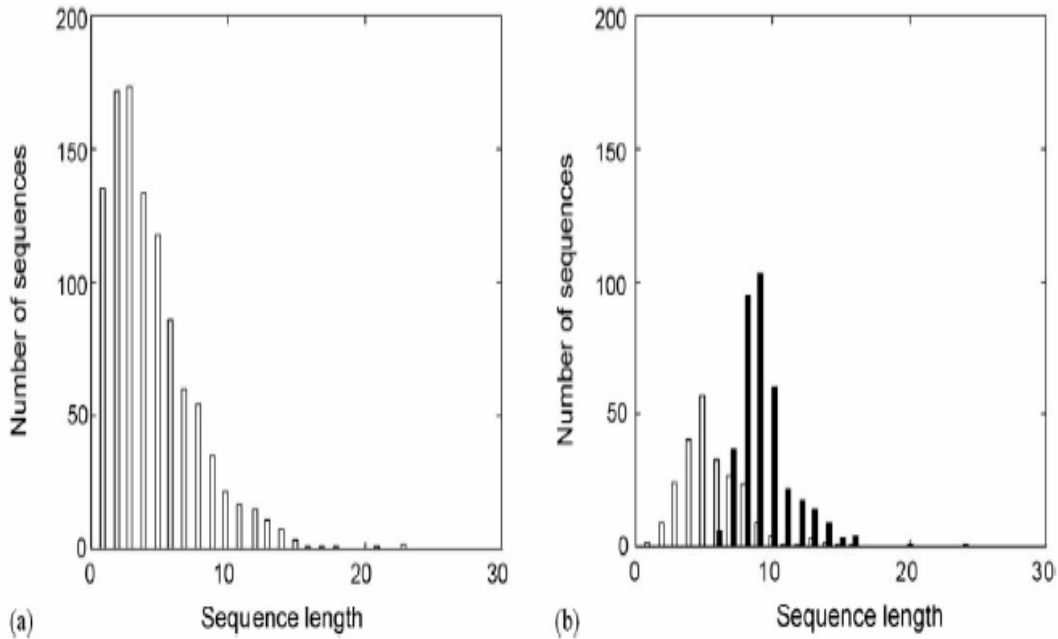
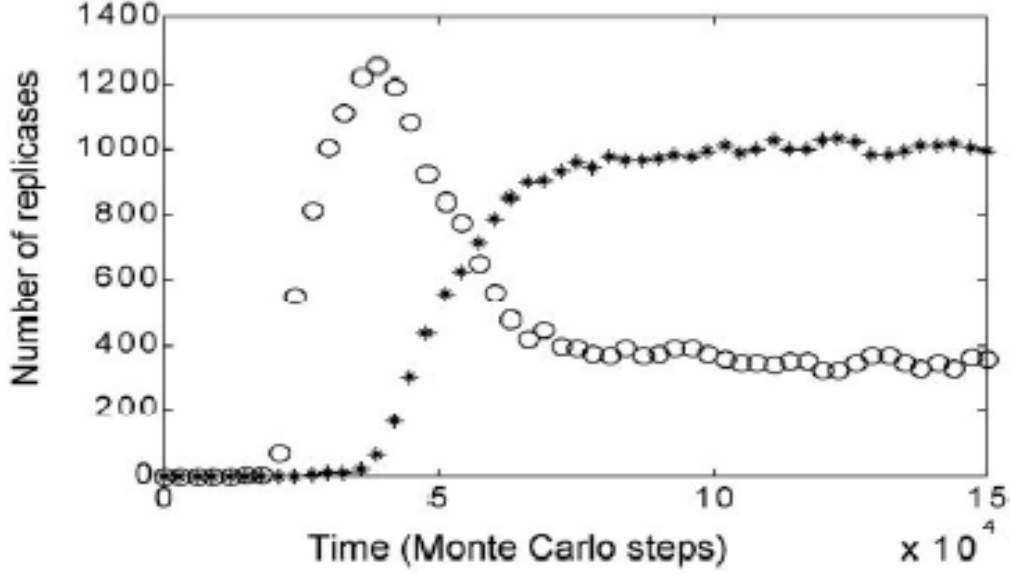


Fig. 3. The sequence length distribution of molecules in the system. The case corresponds to Fig. 2c. (a) Distribution of non-replicas at a time step just before the emergence of replicases. Time step: 1×10^5 . (b) Distribution of non-replicas (white bars) and replicases (black bars) at a time step after the emergence of replicases (already reaching a balancing level). Time step: 12×10^5 .

- Non-replikazların sayısı, replikazların ortaya çıkışıyla azalır.
- Replikaz karakterindeki sekanslar polimerize olmaya 6 nt.lik uzunlukta başlamıştır (non-replikaz sekanslar 1 nt.den başlamışlardı)
- Uzun sekanslar yüksek degrade olma eğilimi gösterirler çünkü daha fazla P-ester bağı içerirler.
- Kısa sekanslara beklenen replikaz sekansını muhtemelen daha az gösterirler.

Primordial Replikazlar ve Ek Fonksiyonlu Replikazlar



Farklı Avantajı Olan İki Domainin Replikaza Eklenmesi

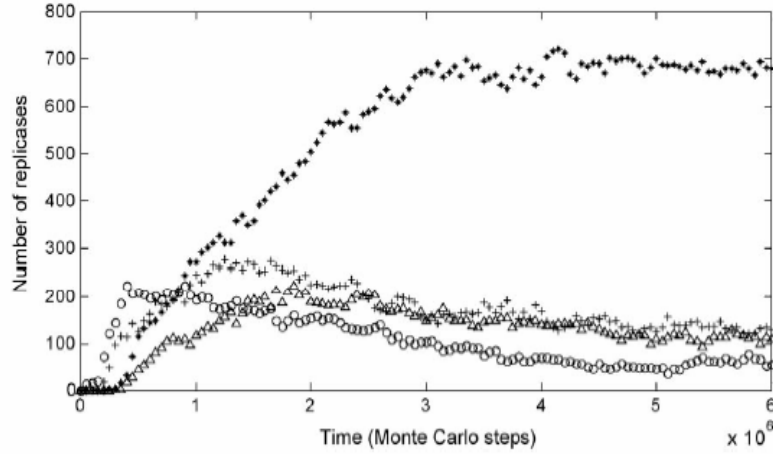


Fig. 6. The integrating of two different kinds of additional functional sequences into final most efficient replicases. The basic characteristic sequence for primordial replicases (circles) is "GACGUC" ($P_{ATR}=0.2$; $P_{LTR}=0.005$). The replicases including an additional sequence "AGCU" (triangles) are more efficient in attracting substrates ($P_{ATR}=0.9$) in the synthesis of complementary chain. The replicases including an additional sequence "GAUC" (pluses) are more efficient in ligating the substrates ($P_{LTR}=0.9$) aligned adjacently on the template. The replicases including both the two different additional sequences (stars) are more efficient in both attracting substrates ($P_{ATR}=0.9$) and ligating substrates ($P_{LTR}=0.9$) in the synthesis of complementary chain. Other parameter values: $N=5$; $TM=6 \times 10^4$; $P_{NF}=0.0001$; $P_{ND}=0.001$; $P_{LMC}=0.00001$; $P_{BB}=0.00001$; $P_{AT}=0.001$; $P_{FP}=0.001$; $P_{LT}=0.0001$; $P_{SP}=0.9$; $P_{RB}=0.95$; $P_{RD}=0.05$; $P_{MN}=0.9$.

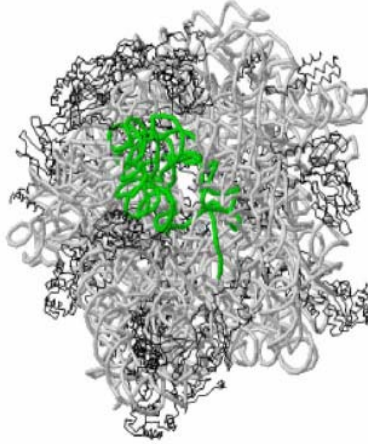
RNA Dünyası Hipotezinin Problemleri

- Protein temelli bir dünyaya geçişin nasıl olduğu
- Translasyonun orijini
- Genetik kodların kurulması

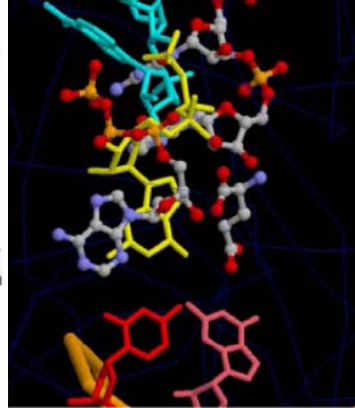
Translasyonun Orijini İçin Moleküler Bir Model

Orijinal peptitler dominant RNA molekülleriyle aynı anda ortaya çıkmıştır. Primitif polimeraz ile etkileşen ve primitif polimeraz vazifesi görüp antiparalel ipliği oluşturan her hangi bir protein, sistemi bozmuştur. Antiparalel komplement bir stabil duplex oluşturmuş ve ribopolimeraz sekansından kendi kendine kopyalanmış ve sonra fonksiyonel ribopolimerazlar kaybolmuştur. Eğer bir protein polimeraz tanımlanırsa, bu mekanizma onların mükemmel üstünlüğünü açıklayabilir. Fakat şu an bu proteinin nasıl ortaya çıktığını açıklamak zordur.

Proteinlerin kökenine uygun olan model, RNA'dan template directed sentezdir ve genetik kodun kökenine de uygundur. Translasyon mekanizması, ilkel proteinlerin doğası kaba ve kısa olurdu. RNA dünyasındaki replikaz, ribozomun çekirdeğine benzemektedir. Bu olgu, ribopolimerazdan ribozoma geçişi köprüleyen amino asitleri araştırmada bu modeli önemli kılar.



Ribozomun çekirdeği



Böylesine kompleks bir ribozimin RNA dünyasında farklı bir fonksiyona sahip olması olasıdır. Fakat günümüzde bir ribopolimeraz kalıntısı yoktur. Ribopolimerazın aktif yüzünde, ribozomda olduğu gibi bir boşluk olmalıdır (Taylor, 2004). Ribozomda bu boşluğa amino açil tRNA fragment girer.