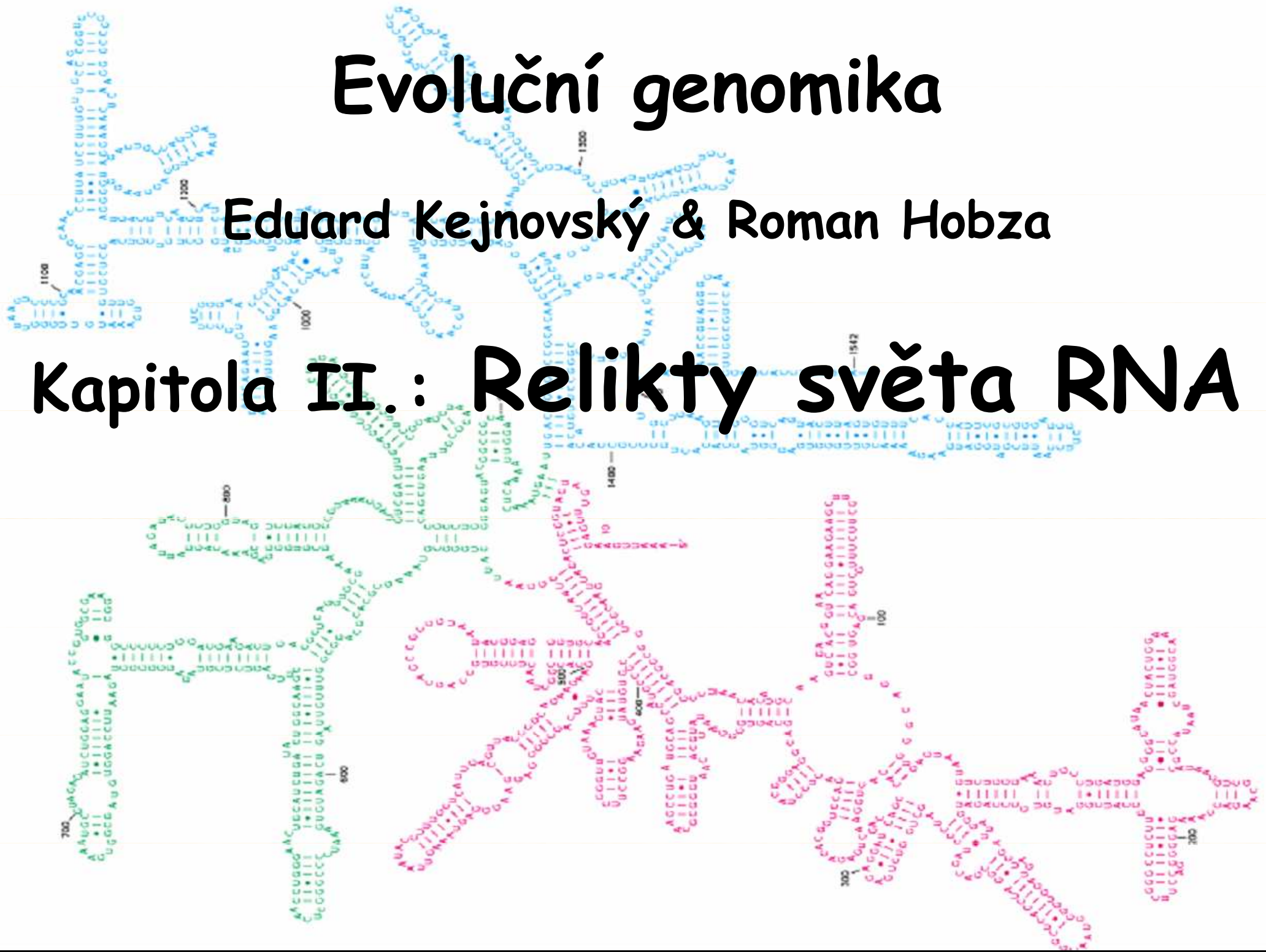


Evoluční genomika

Eduard Kejnovský & Roman Hobza

Kapitola II.: Relikty světa RNA



Svět RNA

- co bylo dříve - DNA nebo proteiny?
- RNA je genetický materiál i katalyzátor (Crick 1968)
- katalytická aktivita RNA (Cech 1982)
- RNA svět (W. Gilbert 1986)

jednoduché polymery - replikátory, **RNA**

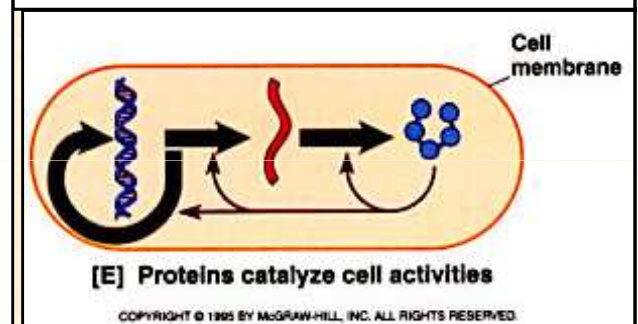
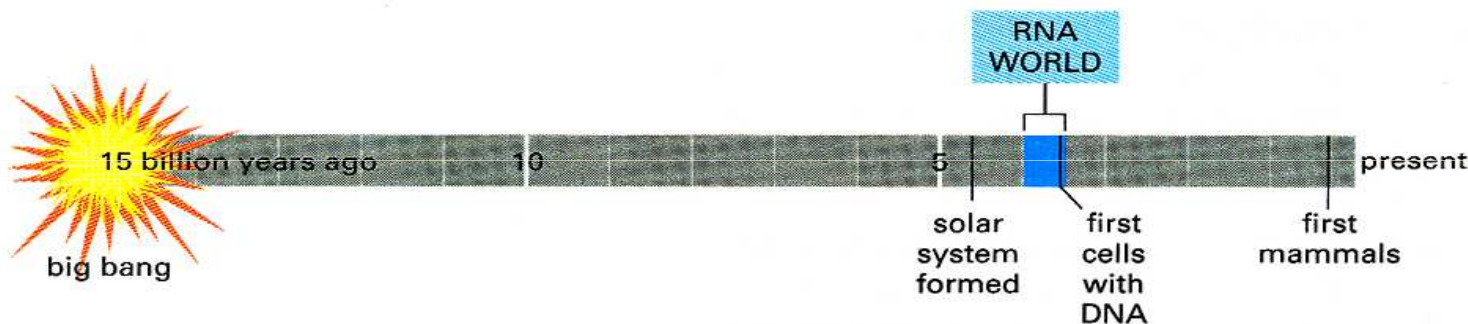
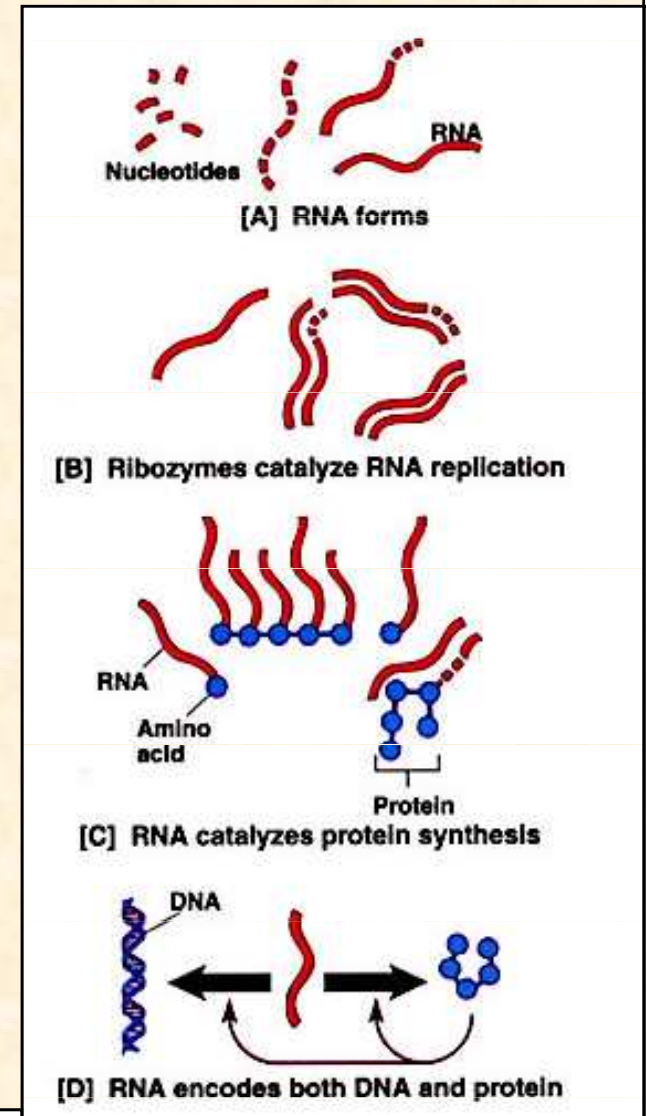


evoluce

autonomní organizmy jsou buněčné
složitá biochemie: **DNA** - RNA - **protein**

Funkční specializace:

- uchování genetické informace - **nukleové kyseliny**
- strukturální a katalytická funkce - **bílkoviny**



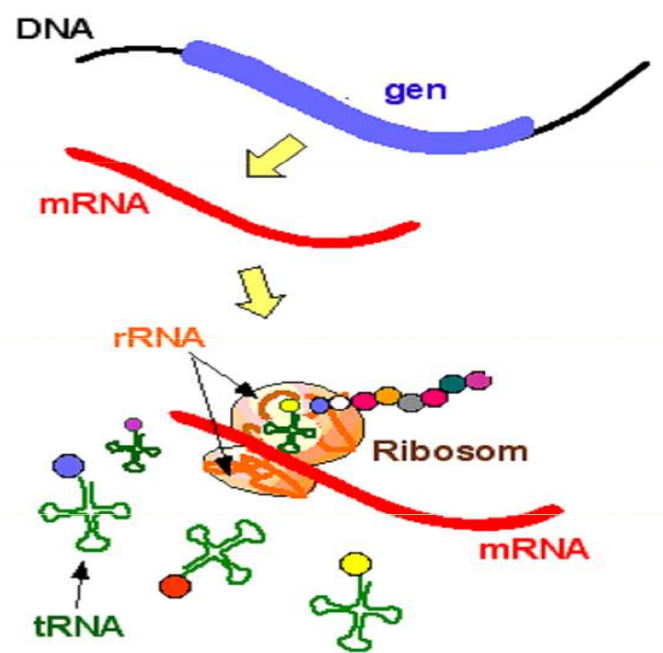
Důkazy RNA světa

1. **Důležitá role** RNA v realizaci genetické informace **dnes**
(mRNA, tRNA, rRNA, peptidyltransferázová aktivita, snRNA, RNázaP, snoRNA, aj.)
2. RNA viry, **retroelementy**, telomery
a konzervativní mechanismus jejich replikace

Kritéria testující zda RNA je reliktem světa RNA:

1. Katalytické vlastnosti
2. Všudypřítomnost
3. Centrální postavení v metabolismu

Centrální role RNA v dnešních biologických systémech



DNA

REDUPLICATION:
primer RNAs, telomerase RNA

TRANSCRIPTION

← **6S RNA** Regulation
7S K RNA, SRA RNA, Xist RNA, Air RNA

PROCESSING: sno RNAs, gRNAs, snRNAs, RNase P, self-splicing introns

mRNA

← **siRNA, miRNA** Degradation
Replication?

TRANSLATION

← **asRNAs (micF, CopA, OUT)** Regulation
OxyS, DsrA sRNA
← **miRNAs**

Protein

← **tmRNA** Degradation

↓ **T/M translocation: SRP 4.5S RNA, 7S RNA**

RIBOSOME:

16S RNA

23S RNA

tRNA

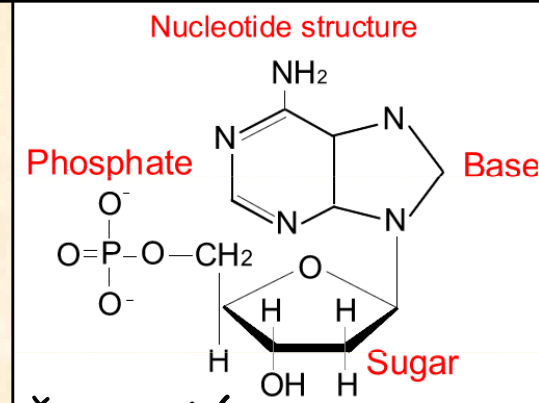
Decoding

Trans-peptidation

Pozůstatky RNA světa se dosud zachovaly a jsou skryty ve spleti buněčných procesů

**POČÁTKY SVĚTA RNA
SVĚT PŘED RNA**

Počátky světa RNA



Ribóza: formozová reakce z formaldehydu (Butlerow 1861), směs pentóz a hexóz, nestabilita ribózy, Pb-katalýza, Ca-borátová stabilizace, alkalické pH

Puriny: syntéza z HCN a formamidu, adenin v chondritech

Pyrimidiny: reakcemi mezi molekulami kyanoacetyleny nebo kyanoacetaldehydu, vyšší výtěžky v přítomnosti močoviny, výtěžky lze zvýšit zmražováním nebo v podmínkách vysoké energie (hydrotermální prameny)

Nukleozid: vazba bází na cukr, beta-orientace, slabý bod hypotéz

Nukleotid: fosforylace nukleozidů v roztoku CaP (hydroxylapatitu, vysoká teplota, malá účinnost), syntéza polyfosfátů, význam trifosfátů.

Racemická směs nukleotidů: alfa a beta a L a D-izoformy

Polymerizace: pomalá a spontánní, nespecifická, racemická směs, pouze 5-3 fosfodiesterová vazba mezi beta-D-nukleotidy byla funkční a byla prodlužována při nízkých teplotách (led) katalyzováno ionty kovů, v hydrotermálních pramenech

Počátky světa RNA - tvorba cukrů (formózová reakce)

Ribóza: - formozová reakce z formaldehydu (Butlerow 1861), směs tetróz, pentóz a hexóz, nestabilita ribózy

- Pb-katalýza, Ca-borátová stabilizace (pentóz), alkalické pH
- Tautomerizace: aldehydy - ketony

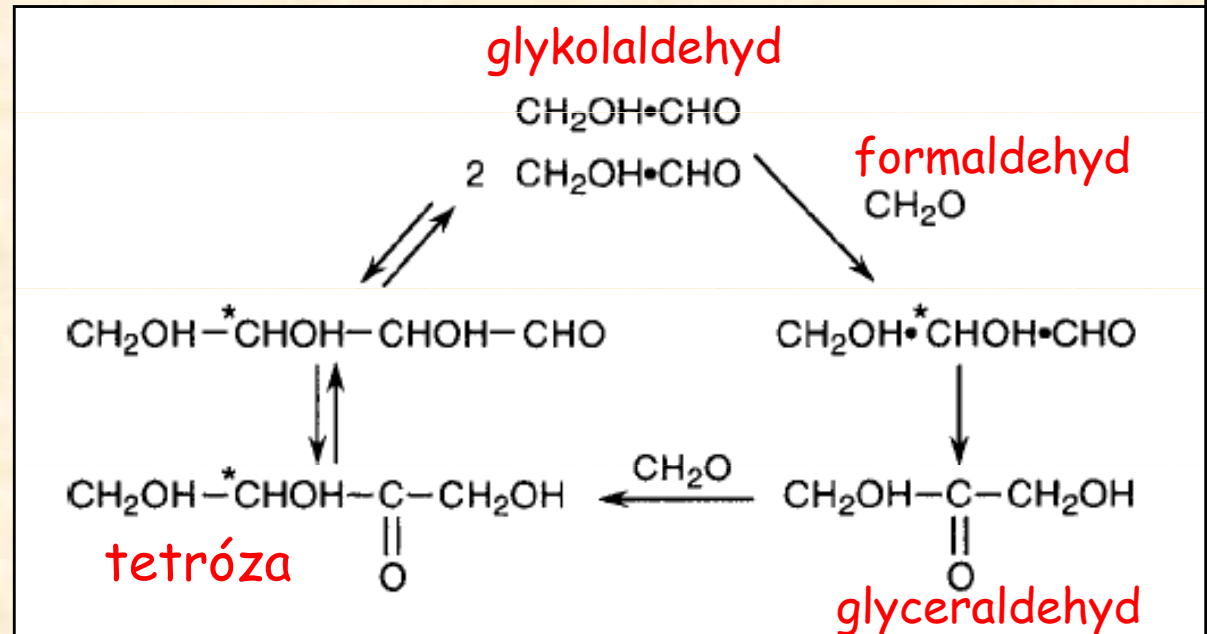
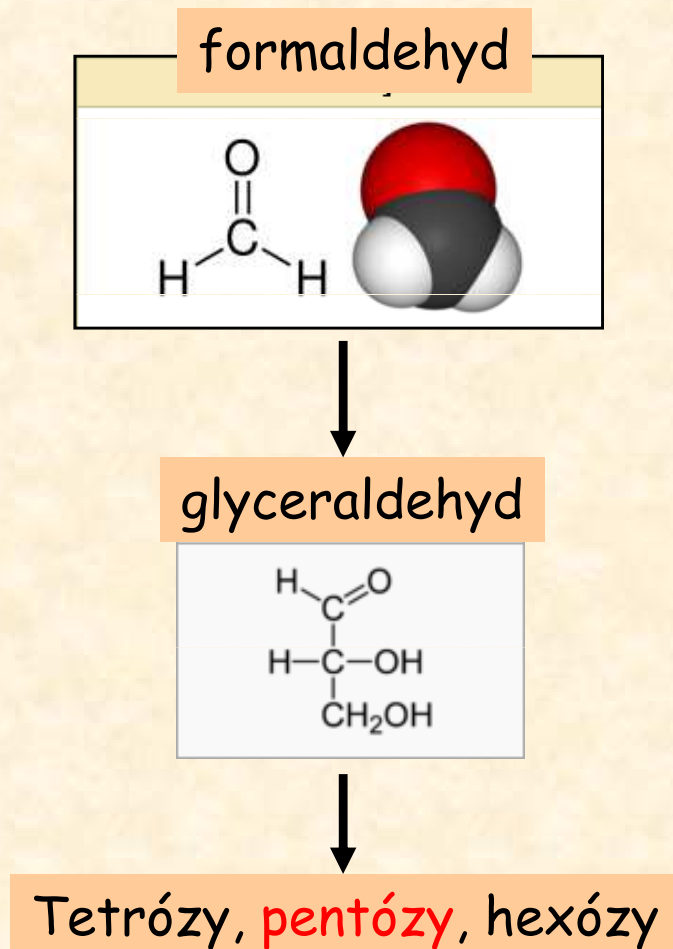


FIG. 1. The simplest hypothetical autocatalytic formose reaction cycle. In each turn of the cycle, a glycolaldehyde molecule facilitates the synthesis of a second glycolaldehyde molecule from two formaldehyde molecules. The stereochemistry at the asymmetric carbon atoms (marked with asterisks in the diagram) is not specified.

Počátky světa RNA

- tvorba purinů a pyrimidinů

Syntéza **adeninu**: z kyanovodíku

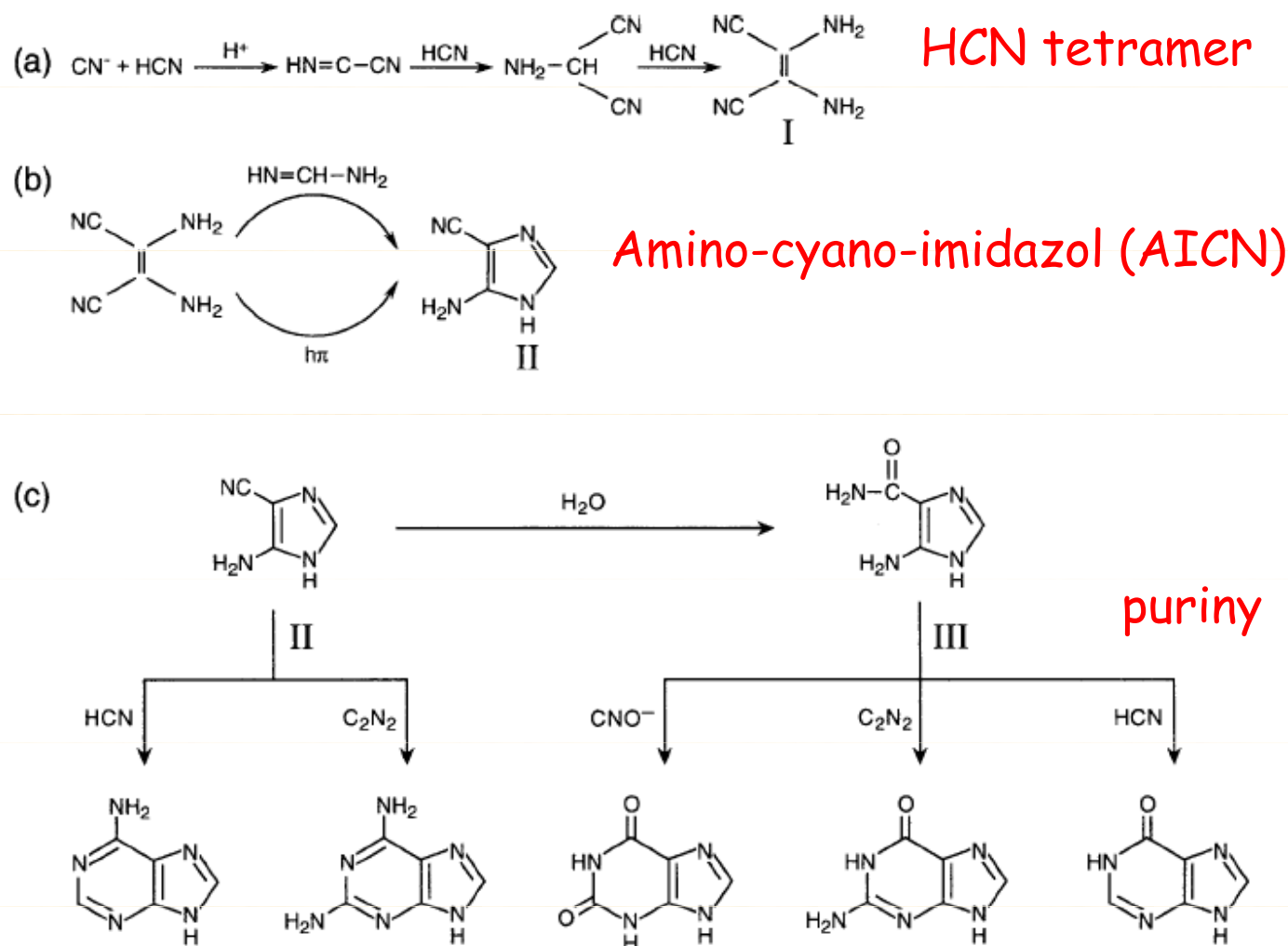


FIG. 2. Steps in possible prebiotic syntheses of adenine from HCN. (a) The formation of the HCN tetramer. (b) The conversion of HCN tetramer to AICN. (c) The formation of purines from AICN or from its hydrolysis product 4-amino-imidazole-5-carboxamide (III).

Nízká efektivita a specifita syntézy nukleotidů vedla k návržení **alternativních genetických systémů**

cyanoacetylen

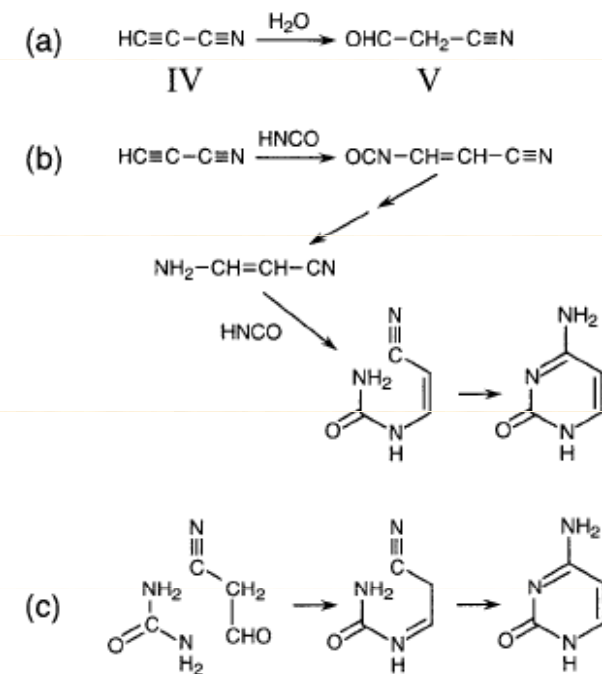
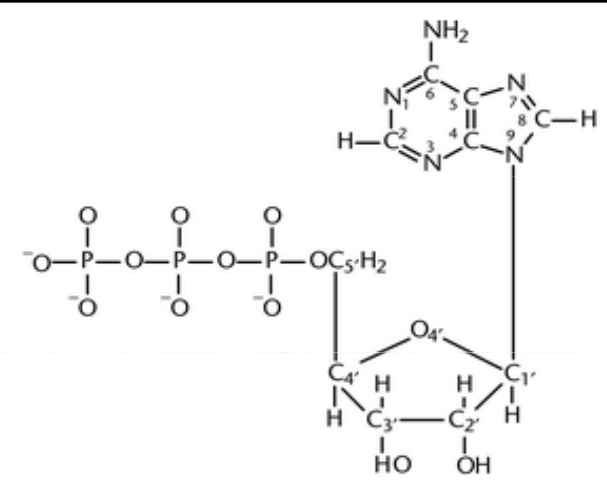


FIG. 3. Steps in proposed prebiotic syntheses of cytosine. (a) The hydrolysis of cyanoacetylene to cyanoacetaldehyde. (b) The reaction between cyanoacetylene and two molecules of cyanic acid. (c) The condensation of cyanoacetaldehyde with urea.

Syntéza cytosinu:
- z cyanoacetaldehydu nebo cyanoacetylenu

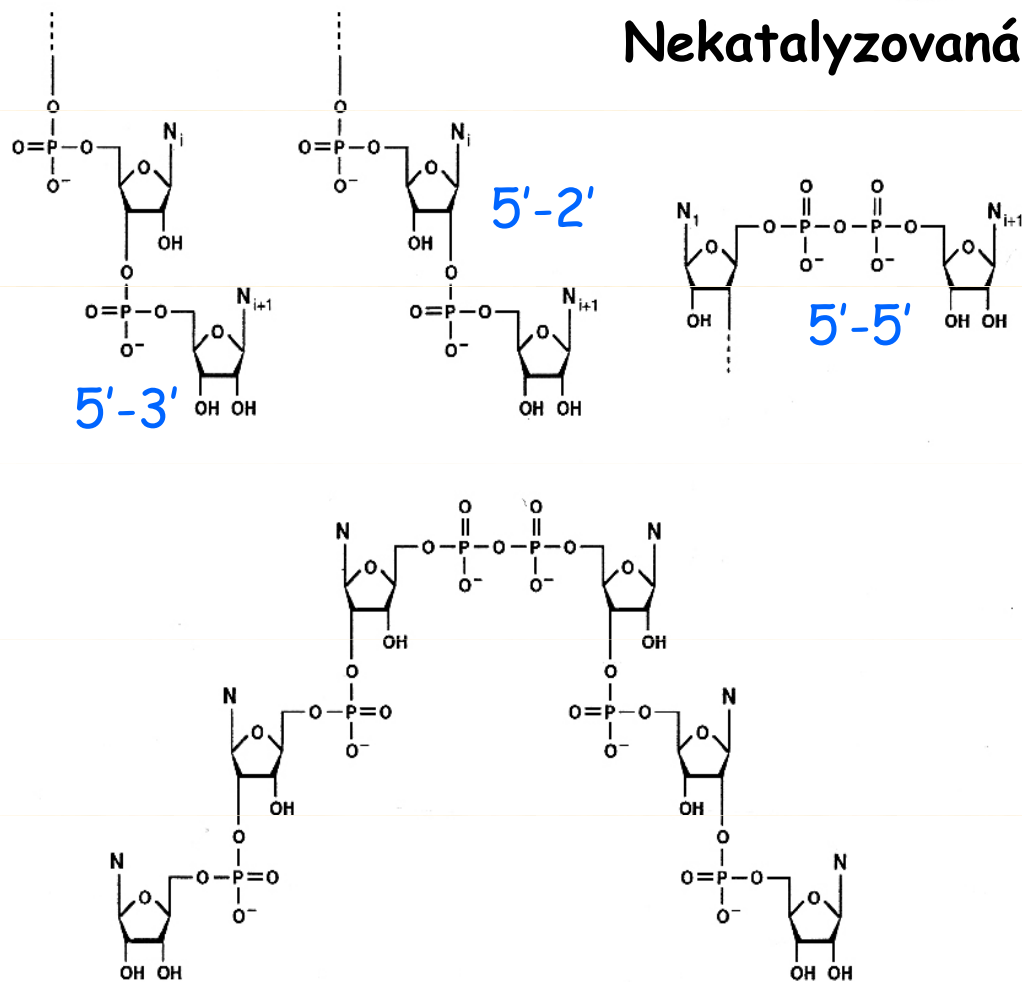
Abiotická syntéza nukleotidů a polynukleotidů

1. Syntéza nukleozidů: vazba bází na ribózu
2. Tvorba nukleotidů: fosforylace nukleozidů (racemát)
3. Tvorba polynukleotidů - tvorba fosfodiesterové vazby



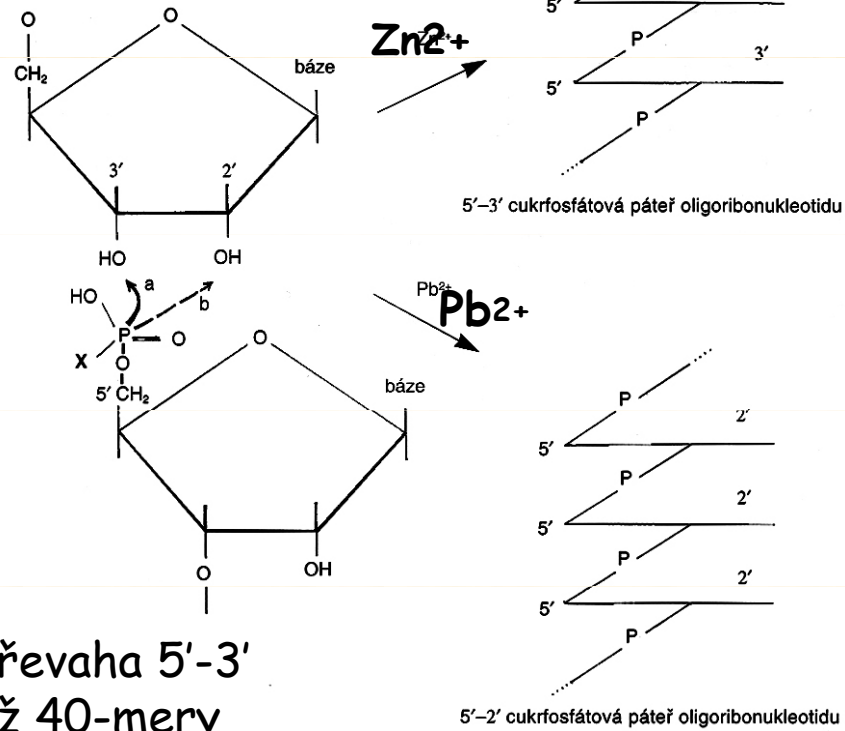
Chemická kondenzace aktivovaných 5'-polyfosfát nukleotidů

Nekatalyzovaná



Katalyzovaná

povrch montmorillonitu
(katalyzuje oligomerizaci)



Převaha 5'-3'
až 40-mery

Neenzymatická replikace RNA a tvorba dvouřetězcové RNA

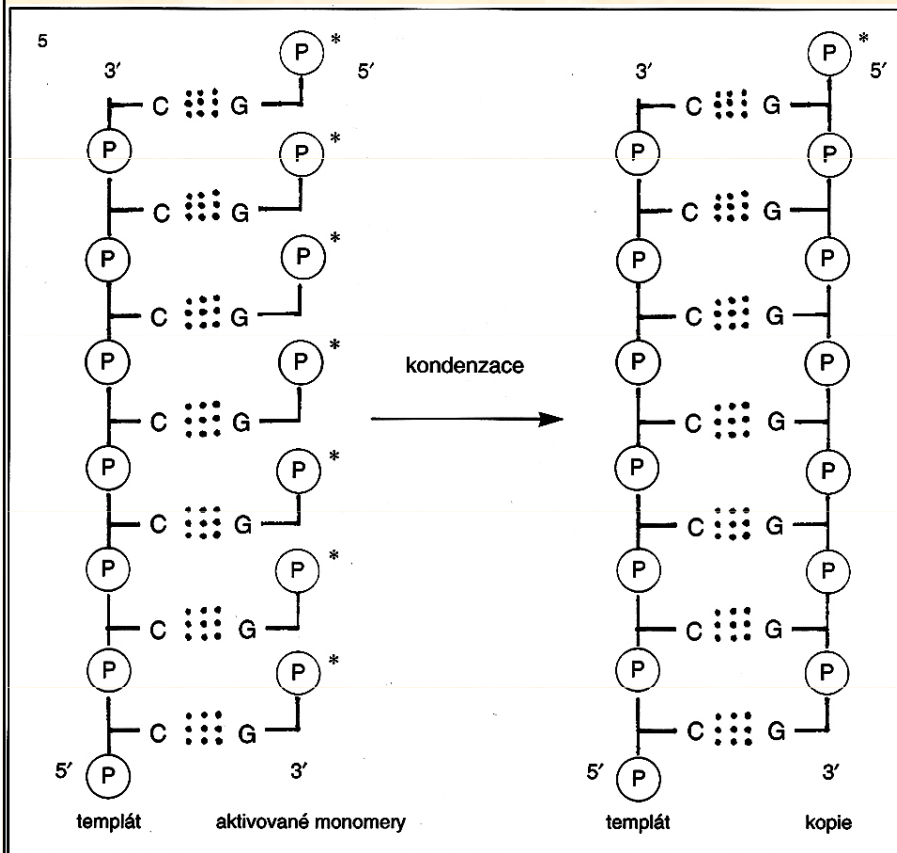
Zrod replikace (4mld)- komplementarita - neenzymatická syntéza dle templátu

Většina aktivovaných nukleotidů tak činí jen velmi neochotně

Tvorba dvojláknových i trojláknových struktur

Úloha kovových katalyzátorů, zvláště Pb^{2+} , montmorillonitu, uranylových iontů

Koevoluce RNA molekul na minerálu, později enkapsulace v membráně?

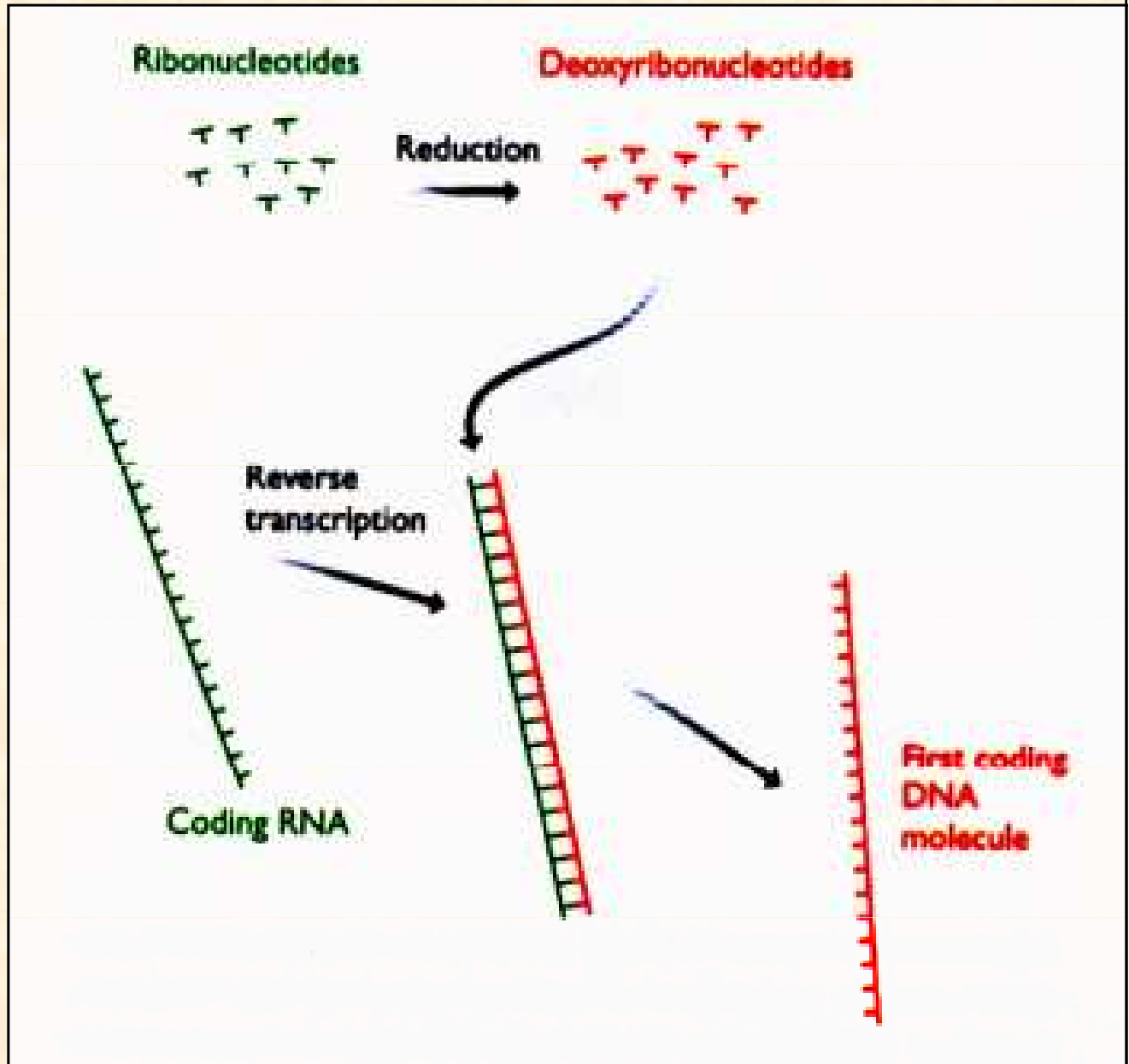
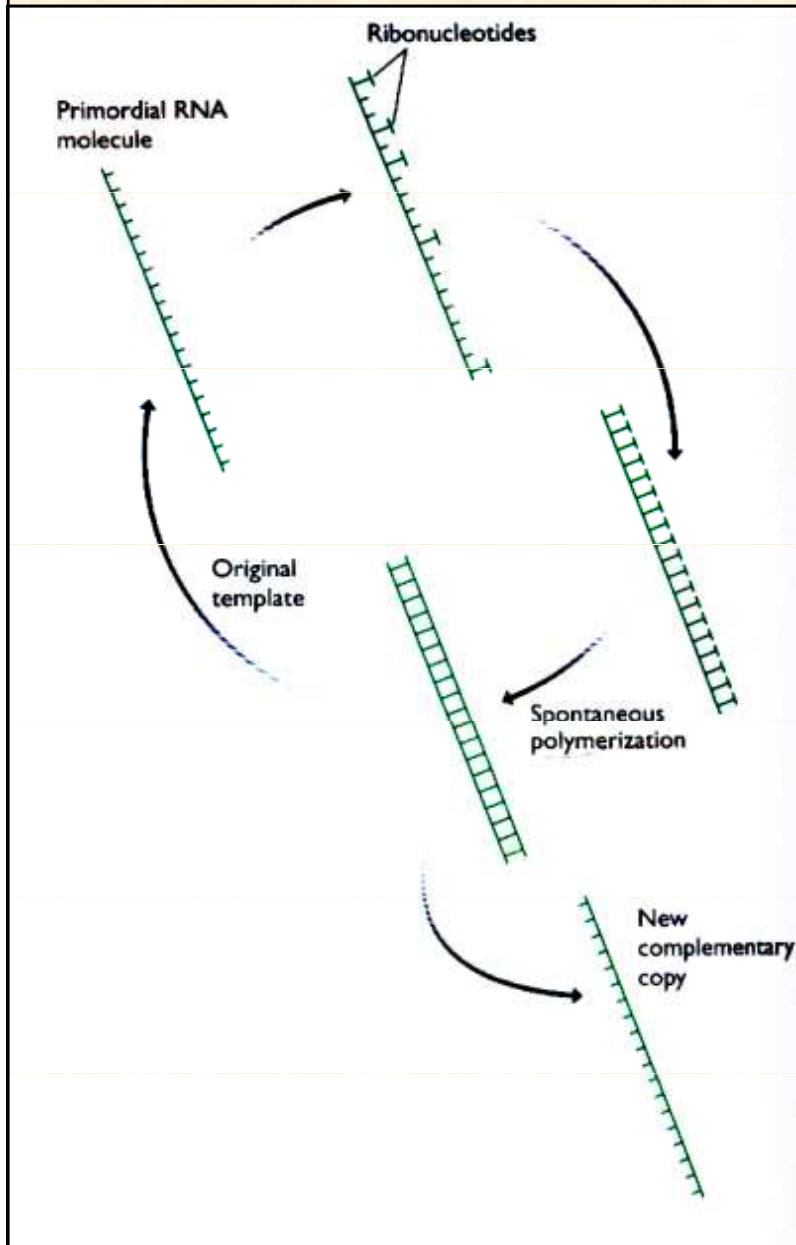


Kondenzace oligoG podle polyC templátu -
dvou- nebo troj-vláknové komplexy

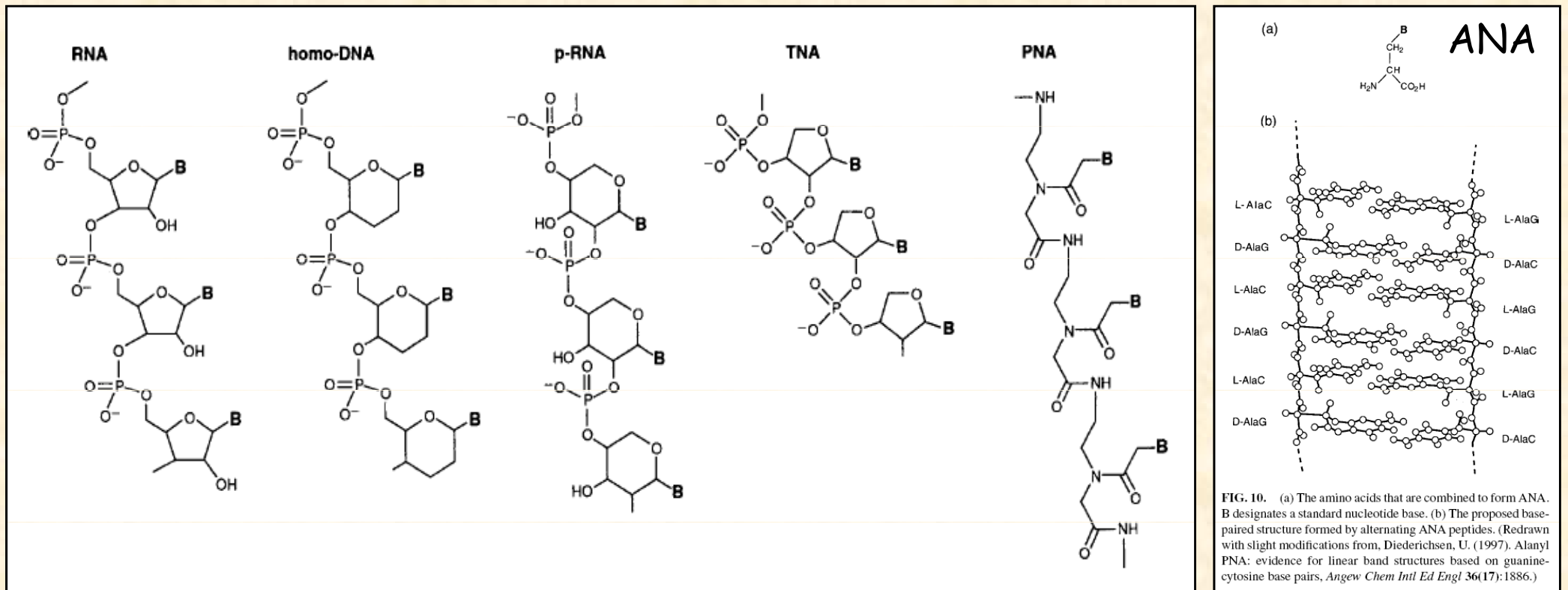
Ligační reakce - zvýhodnění vazeb 5'-3'

Nejlépe je-li dsRNA v A-formě

Spontánní syntéza prvních RNA a syntéza první DNA

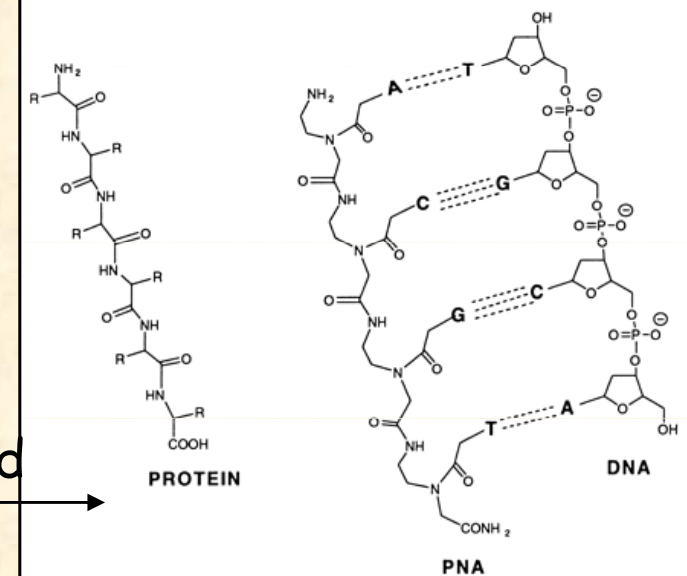


Předchůdci molekul RNA

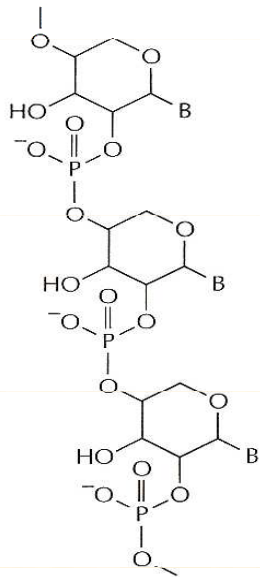


• Genetické systémy bez fosfátů (jiná páteř):

- homoDNA - založená na 2,3-dideoxy-D-glukóze
- pRNA - založená na **pyranosylu**
- TNA (**threose** nucleic acids) - tvoří dvoušroubovici
- PNA (**peptide** nucleic acids) - achirální, směs pravo- i levotočivých helixů, tvoří dvoušroubovici s NA - přechod
- Minerály, jíly (Cairns-Smith 1982)



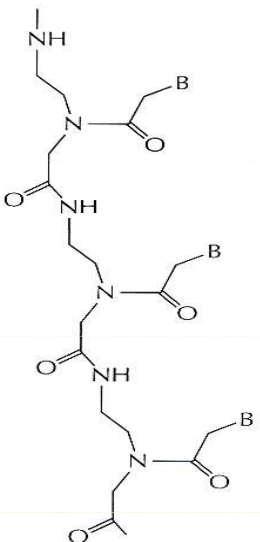
Alternativní genetické systémy - pRNA (Pyranosový analog RNA)



p-RNA

- Furanosová forma ribosy nahrazena pyranosovou
- Watson-Crickovské párování stabilnější než u RNA
- Menší pravděpodobnost tvorby víceřetězcových struktur
- Stabilnější než RNA
- Pozvolnější stoupání dvoušroubovice => snadnější separace řetězců při replikaci
- Genetický systém - skvělá volba
- Nemožnost postupného přechodu na genetický systém založený na RNA

Alternativní genetické systémy - PNA (Peptidová nukleová kyselina)



PNA

- Nenabitý a achirální analog NA
- Monomery spojeny peptidovou vazbou
- Tvoří stabilní heteroduplexy s RNA i DNA
- Prokázán přenos informace PNA->RNA i RNA->PNA
- Možný postupný přechod na RNA svět
- Aktivované monomery ochotně cyklisují; obtížný vznik oligomerů v prebiotickém světě

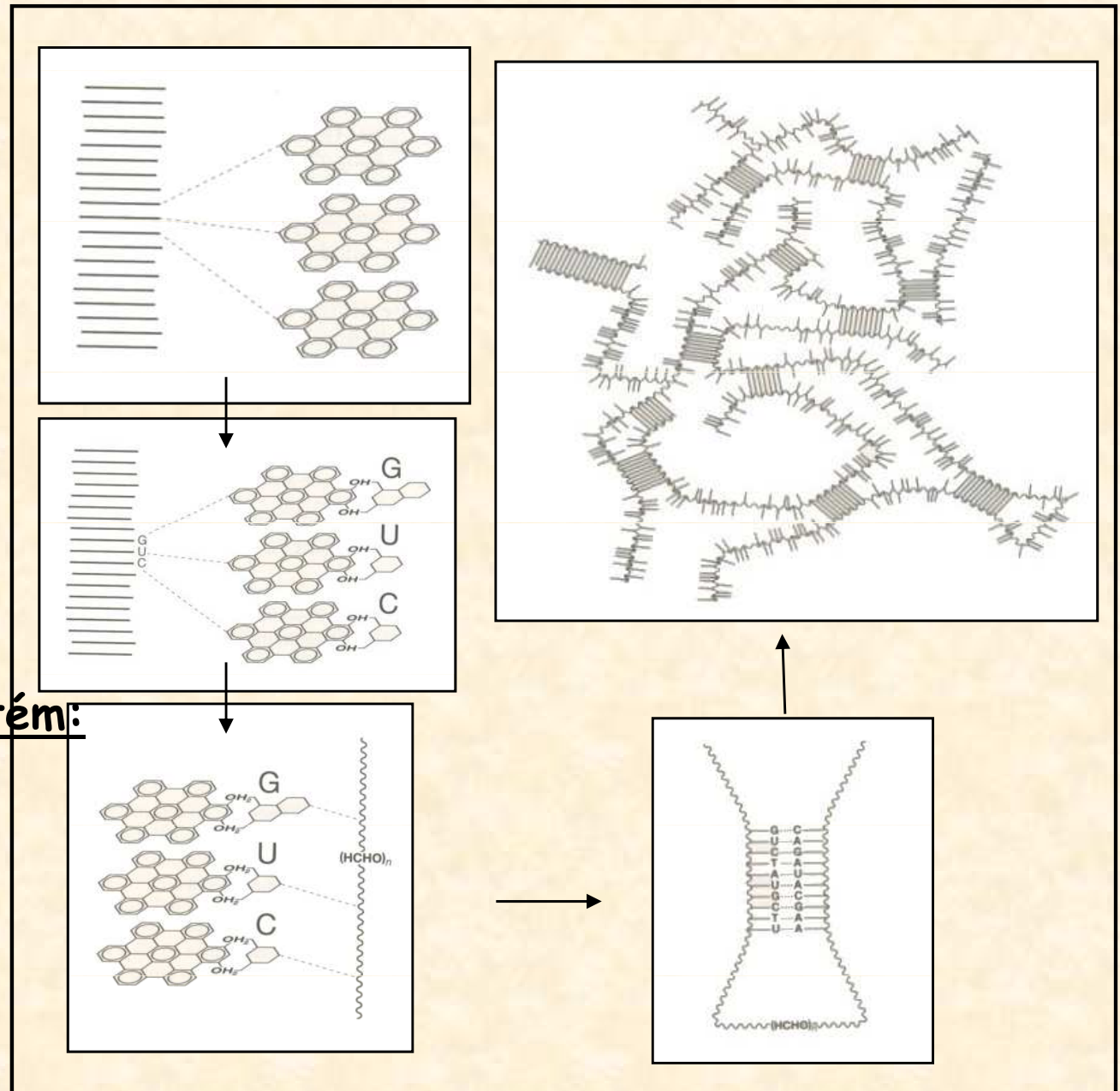
Alternativní genetické systémy: Svět polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH)

Molekuly RNA:

- chemicky **nestabilní**
- strukturně **složitá**

Požadavky na primitivní systém:

- strukturní jednoduchost
- schopnost párování
- stabilita



RNA KATALYZÁTORY - RIBOZYMY

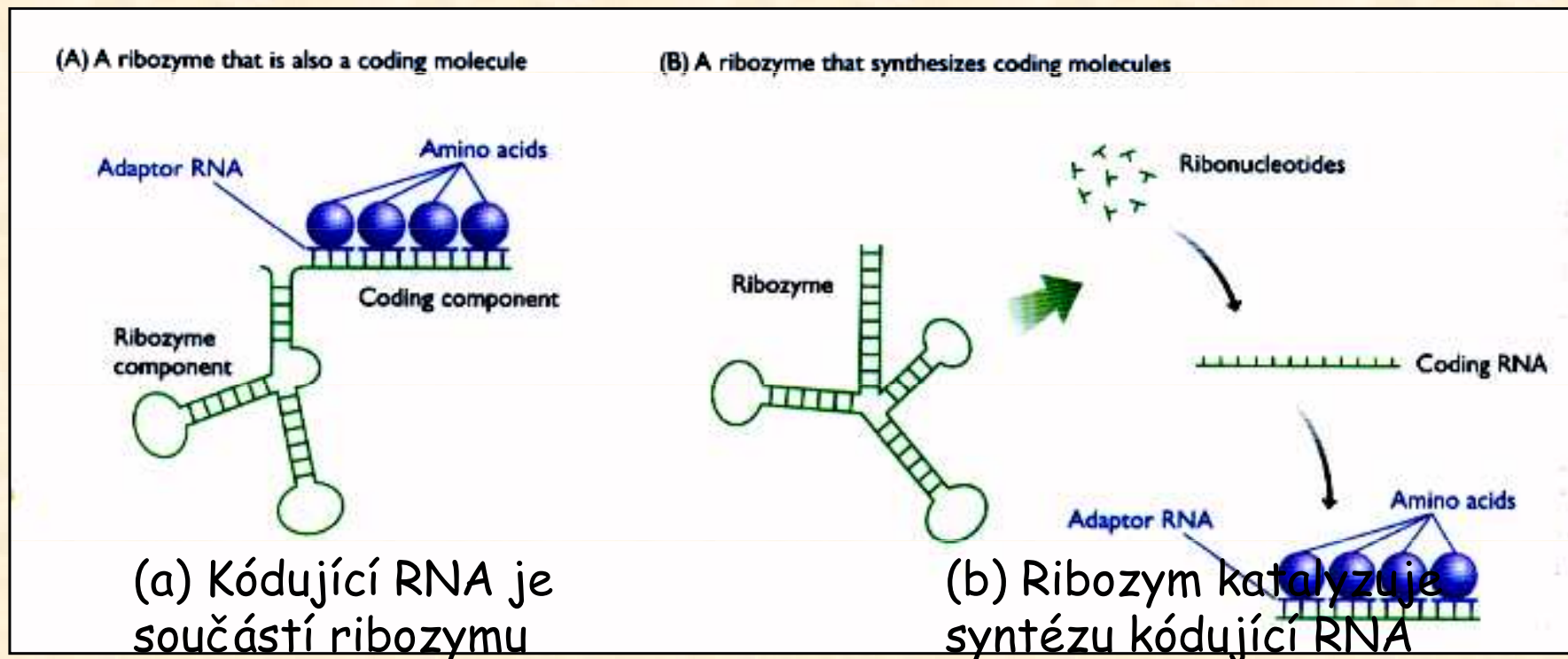
Katalytická RNA

Objev:

- Thomas Cech - intron I. typu v **26S rRNA** u *Tetrahymena*, samosestřih (1982)
- Sydney Altman - **RNasa P** u *Escherichia coli*, zrání tRNA (1983)
- 1989 - Nobelova cena za chemii

Ribozymy:

- molekuly RNA oplývající **katalytickou aktivitou**
- obecně analogy bílkovinných enzymů
- aktivní v několika základních reakcích **metabolismu RNA** a **syntézy bílkovin**
- pozůstatek z **RNA světa** ?



Co dokáží RNA katalyzátory

Katalyzované reakce - substrátem většinou RNA:

1. nejčastěji místně specifická **hydrolýza fosfodiesterových** vazeb

a) endonukleasa

b) *cis*-reakce - ribozym i substrát původně součástí jediné molekuly

c) *trans*-reakce - ribozym i substrát původně různé molekuly

2. obrácený směr - **syntéza fosfodiesterových** vazeb

RNA ligasa, RNA polymerasa (malá procesivita), nukleotidyltransferasa

3. **transesterifikace**

sestřih, editace

Substrátem není RNA !

1. **hydrolýza aminoacyloesterových** vazeb

2. **syntéza peptidové** vazby - 28S rRNA

RIBOZYMY: 3 archetypy

1. „Hammerhead“ ribozym

Odvozené typy:

- Vláškové ribozymy
- Hepatitis δ virus ribozym
 - replikace genomové RNA rostlinných viroidů (vláškové ribozymy) a viru hepatitidy δ u savců mechanismem valivé kružnice
- VS ribozym (*Neurospora crassa*)
 - vznik monomerů ssRNA, templátů pro reverzní transkripci RNA
 - Varkud satelit plazmid (mt u *N. crassa*)
 - 150b, transkript, ligace a štěpení

2. Introny I. typu

Odvozené typy:

- Introny II. typu
 - samosestřih
- U6 snRNA
 - spliceosomální sestřih

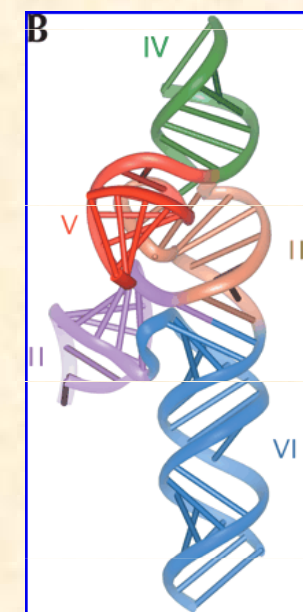
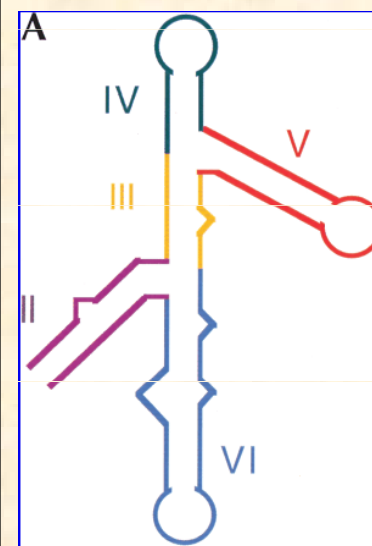
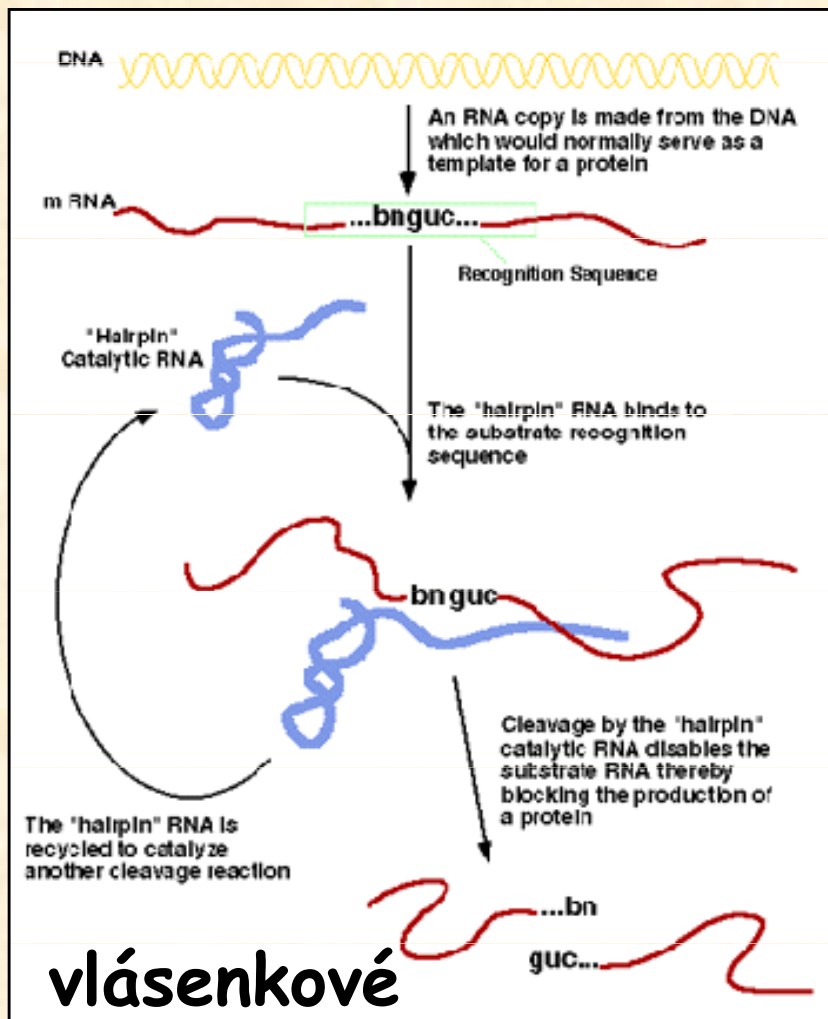
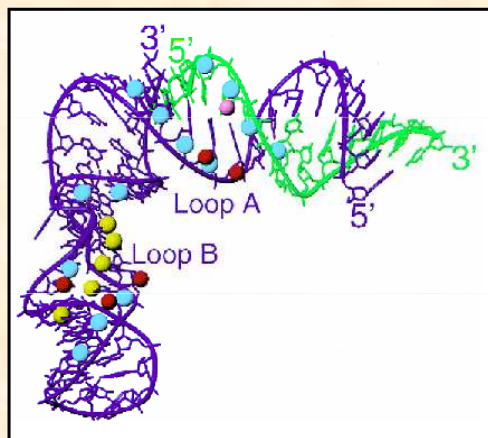
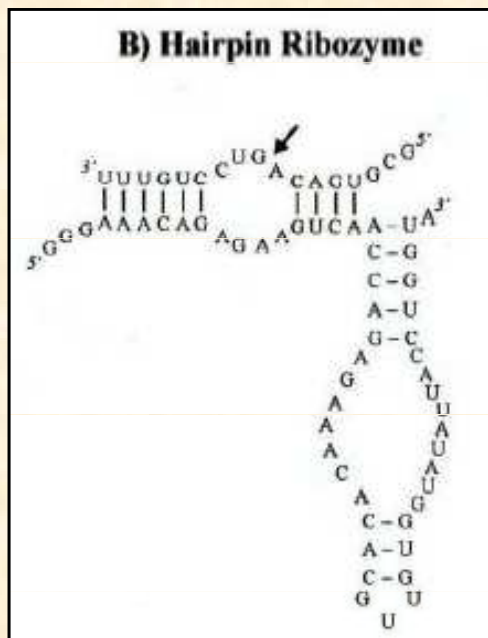
3. M1 RNA (RNA složka RNasy P)

Odvozené typy:

- RNA složka RNasy P jiných organismů

Vlásenkové (hairpin) a VS ribozymy

- vlásenková struktura, odvozené z ribozymů hammerhead
- antivirové aplikace, HIV-1, ligáza při manipulacích s RNA



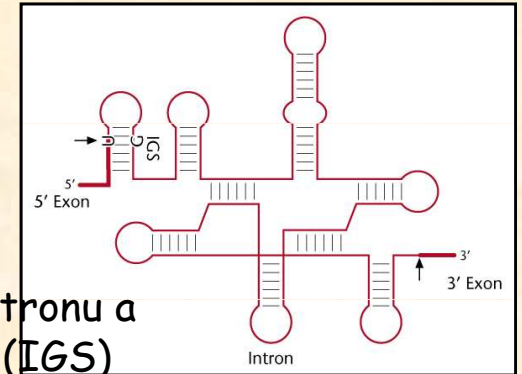
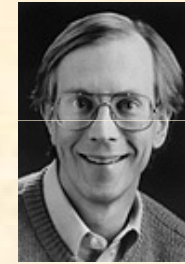
Varkud satelit

5 helixů
three-way junction

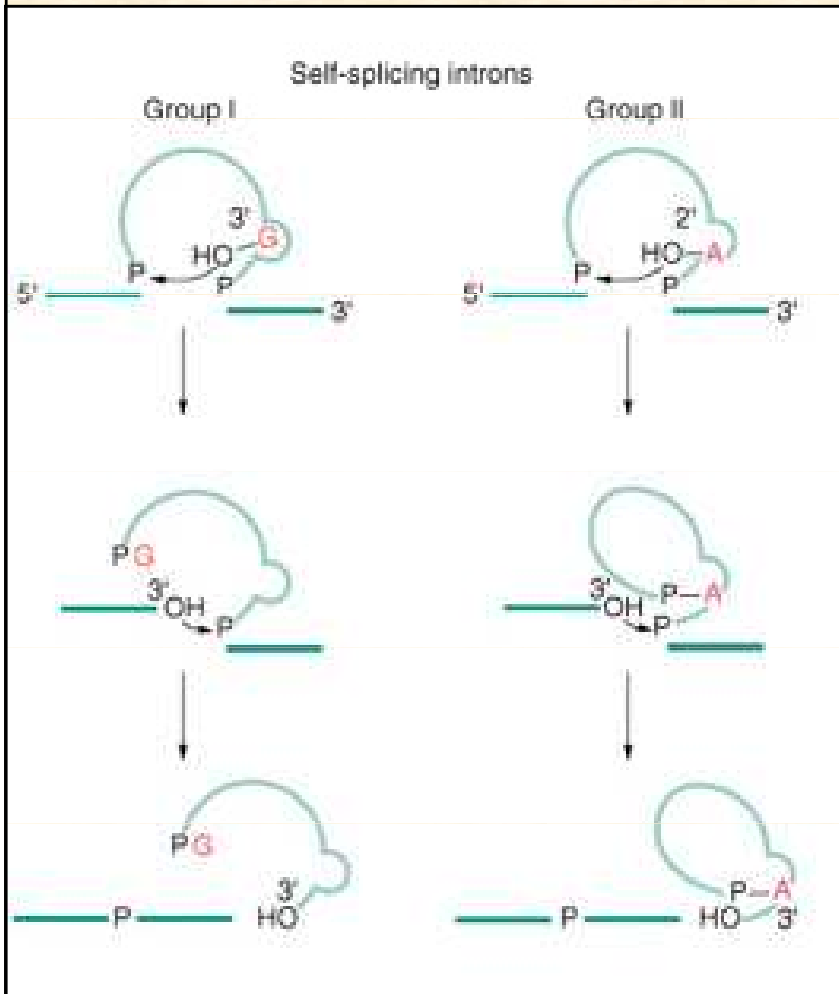
Ribozymy: introny I. skupiny

- v genech pro tRNA, rRNA i mRNA
- mt hub, cp řas, bakterie, bakteriofágy
- „homing“, gen kódující „homing endonukleázu (HEG)“
- dvoukroková transesterifikace, bez energie
- guanosinový kofaktor
- manipulace aktivního místa umožní *trans* reakci

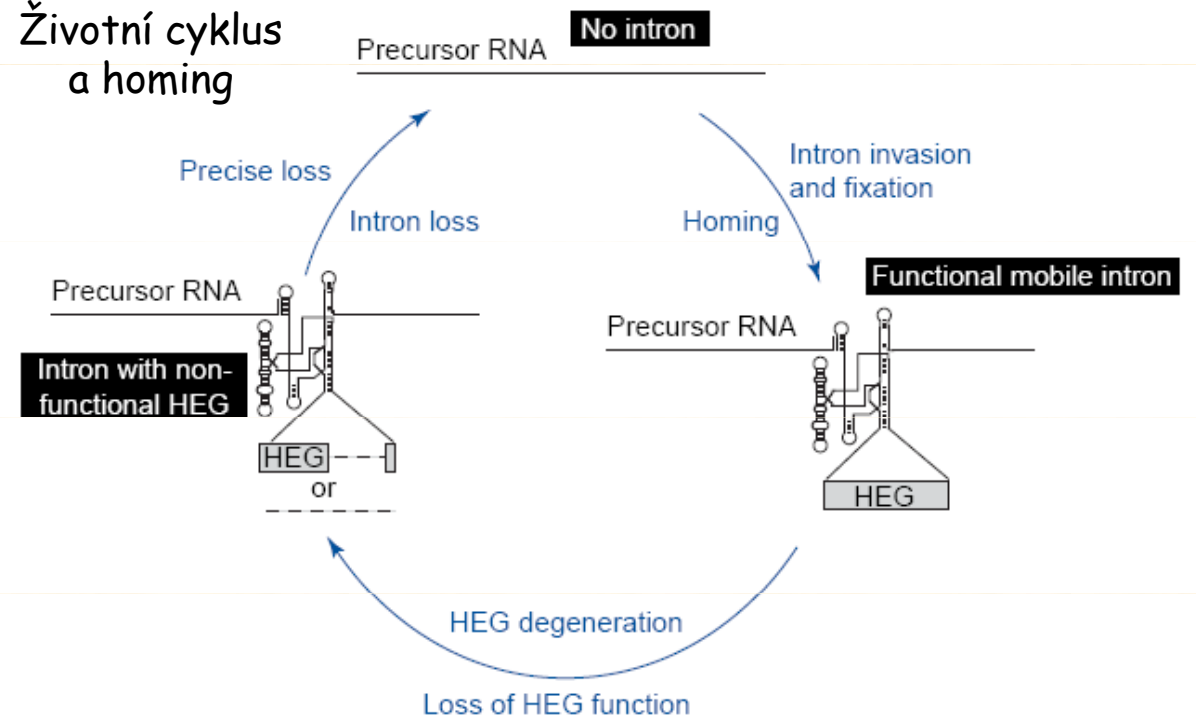
1982 - Thomas Cech: sestřih pre-rRNA prvoka *Tetrahymena thermophila*
 - samosestřih



Sekundární struktura intronu a internal guide sequence (IGS)



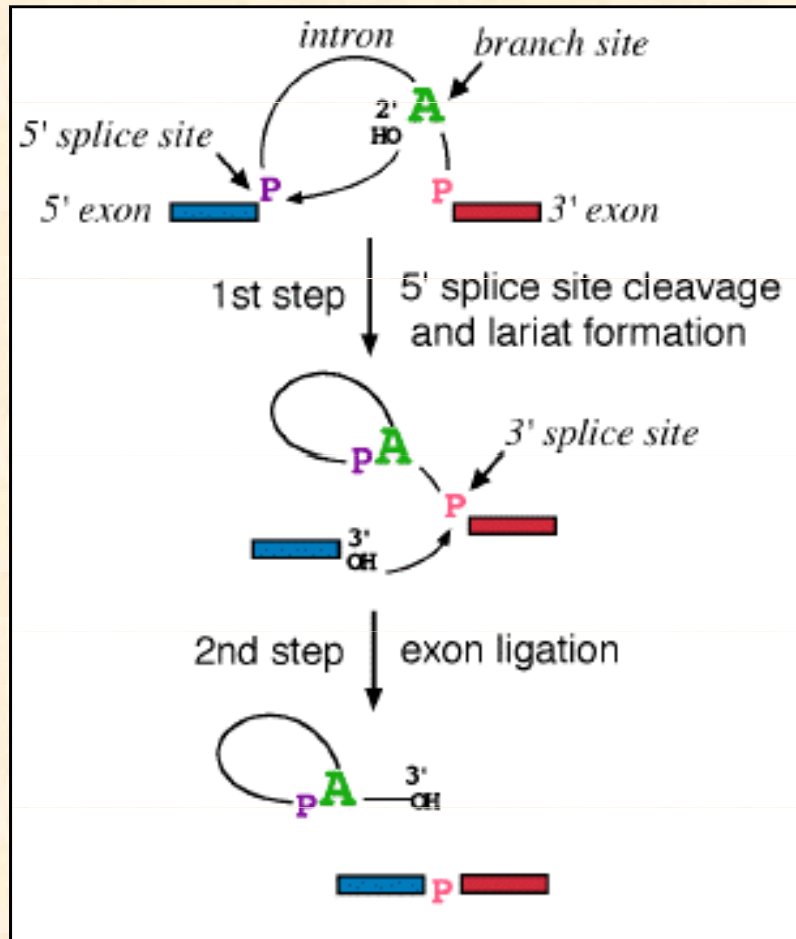
Životní cyklus a homing



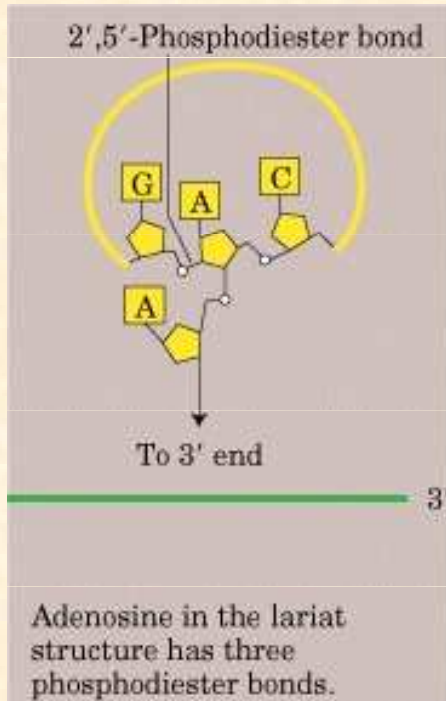
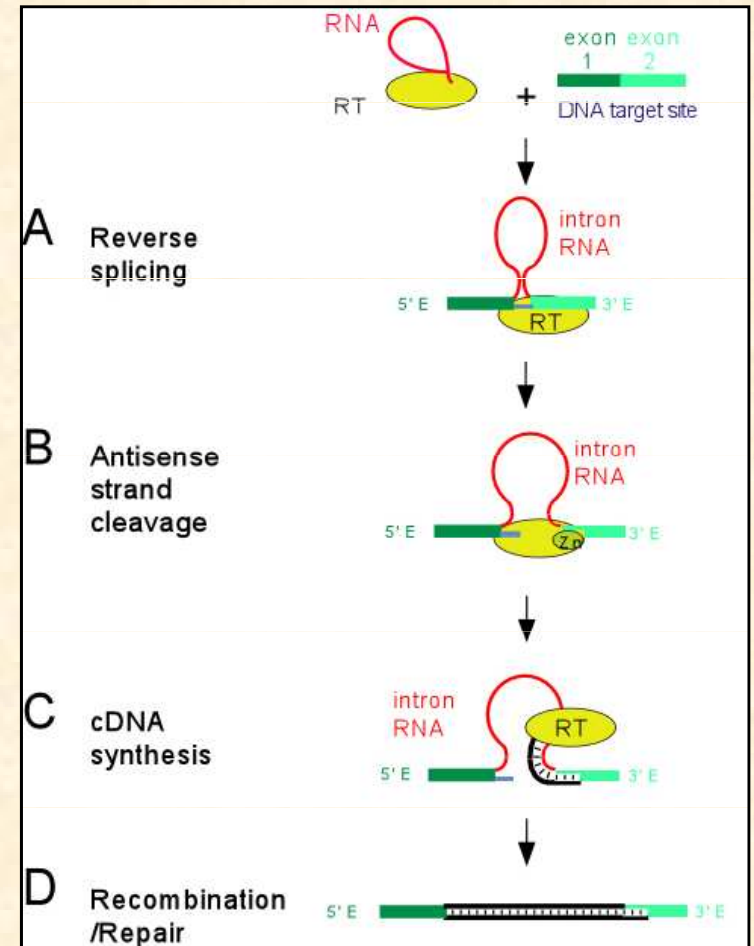
Ribozymy: introny II. skupiny

- méně rozšířené, odvozené, bakterie, organelové genomy eukaryot
- adenosinový kofaktor
- „retrohoming“ - inserce do alel bez intronu, reverzní transkripce

Sestřih

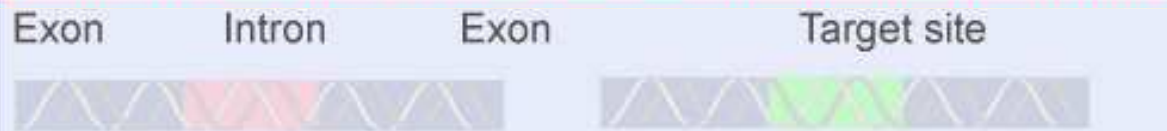


Reverzní sestřih

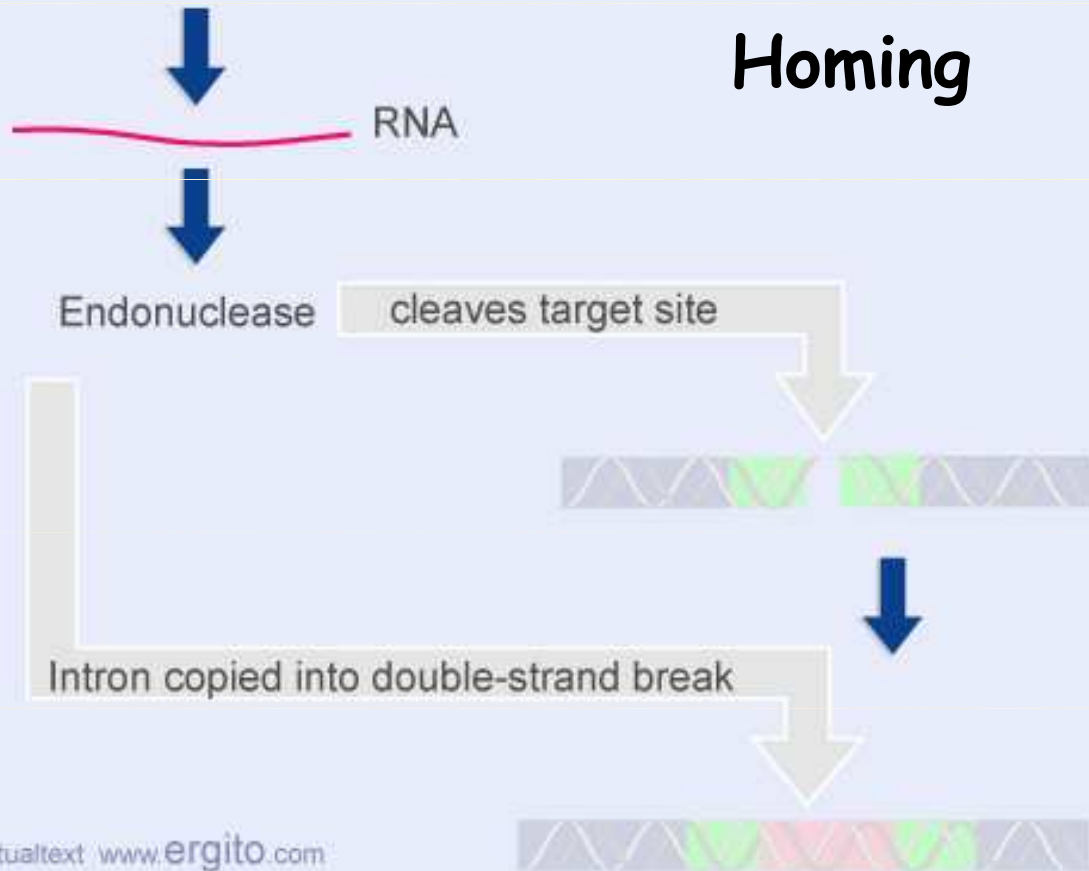


Introny I. a II. skupiny: „Homing“ a „retrohoming“

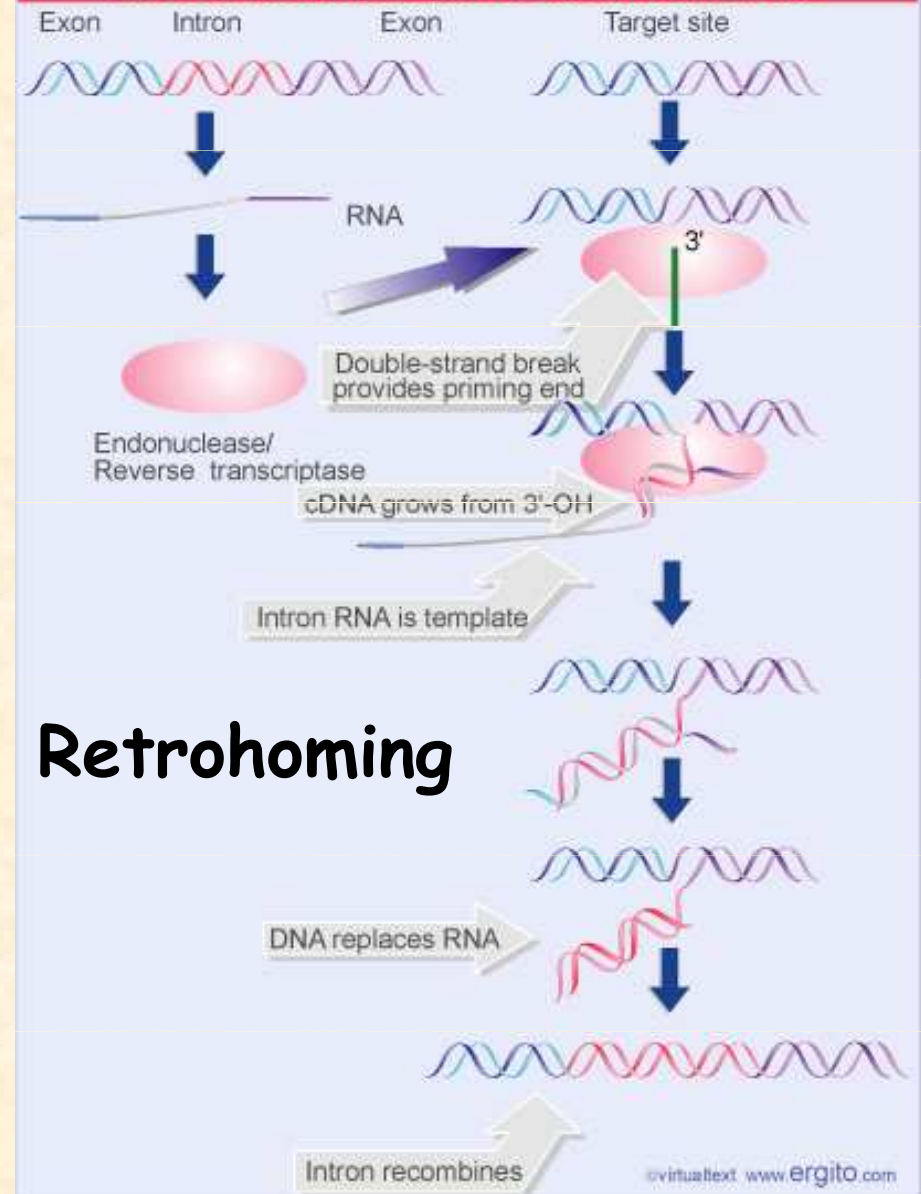
An intron codes for an endonuclease that initiates its transfer



Homing



Reverse transcriptase copies the intron into a new site

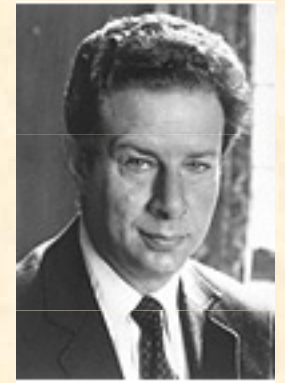


Retrohoming

RNáza P

Zrání tRNA:

odštěpení 5'-leaderu za vzniku zralé tRNA (1983 S. Altman)



Specifické vlastnosti:

Skutečný enzym - opakovaná aktivita v *trans*

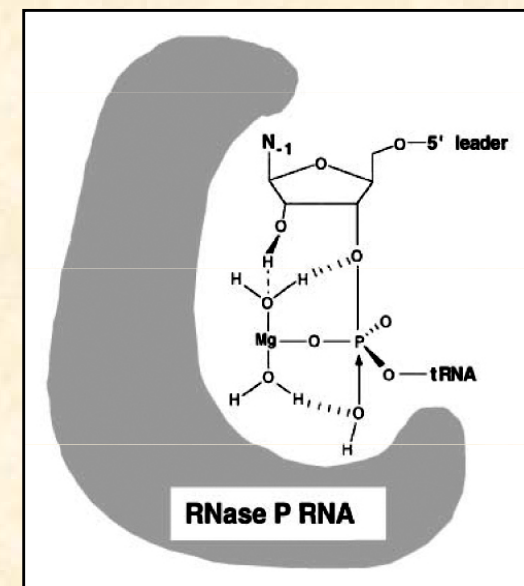
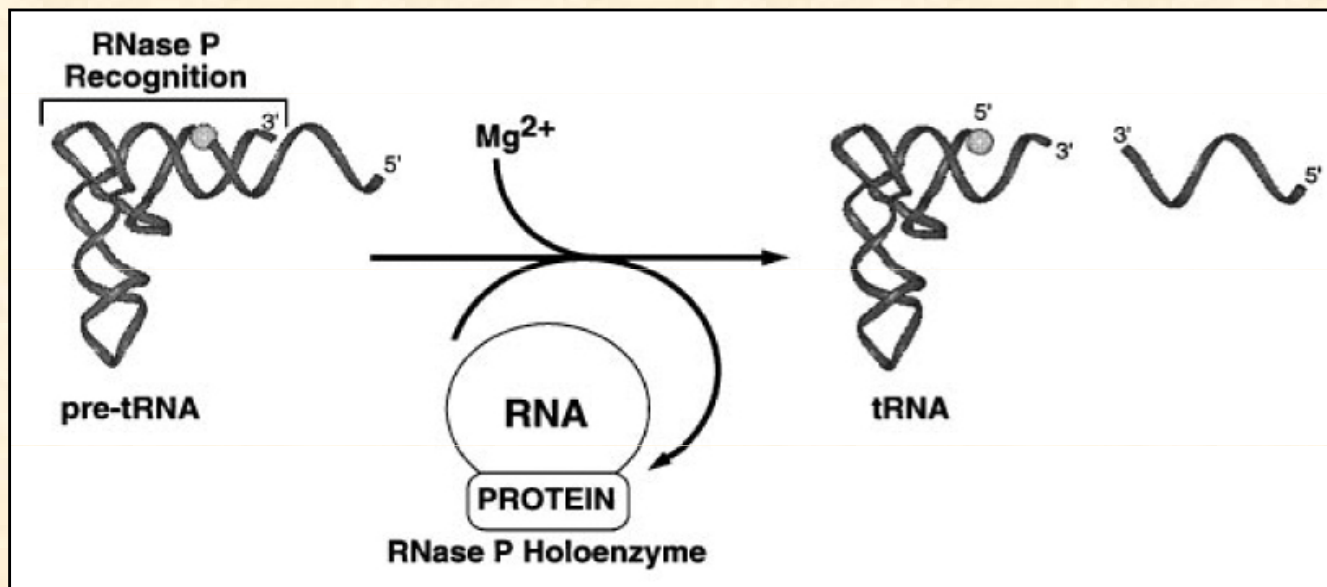
Rozpoznání substrátu na základě struktury a tvaru (ne dle párování bází)

Nukleofilem je hydroxylový ion OH-

RNáza P obsahuje RNA i proteinovou složku:

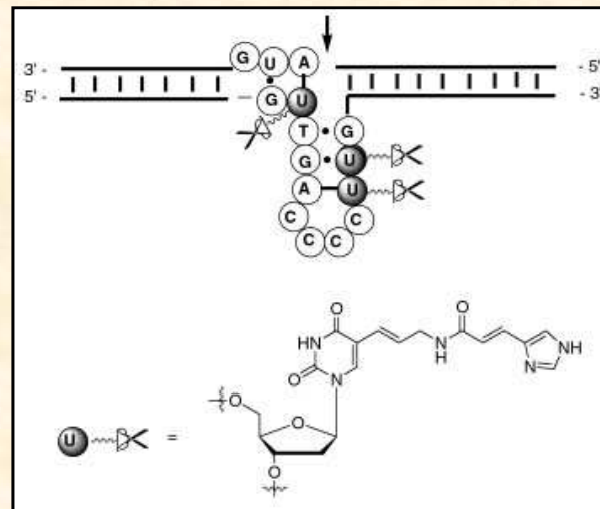
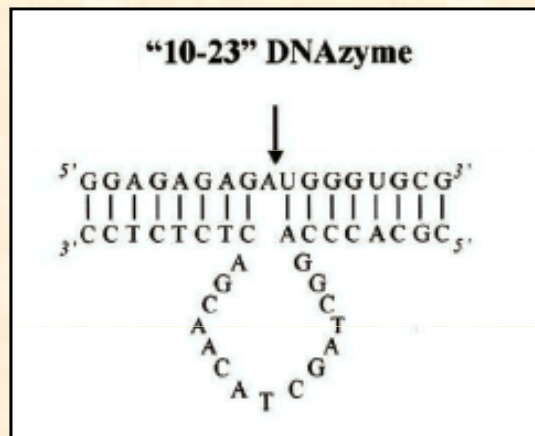
E. coli: RNA + jedna bílkovina, katalytická aktivita čisté RNA prokázána

H. sapiens: RNA + tři bílkoviny, katalytická aktivita RNA neprokázána



DNAzomy - enzymaticky aktivní DNA

- připraveny *in vitro* selekčními metodami (SELEX)
- „10-23“ deoxyribozym, katalytické centrum (15bází) + dvě ramena vážící substrát, štěpí RNA
- výhody DNA: tvorba DNAzymů rezistentních k nukleázám, sekvenční specificita
- tvorba molekul DNA podobných proteinům (báze s postranními AK řetězci, OBR.)
- antivirové, proti HIV-1 RNA,
- cílené proti „rakovinovým“ genům

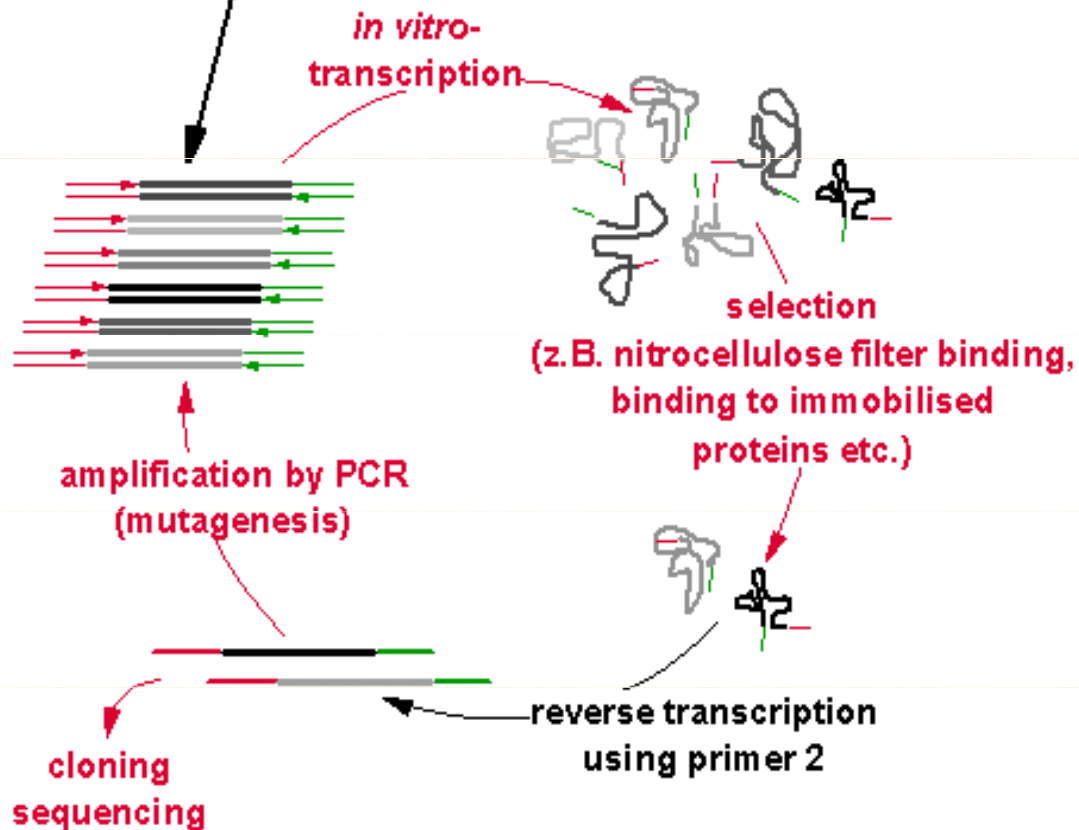


SELEX: „evolve *in vitro*“

A.

In vitro Selection of an RNA-Aptamer

DNA synthesis:



B.

- viry pro genovou terapii
- mutace plášt'ového proteinu
- rezistence k protilátkám
- produkce supervirů

EVOLUCE:

1. dědičnost
2. variabilita
3. selekce

Osud RNA katalyzátorů po převzetí jejich funkce proteiny

1. Vymizely:

2. Převzaly nové funkce:

- přeměna **ribozomů** a tRNA účastnících se **replikace** na součásti translační mašinerie
- proto**spliceosom** měl původně úlohu v **rekombinaci**, bimolekulární sestřih

3. Zachovaly si vysoce konzervativní funkce:

- snoRNA - procesing rRNA
- RNAza P - procesing tRNA
- snRNA - sestřih intronů v mRNA

- Tyto funkce vysoce konzervativní, zachovaly se u eukaryot
- ztráta některých RNA reliktnů u prokaryot, proteiny jsou účinnější
- podpora představy progenitora podobného eukaryotům

PŘÍKLADY RELIKTŮ SVĚTA RNA

Představitelé reliktního světa RNA

1. tRNA - od replikace k proteosyntéze
2. Ribozóm
3. Sestřih a snRNA
4. Maturace rRNA a snoRNA
5. Maturace tRNA a RNázaP
6. Signální rozpoznávací částice a srpRNA
7. Editace RNA a řídicí RNA (gRNA)
8. Telomeráza a telomerická RNA
9. Vault RNA (vRNA)

Starobylé struktury:

Ribozóm - proteosyntéza, účast rRNA, tRNA a mnoha proteinů (původně **replikace**)

Spliceozóm - sestřih pre-mRNA, účast snRNA a mnoha proteinů (původně **rekombinace**)

Snorpozóm - sestřih pre-rRNA, účast snoRNA a mnoha proteinů

1. Role tRNA a ribozómů: od replikace k proteosyntéze

Dnešní translace - složitá koordinovaná síť interakcí RNA a proteinů - vyvinula se z mnohem jednodušších systémů existujících ještě ve světě RNA (RNA-RNA interakce), důležitá schopnost replikace
Prvotní funkce ribozómů - polymerizace nukleotidů - RNA replikace

Původní role ribozómů v replikaci:

- Ribozomální protein S1 a translační elongační faktor Tu a Ts - jsou podstatnou složkou replikázového komplexu fága Q β
- Elongační faktory jsou složkami replikázových komplexů některých rostlinných RNA virů

Hypotéza genomových značek:

Molekuly primitivních tRNA fungovaly jako značky molekul RNA určených k replikaci RNA ribozymy, TLS (tRNA-like structures) - na 3-konci Q β
Aminoacylace tRNA - další značka

Pozůstatky replikační role tRNA v dnešních genomech

1. Telomeráza:

krátký fragment RNA funguje jako templát pro RT

2. Retroelementy:

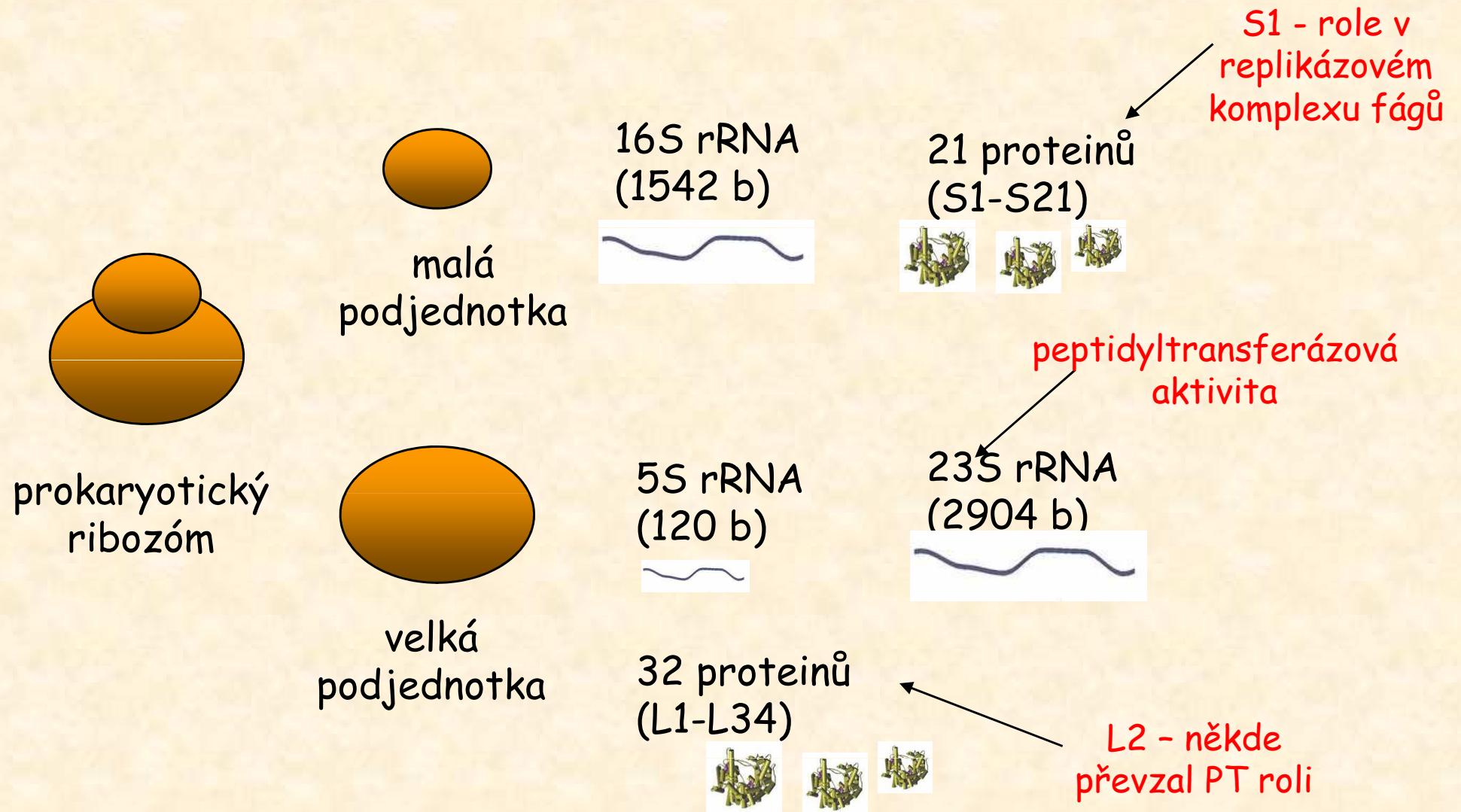
tRNA funguje jako primer syntézy cDNA při reverzní transkripci

3. RNA viry:

struktury podobné tRNA na 3-koncích genomové RNA

TLS (tRNA like structure) jsou aminoacylovány histidinem, valinem nebo tyrosinem a fungují jako primery replikace RNA, jen 3-koncové CCA nebo CCCA jsou potřebné pro replikaci

2. Ribozómy: ribozymy stabilizované proteiny



2. Ribozómy: ribozymy stabilizované proteiny

Dnešní ribozóm:

- RNA-RNA interakce: tRNA - 23S rRNA
- peptidyltransferázová aktivita rRNA
- u některých organismů převzal tuto roli ribozomální protein L2

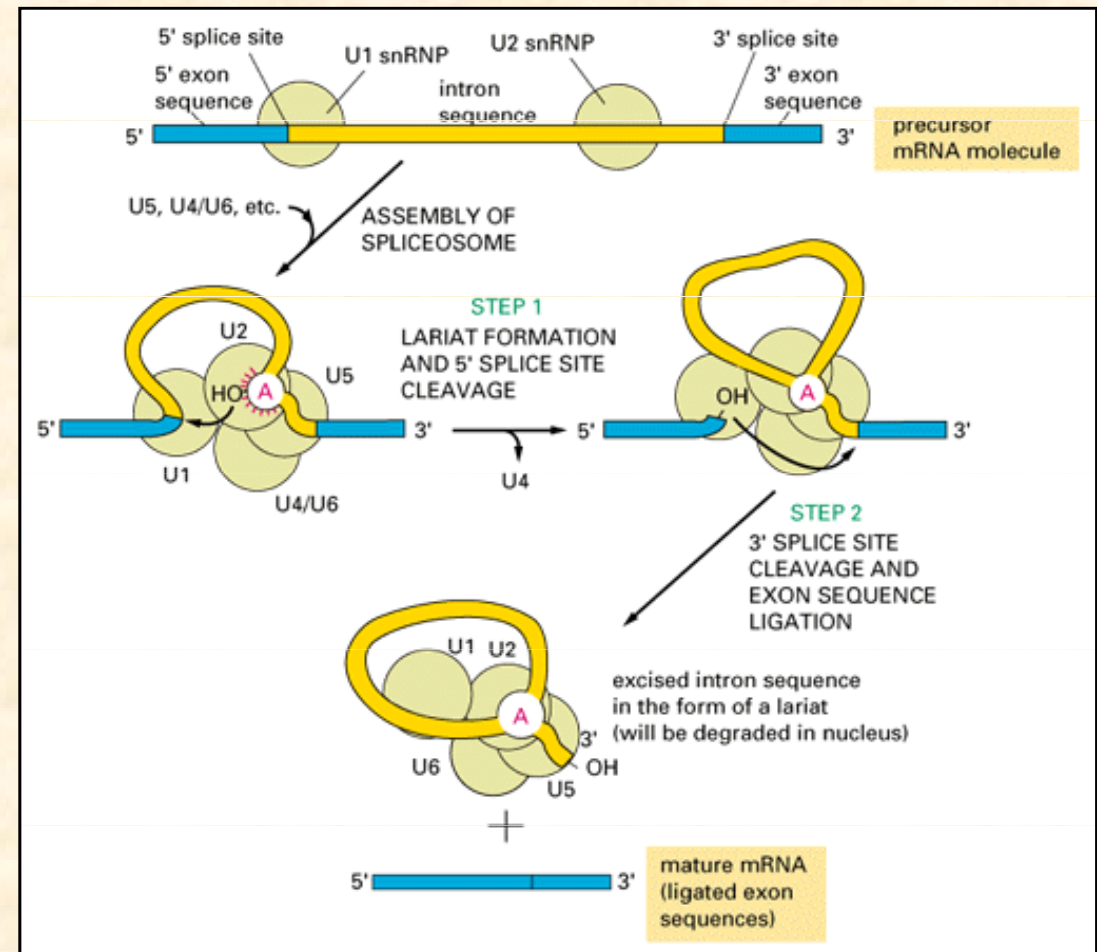
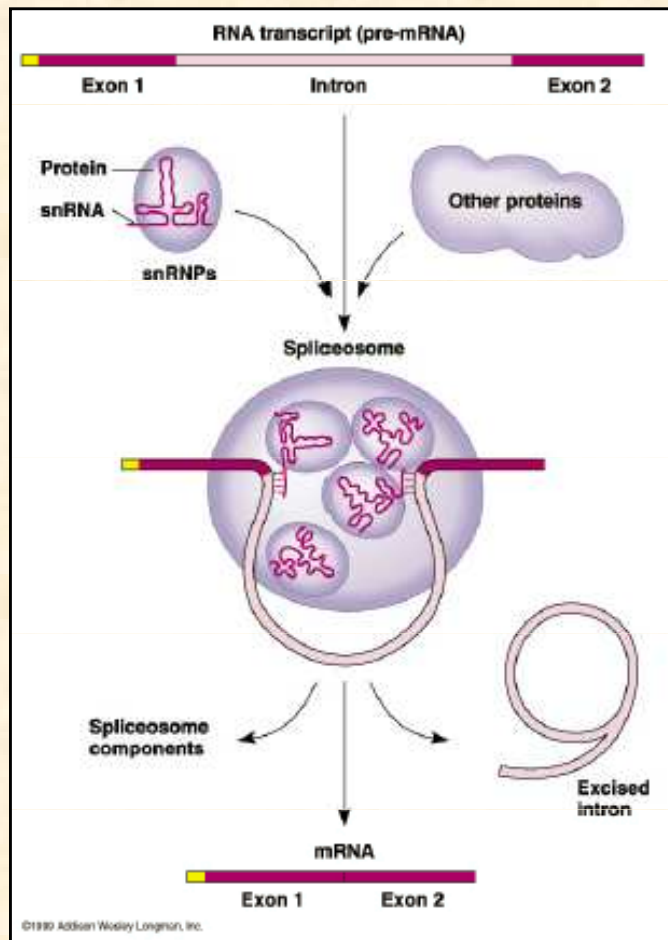
Protoribozóm:

- představa ribozómu tvořeného pouze RNA, in vitro experimenty
- původně odlišná funkce, replikace
- velikost 7500 nukleotidů (Eigenův limit)
- původně možná více ribozymů
- RNA je schopna aminoacylace tRNA

3. Sestřih, spliceozóm a snRNA

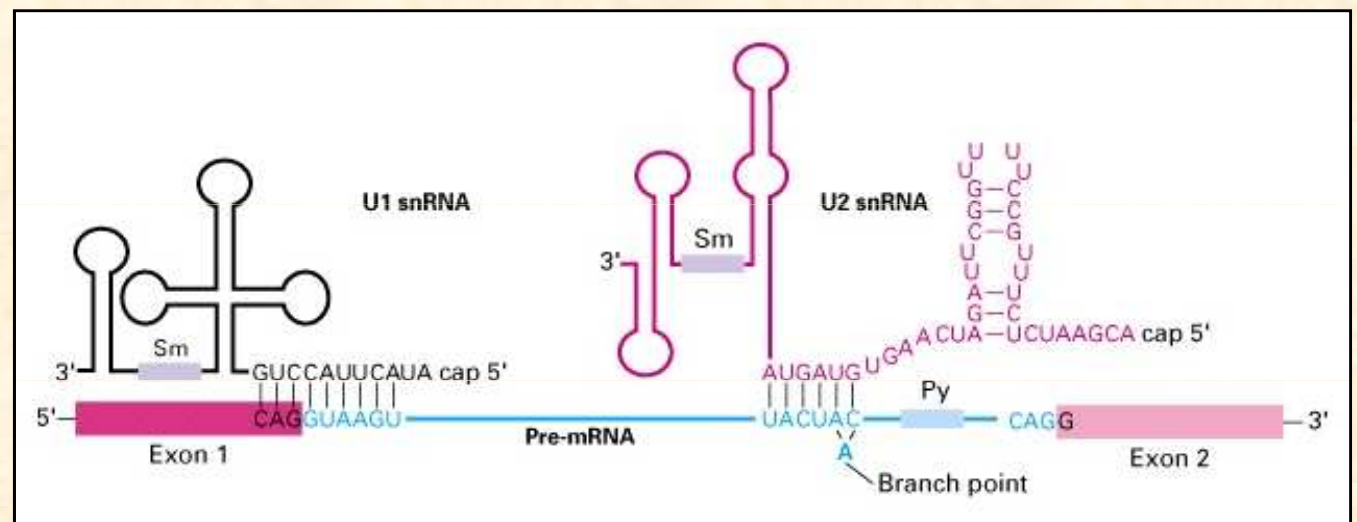
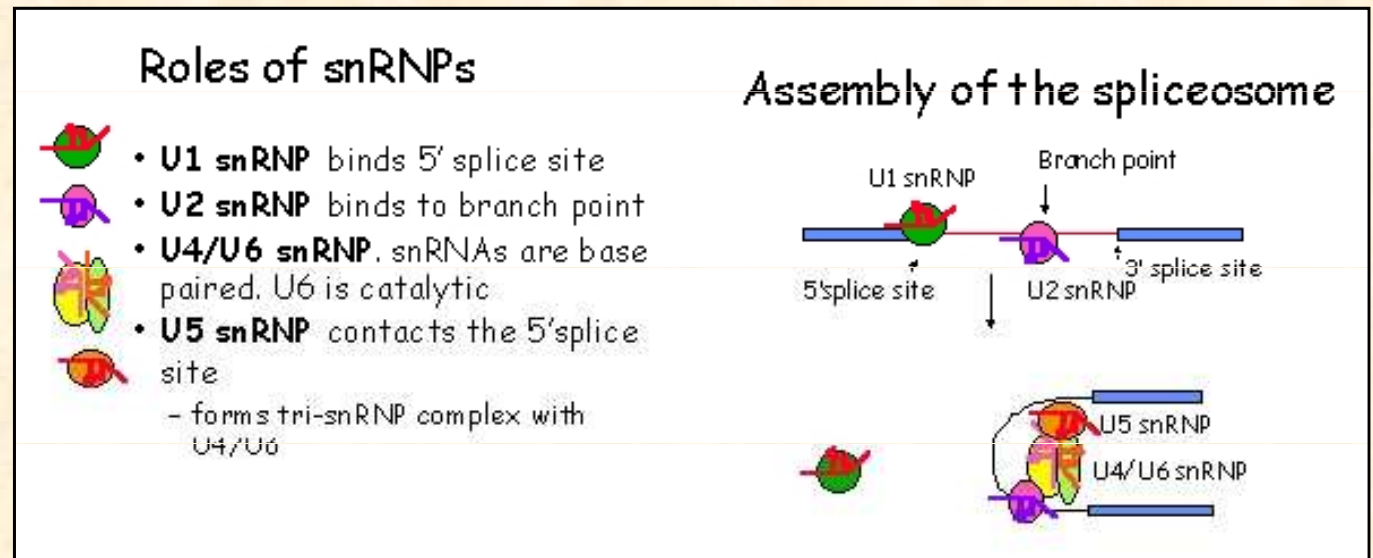
Spliceozóm:

- posttranskripční úprava pre-mRNA (hnRNA), vystřižení intronů
- obsahuje RNA struktury podobné intronům II. skupiny a hammerhead
- RNA-RNA interakce
- starší než translace - původ v rekombinaci molekul RNA
- bimolekulární trans-splicing molekul ssRNA

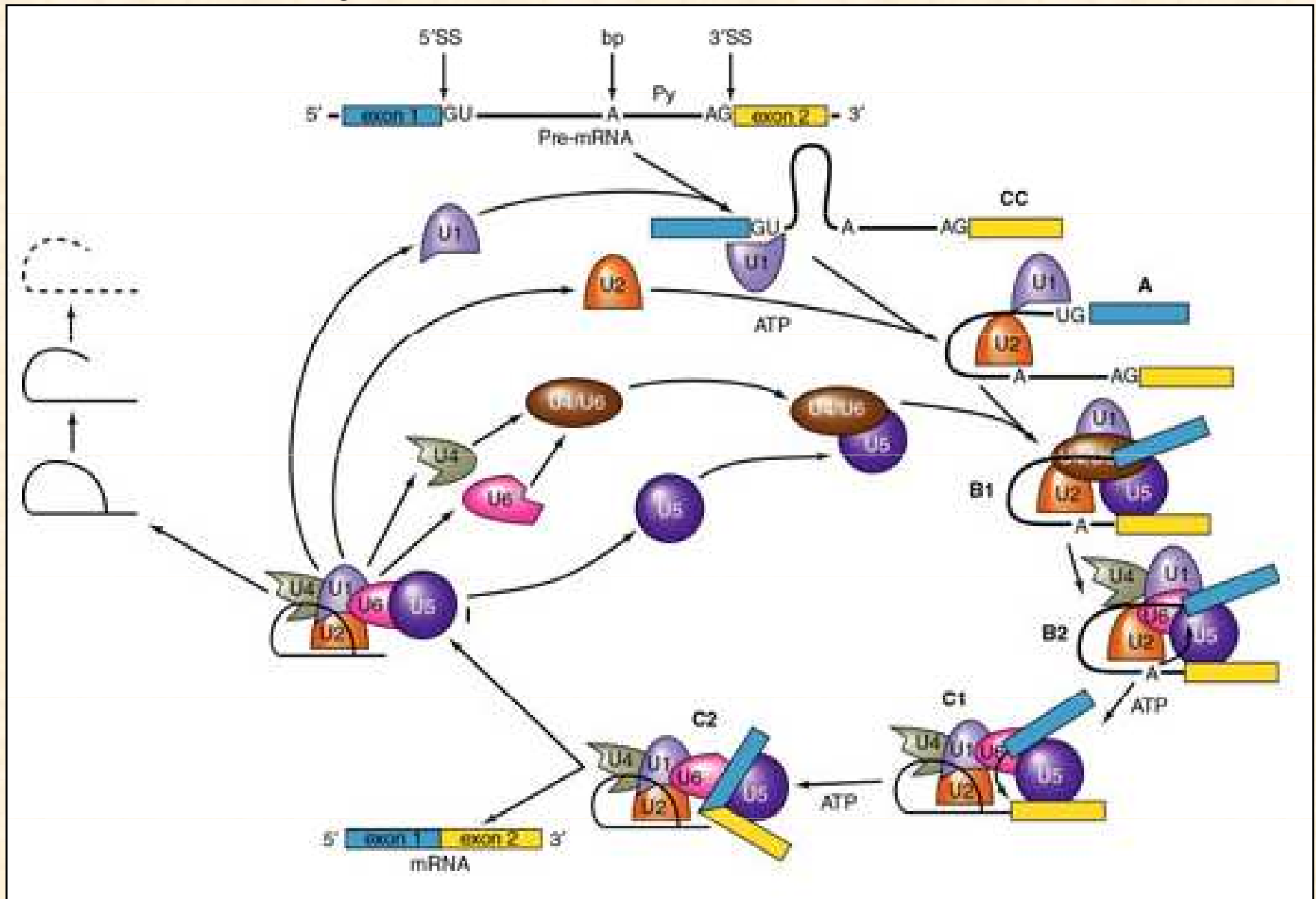


Malé jaderné RNA (snRNA)

- nacházejí se v jádře eukaryot
- účastní se sestřihu pre-mRNA a udržování telomer
- tvoří nukleoproteinové částice (snRNP = snurps), každá s více proteiny
- jsou kódovány introny
- U1, U2, U4, U5, U6
- U4+U6 se párují spolu a U6 je katalytická



Malé jaderné RNA (snRNA)



4. Maturace rRNA a snoRNA

snoRNA (malé jadéřkové RNA):

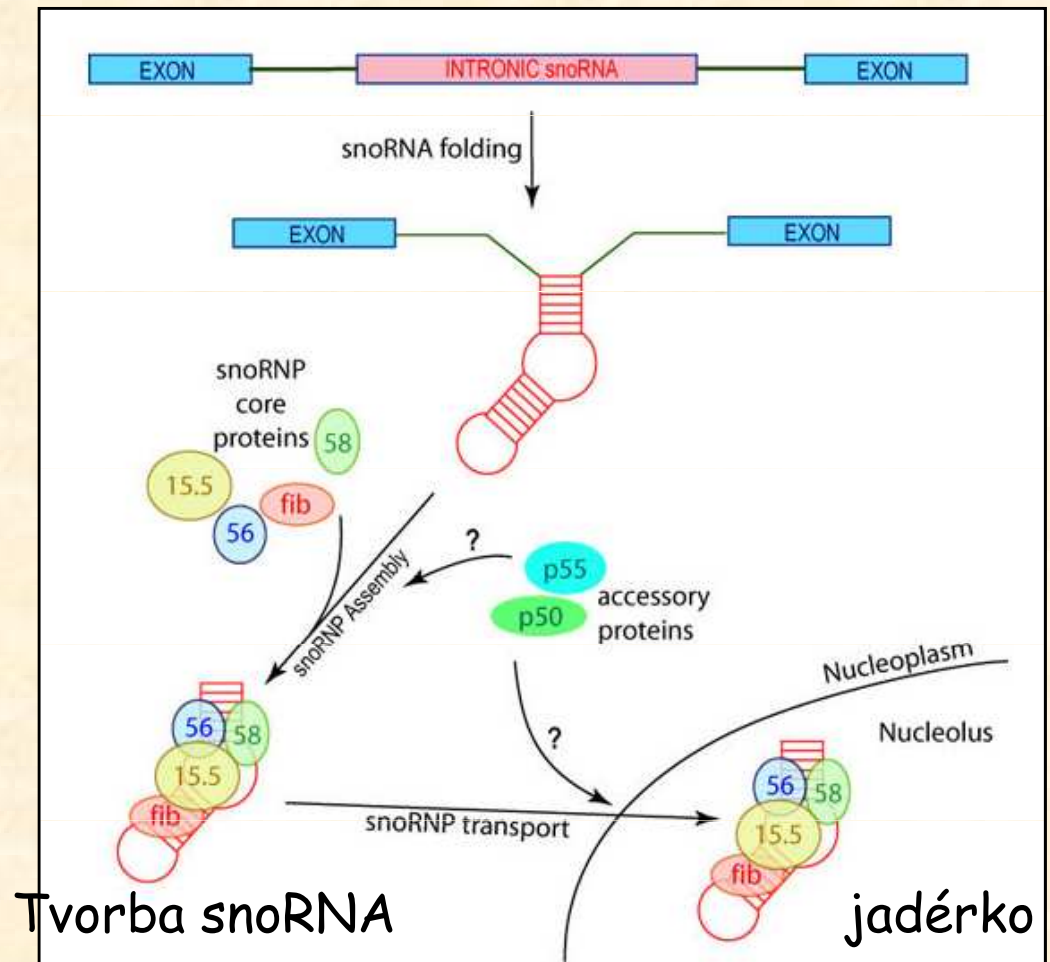
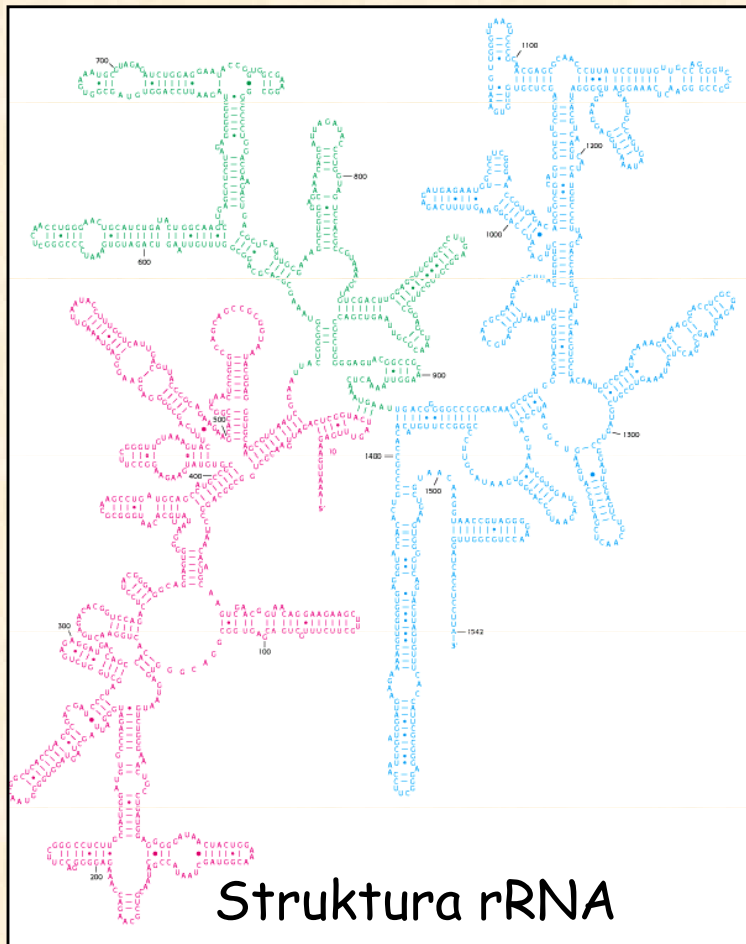
- účast při maturaci rRNA a ribozómů
- velký funkční komplex - snorpozóm
- kódovány introny některých genů - ribozomálních a heat shock genů
- 8 různých snoRNA kódováno 8 introny jednoho genu
- u savců nejméně 30 různých snoRNA, u kvasinky 26 snoRNA délky 5426 b (ancestrální snorpozóm)
- homologie snoRNA s rRNA (18S a 28S), intra- i intermolekulární kontakty (kroslinkování)
- některé snoRNA potřebují spliceosom ke své maturaci

Prokaryota:

- **absence snoRNA** u prokaryot je záhadou
- maturace rRNA **jen** za účasti **proteinů**
- objev U3snoRNA u archebakterie *Sulfolobus acidocaldarius*

Malé jadéřkové RNA (snoRNA)

- jsou součástí snoRNP (snorpozómu)
- snoRNA hybridizuje k cílové sekvenci rRNA, modifikuje, štěpí prekurzorovou RNA, sbaluje do terciálních struktur
- geny pro snoRNA se nacházejí v intronech (potřebují sestřih, spliceozóm)
- účastní se modifikace rRNA a dalších RNA genů (např. metylace)



Introny jsou někdy důležitější než exony (snoRNA v intronech)

- gen UHG (U22 host gene) obsahující v 8 intronech 8 různých snoRNA
- sestřihem vzniká mRNA, která je však degradována
- mRNA je málo konzervativní mezi člověkem a myší
- hlavním funkčním produktem UHG genu jsou tedy molekuly snoRNA

Tycowski et al (1996): A mammalian gene with introns instead of exons generating stable RNA products. Nature 379: 464-466.

5. Maturace tRNA a RNázaP

tRNA:

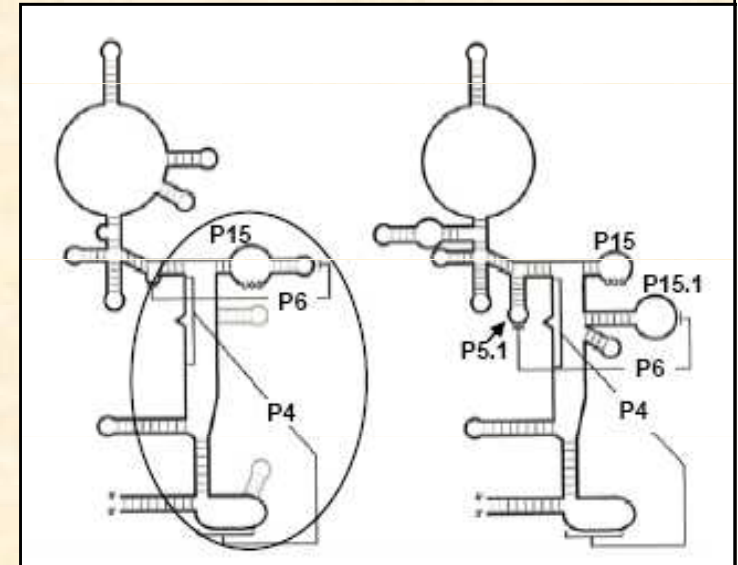
- relikv světa RNA - konzervativní, všudypřítomná, centrální úloha v metabolismu
- interakce s rRNA (CCA konec tRNA interaguje s 23SrRNA)
- původní funkce v replikaci, později v proteosyntéze
- některé geny pro tRNA mají introny

RNázaP (Guerrier-Takada, 1983):

- úloha v maturaci tRNA
- je skutečným **enzymem**, štěpí opakovaně
- RNA katalytická podjednotka (M1 RNA) - molekulární fosilie
- jediný ribozym modifikující RNA u **prokaryot**

RNáza MRP:

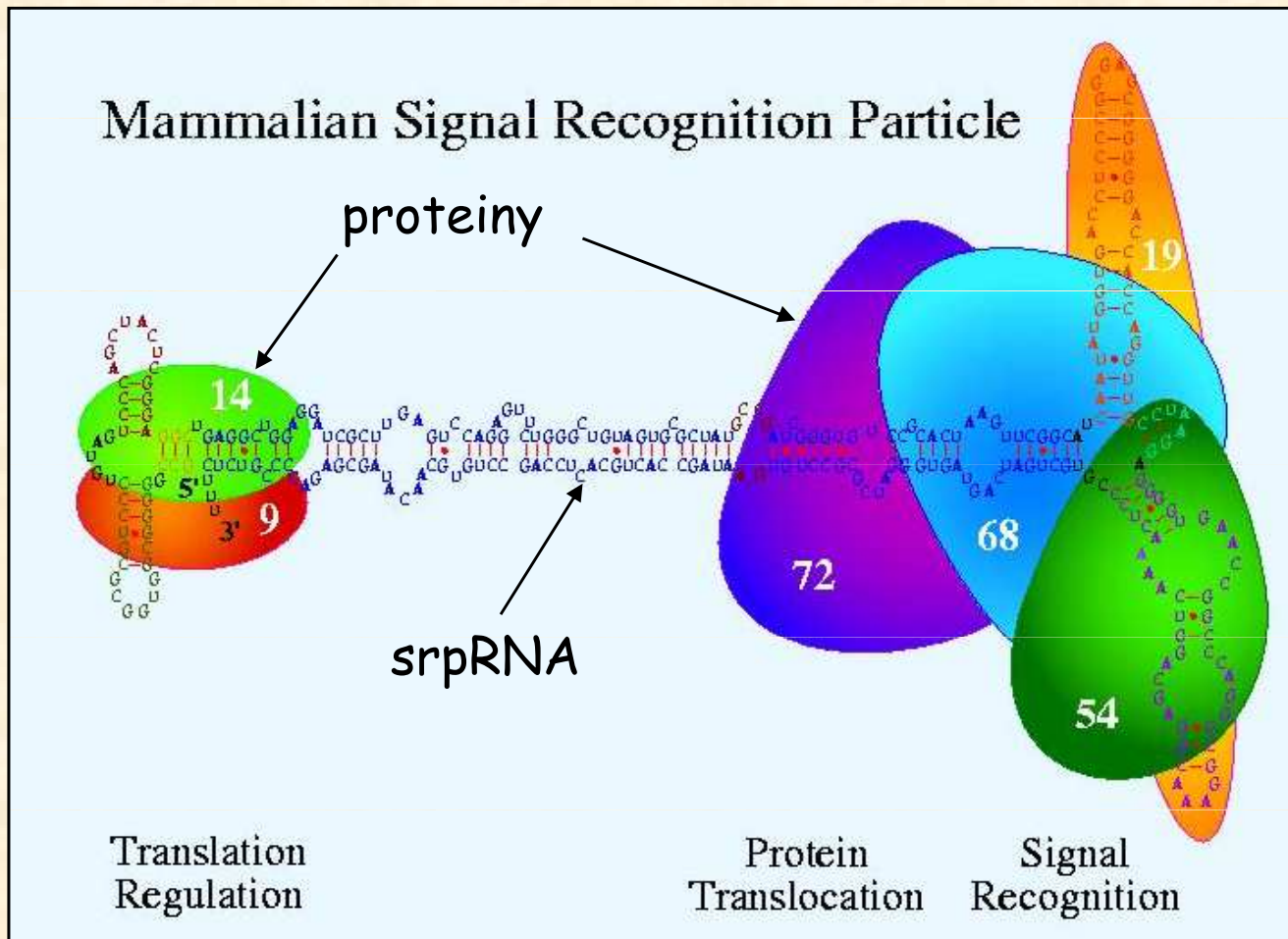
- druhá podobná molekula vzniklá duplikací a divergencí u eukaryot nebo endosymbiózou
- výskyt u *Giardia* a *Microsporidia* - nemají mitochondrie



RNázaP a její RNA složka

6. Signální rozpoznávací částice a srpRNA

- RNA-proteinový komplex zajišťující vazbu ribozómu na ER a sekreci proteinů
- RNA složka 7S RNA u eukaryot a archeí, asi 300 b
- podobná struktura a funkce, homologie s Alu sekvencemi
- stimuluje hydrolýzu GTP
- původně ribozym štěpící GTP



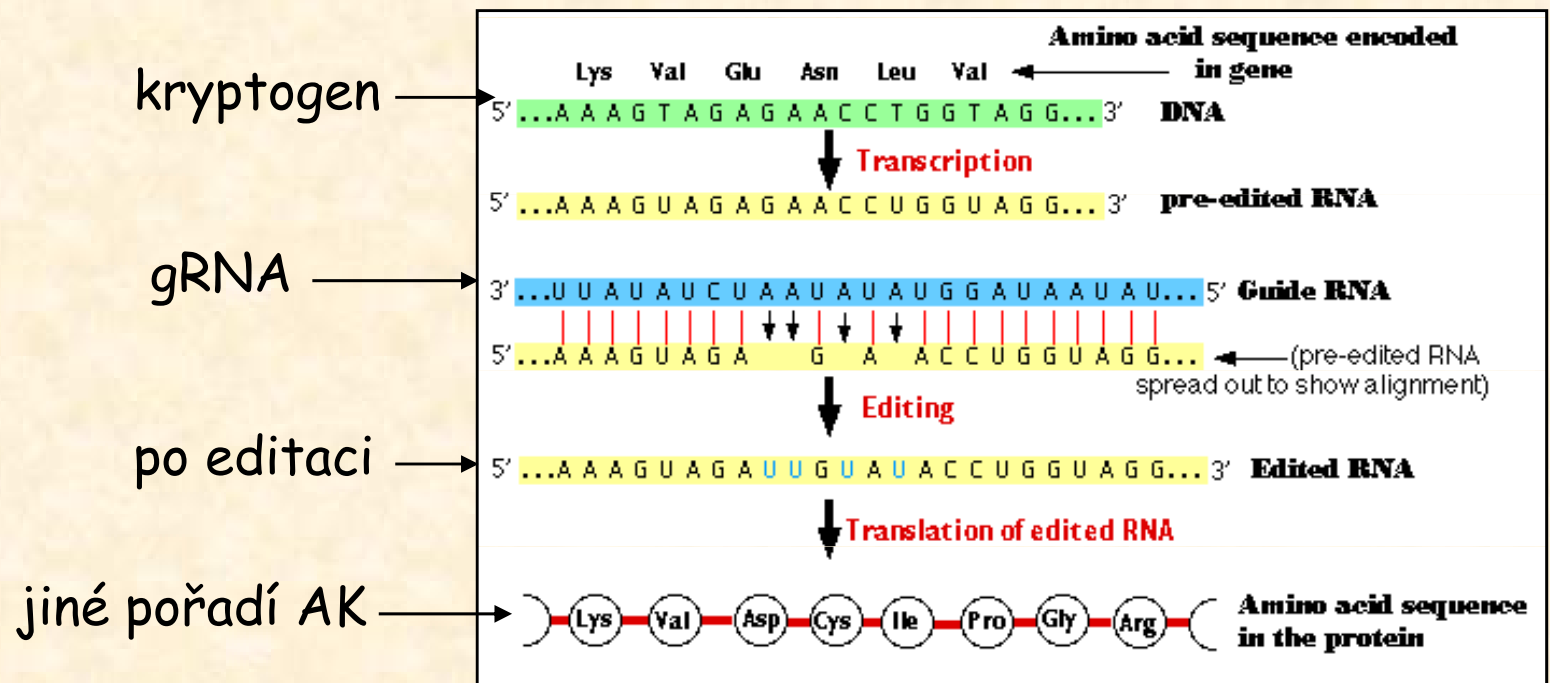
Schematic representation of the mammalian SRP depicting SRP9, SRP14, SRP19, SRP54, SRP68, SRP72 and SRP RNA. The part of SRP comprising SRP9/14 complexed with RNA forms a distinct structural domain known as the **Alu domain due to homology of the Alu family of RNA sequences** with the Alu family of repetitive DNA sequences and the small cytoplasmic Alu RNAs (scAlus). The Alu domain of SRP mediates the specific pauses(s) in the synthesis of nascent ER targeted proteins whose signal sequence has been bound by SRP54.

7. RNA editace, g-RNA, editozóm

- posttranskripční úpravy - modifikace tRNA, rRNA a pre-mRNA,
- substituce, inserce, delece, **kryptogeny**, templátem je guide RNA (g-RNA)
- eukaryota, mitochondrie trypanosom - inserce či delece polyU
- editace je podmínkou tvorby sekundárních struktur bez nichž nemůže dojít k maturaci tRNA RNázou P

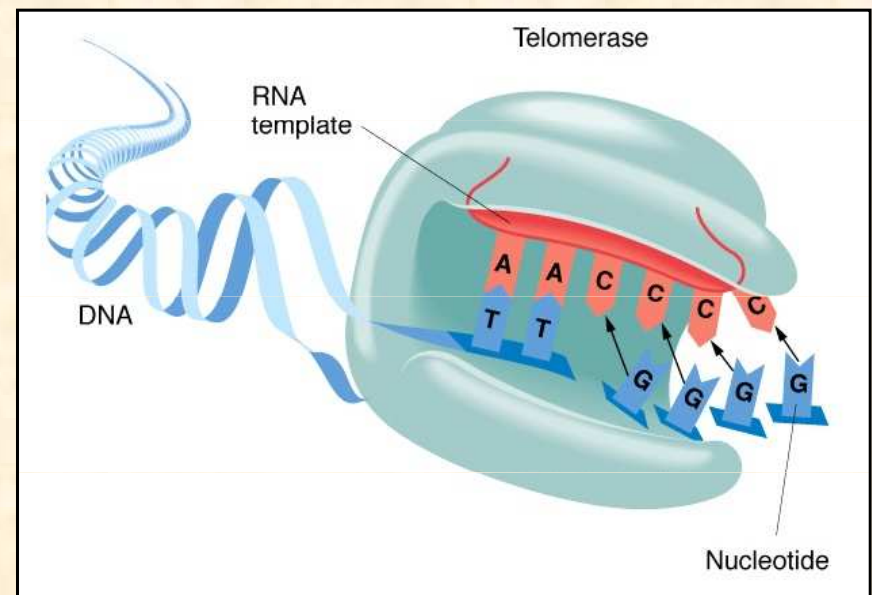
Původ editace:

- u mitochondrií - reakce na asexualitu (Mullerova rohatka), korekce
- ve světě RNA - editace jako kontrolní mechanismus exprese tRNA
- nádorová nebo neurologická onemocnění (epilepsie)



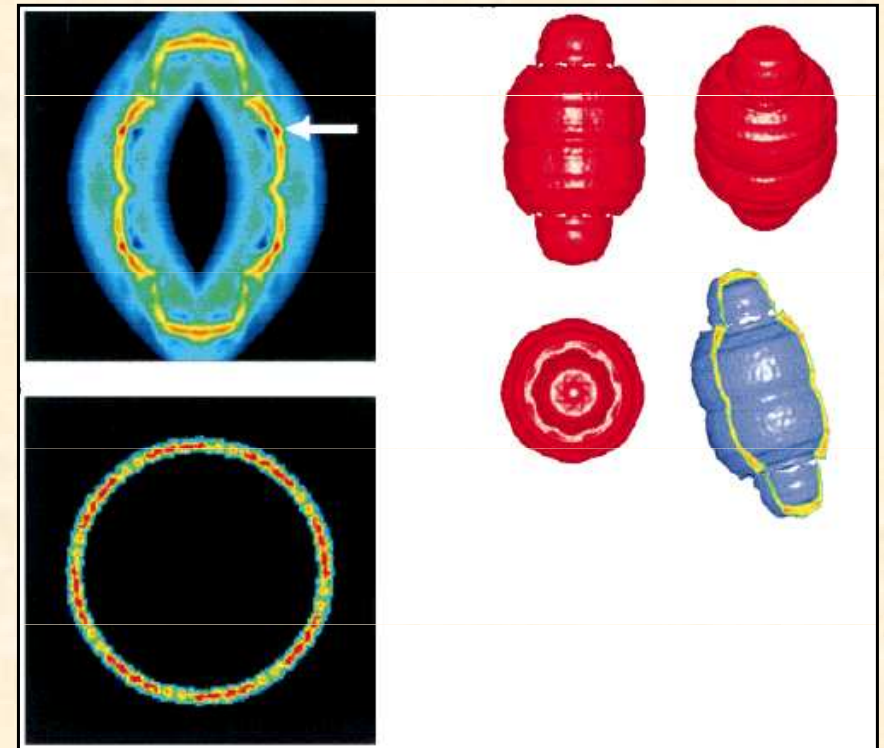
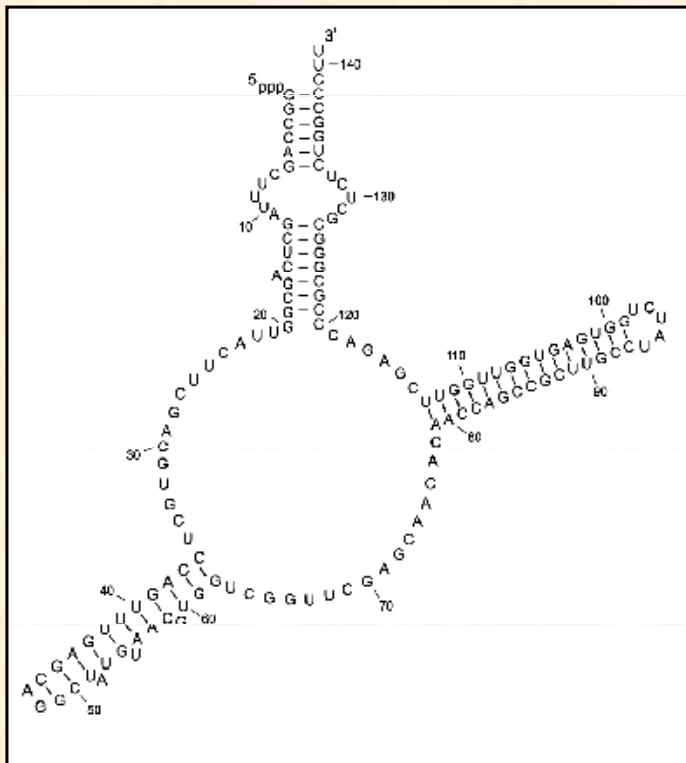
8. Telomeráza

- problém replikace konců lineární DNA u eukaryot - RNP komplexy
- RNA složka jako templát pro syntézu telomerických repeticí
- RNA složka tvoří terciální strukturu, účast v katalýze nejasná
- nepřítomna u prokaryot, cirkulární genomy
- mutace telomerické RNA vede k prodlužování telomer
- homologie s reverzní transkriptázou
- starobylé RNA genomy byly lineární --> podpora hypotézy genomových značek



9. Vault RNA

- přilepena na povrchu jaderné membrány a asociována s komplexem jaderných pórů
- funkce neznámá, spíše funkční než strukturní (exp. odstranění RNA)
- souvisí s rezistencí rakovinných buněk k léčivům
- obsahuje RNA, sekvence konzervativní
- tvoří značku pro transport NK z jádra a do jádra
- v RNA světě existovala proto-jádro a proto-plazma, aby separovaly replikaci a transkripci, omezení šumu



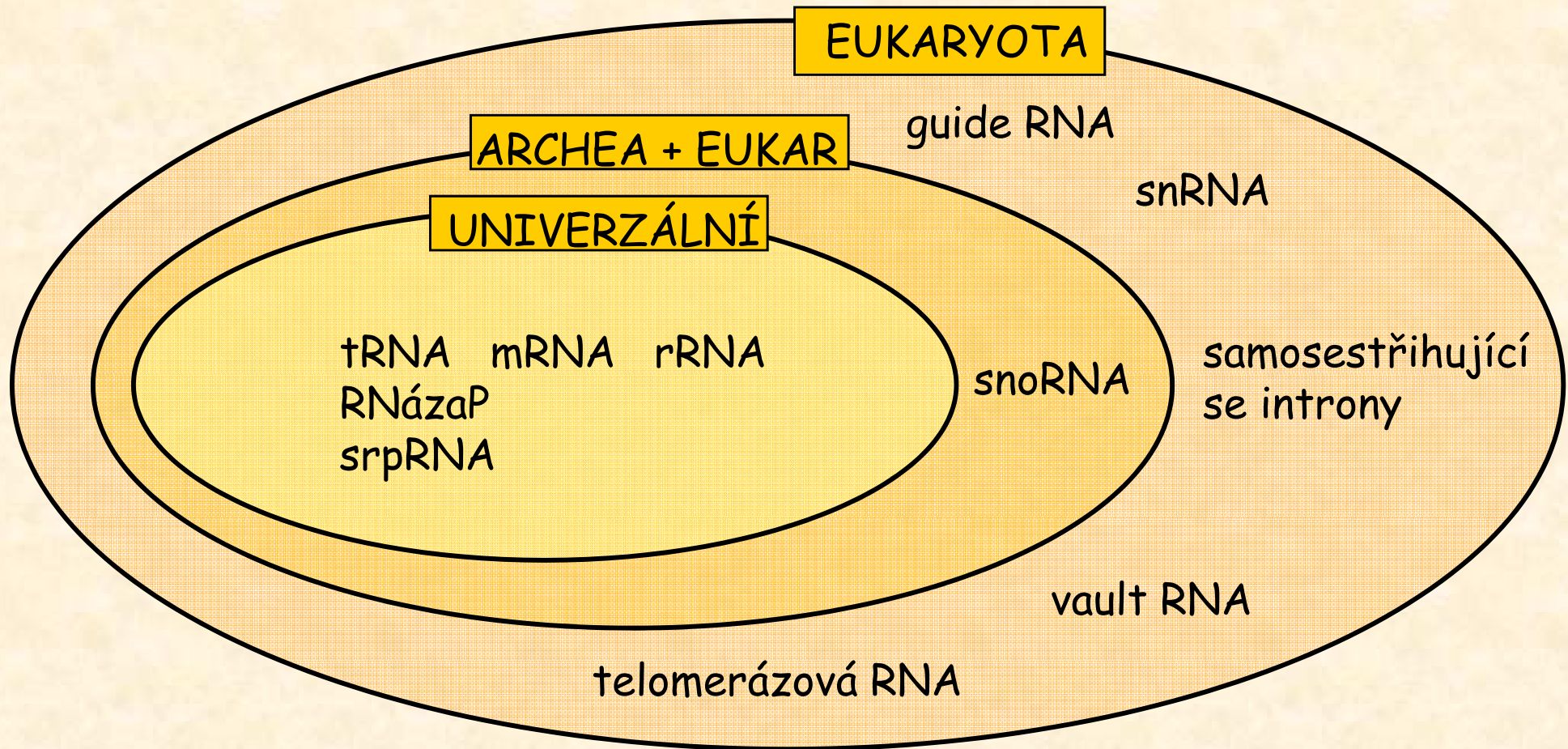
Provázanost ribozymů



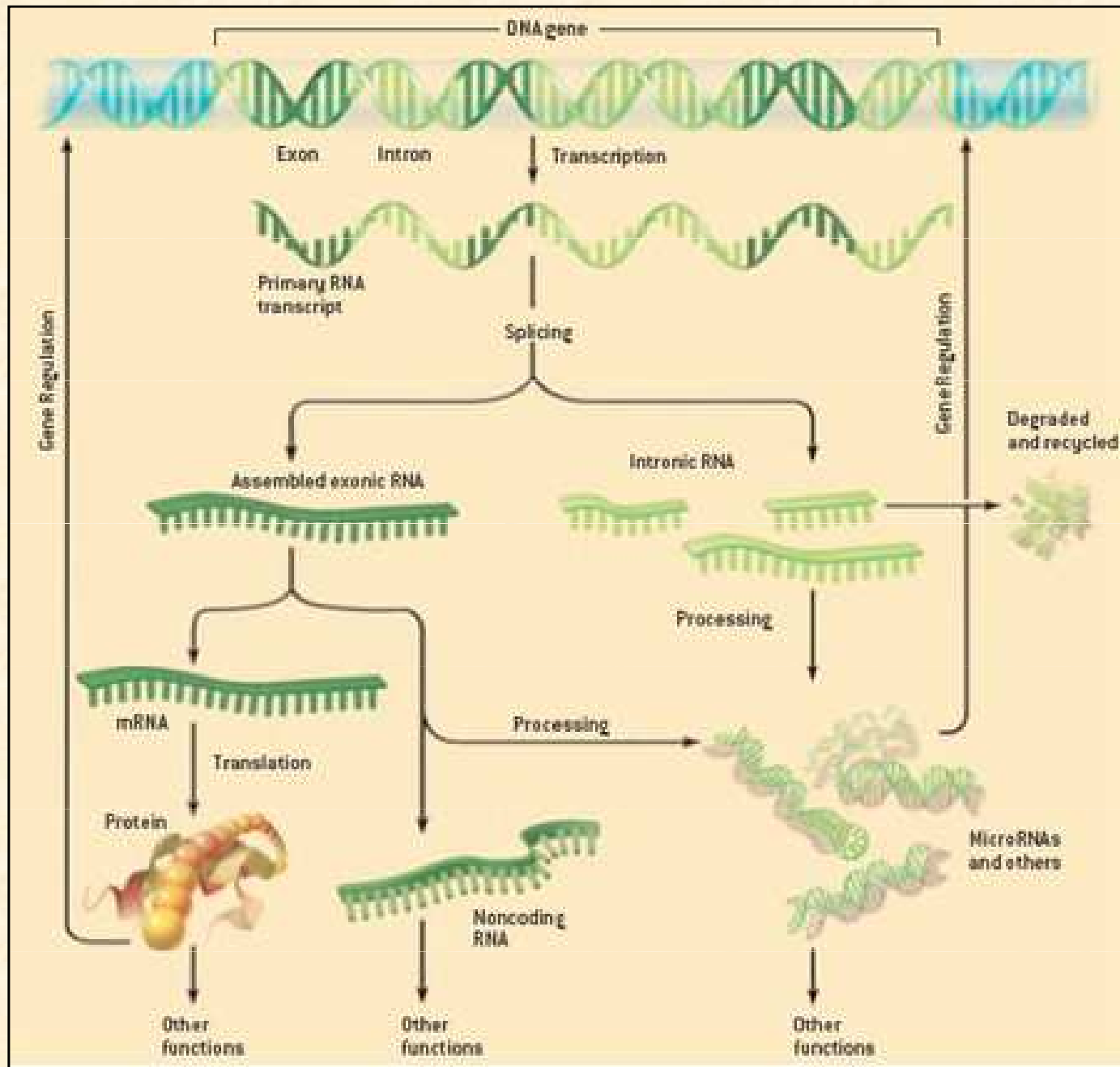
snRNA jsou potřeba pro sestřih snoRNA, které se nacházejí v intronech jiných genů

snoRNA jsou potřeba pro sestřih rRNA

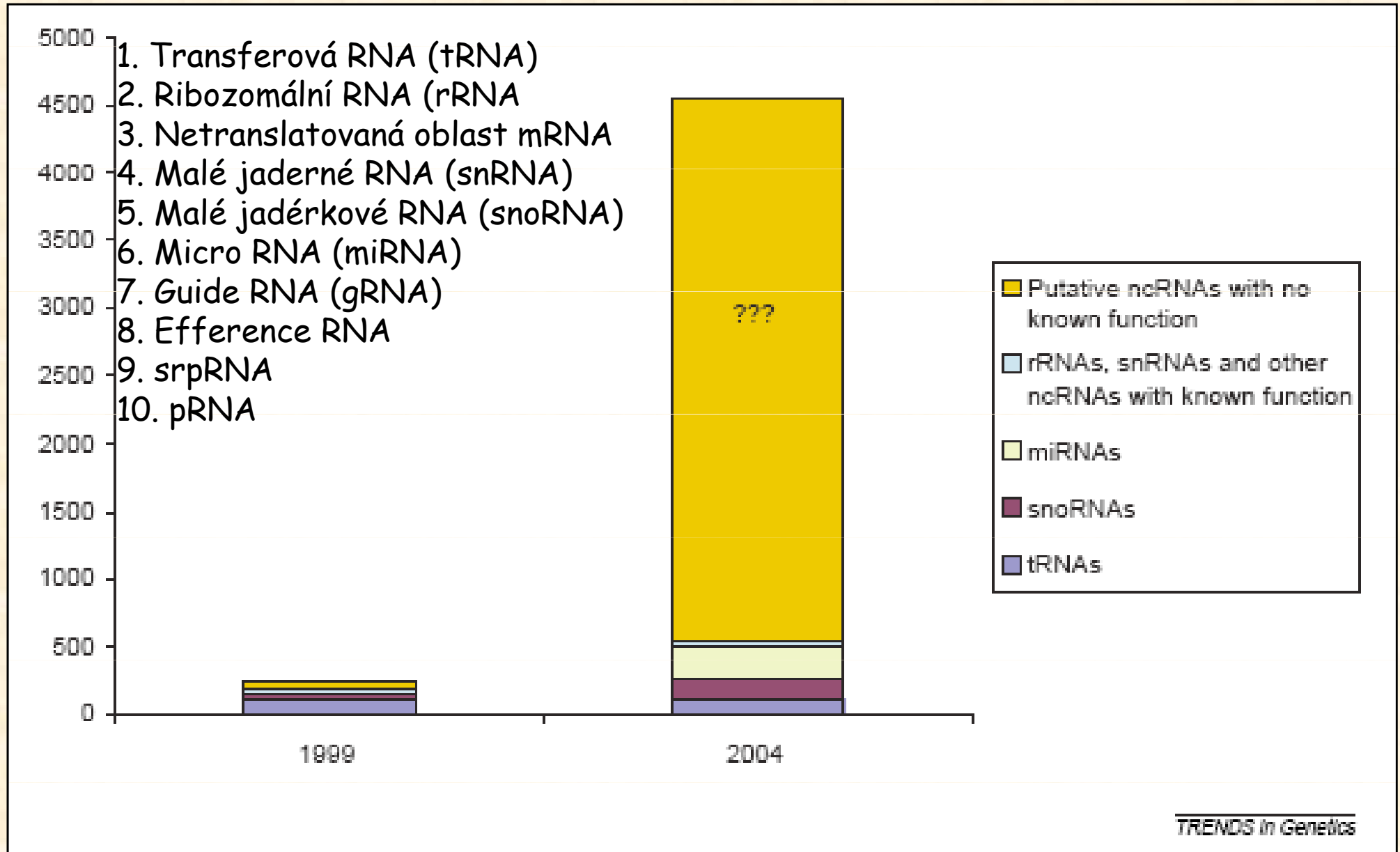
Fylogenetický výskyt fosilních RNA



Nekódující RNA: důležité regulační funkce

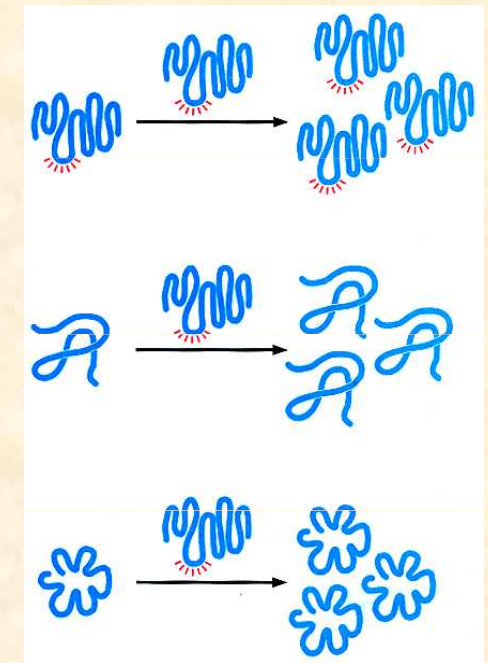
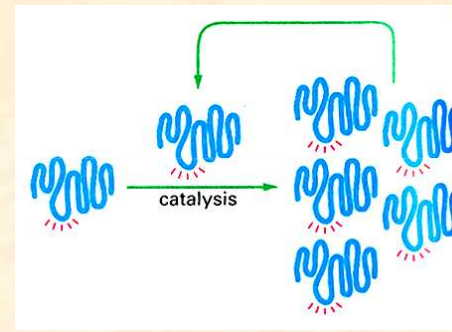


Nekódující RNA



První RNA replikáza

Molekula RNA, která katalyzuje svou vlastní replikaci



Nutné předpoklady:

- RNA dependentní RNA polymerasa
- Autoreplikace
- Syntéza potomstva musí být rychlejší než degradace rodičů
- Dostatečná přesnost, ale ne absolutní (možnost evoluce)

Molekula RNA je schopná splnit všechny podmínky

- chemismus podobný aktivitě ribozymů (intronů) I. skupiny
 - experimentálně ověřeno

Vznik první RNA replikasy -
jeden z nejslabších článků teorie RNA světa

První protein: RNA-dependentní RNA polymeráza (RNA replikáza)

RNA → RNP → protein

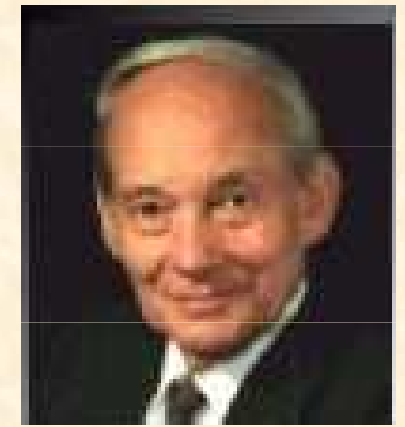
Proteiny zvýšily účinnost ribozymů

- první geneticky kódovaný protein vznikl náhodou
- krátký peptid strukturně jednoduchý
- interagoval s RNA replikonem, zvyšoval jeho stabilitu či zlepšoval konformaci
- syntéza potomstva musí být **rychlejší** než degradace rodičů
- dostatečná **přesnost**, ale ne absolutní (možnost evoluce)

RNA polymeráza → Reverzní transkriptáza

**PRVNÍ RNA ORGANIZMUS,
VIRY,
PŮVOD PROKARYOT**

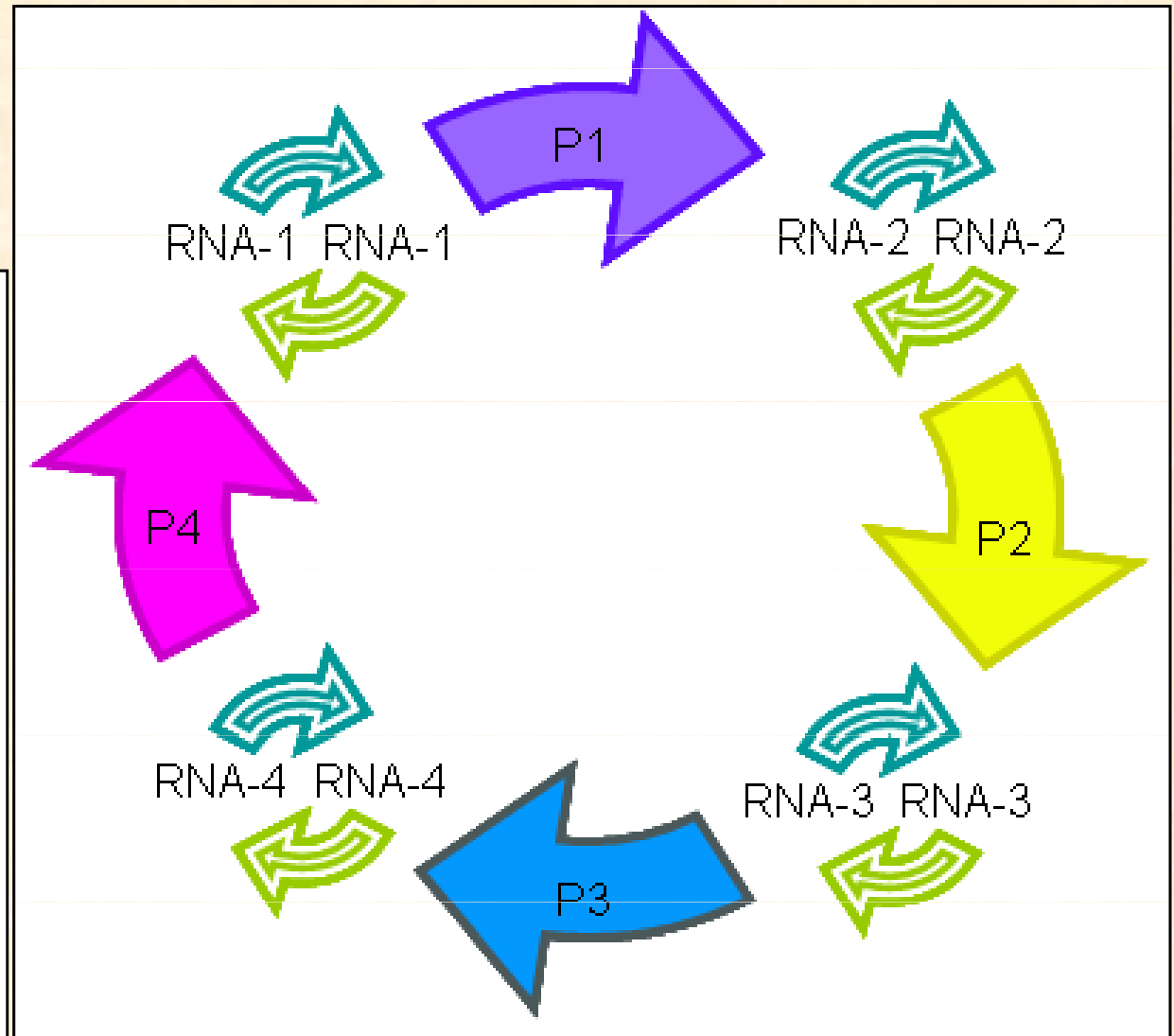
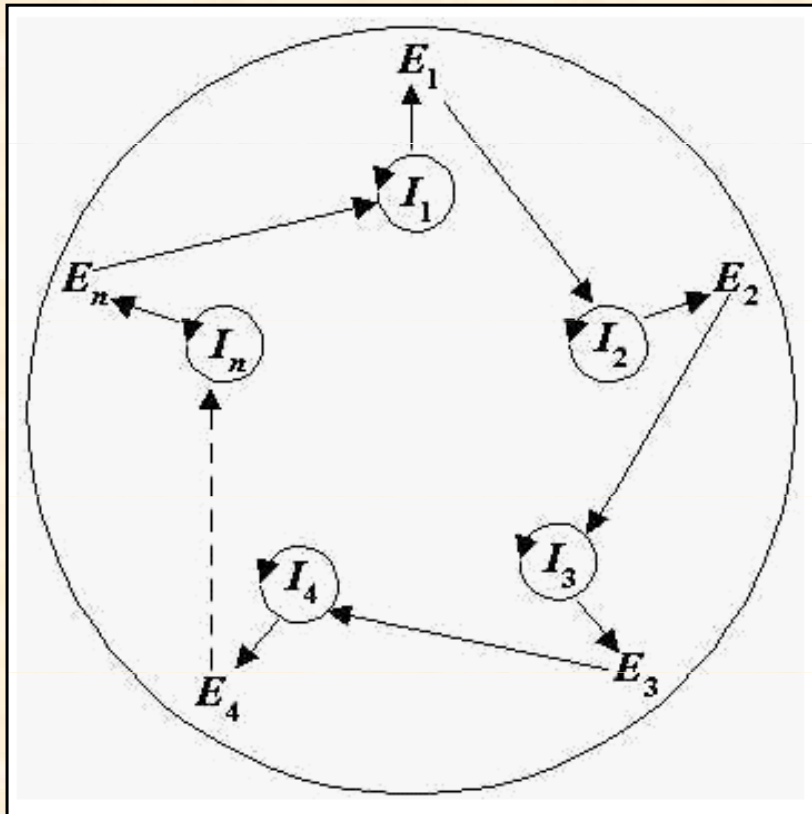
Hypercykly (M. Eigen)



Kolokalizace a koevoluce,
holá RNA na povrchu
minerálů

Původně jeden člen -
duplikace a mutace - dva
členy ...

semipermeabilní **membrána**
(pak až přechod k proteinům)



Eigenův limit: replikační přesnost je limitujícím faktorem

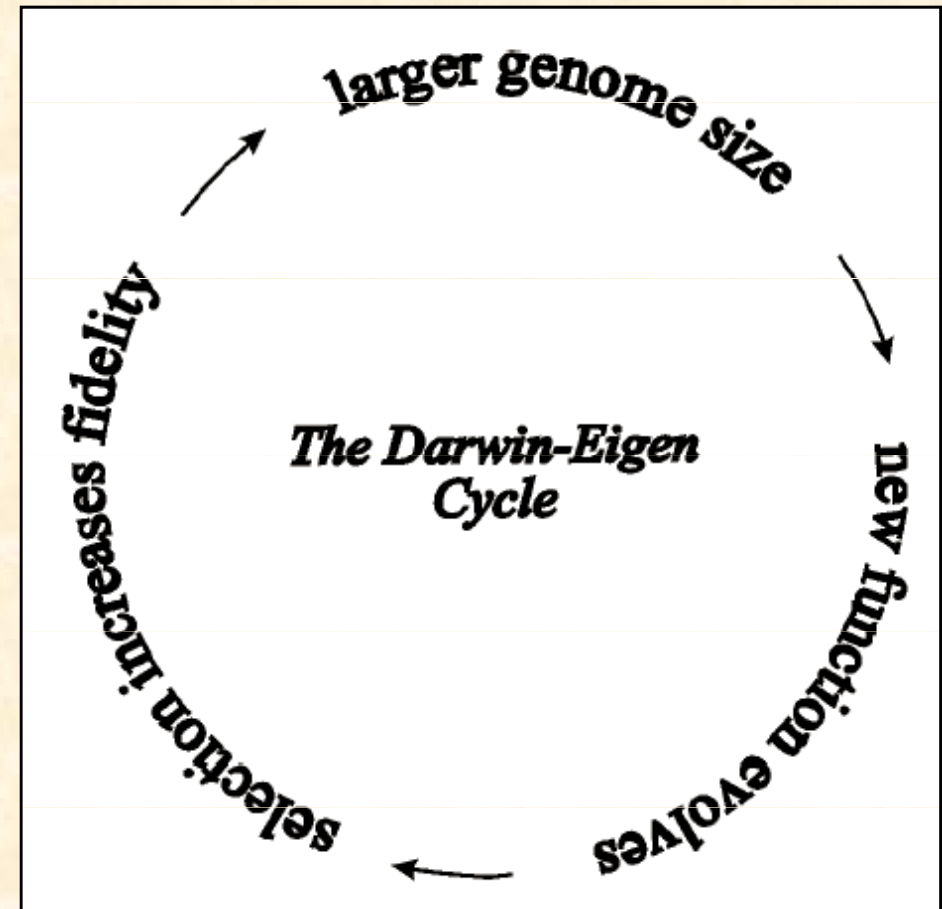
(Eigen, 1992)

- **Definice:**

Čím je vyšší frekvence chyb při replikaci, tím menší genom může projít do další generace

- **Omezení katastrofických dopadů chyb replikace:**

- více kopií (ploidie)
- rekombinace
- fragmentace genomu do chromosomů



První RNA organizmus kódující proteiny: *Riborgis eigensis*

(Jeffares 1998)

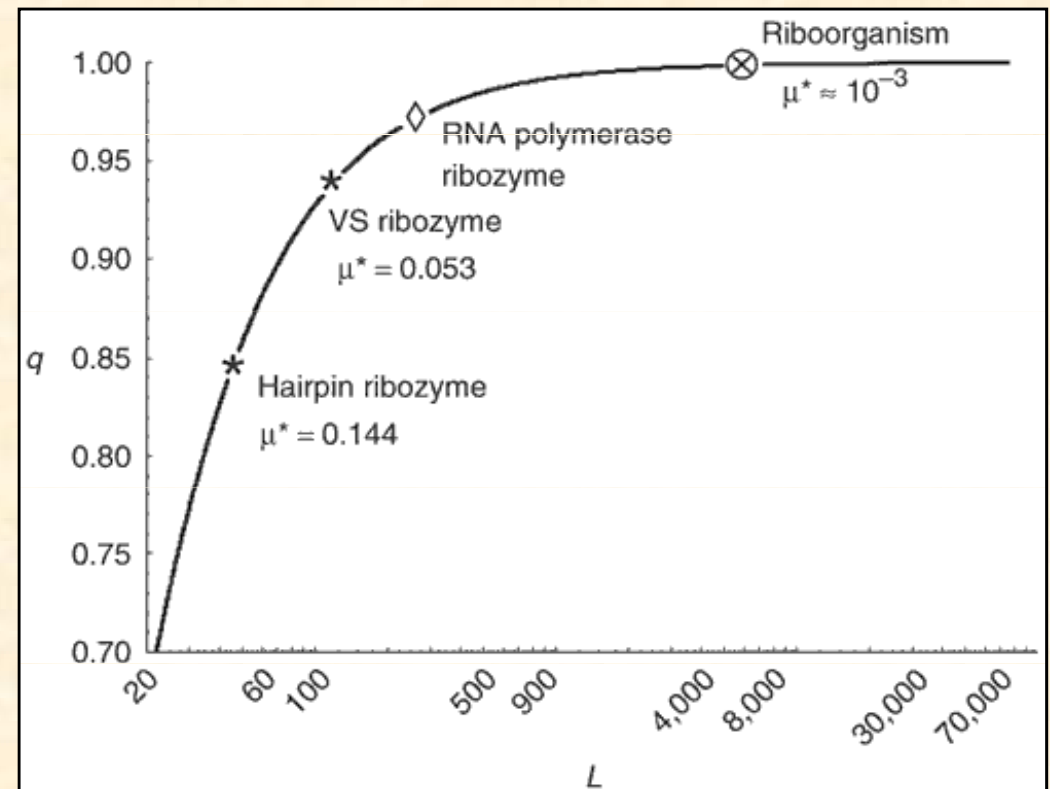
První RNA genomy replikované RNA polymerázami - kódovaly 1 peptidový řetězec

Množství chyb → populace lišících se molekul RNA → koreplikace vzájemně výhodných lineárních molekul kódujících:

- replikázu
- ochranný plášťový protein
- konformační podjednotku.

Vznik fragmentovaných interagujících genomů (podobnost struktury eukaryontního genomu - původní, prokaryota odvozená)

R. eigensis ~ 15kb genom



Dnešní viry: Funkční relikty časných replikonů?

Pohled na viry:

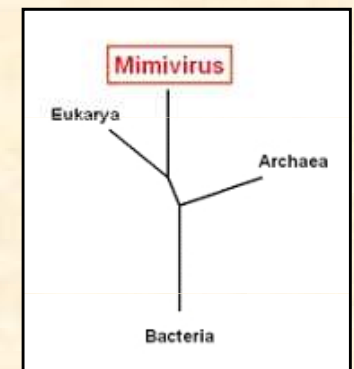
- molekulární paraziti, **odvození** v důsledku způsobu života
- **primitivní**, na hranici života podobně jako časné replikátory
- funkční relikty x funkční modely RNA-proteinových replikonů

RNA viry:

- minimální kódující kapacita
- některé viry střídají fáze RNA a DNA - reminiscence RNA→DNA přechodu
- primerem replikace je tRNA

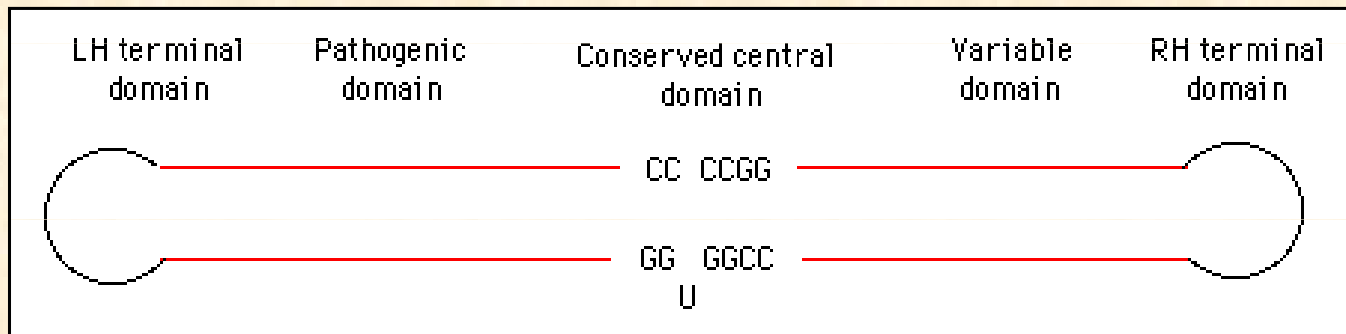
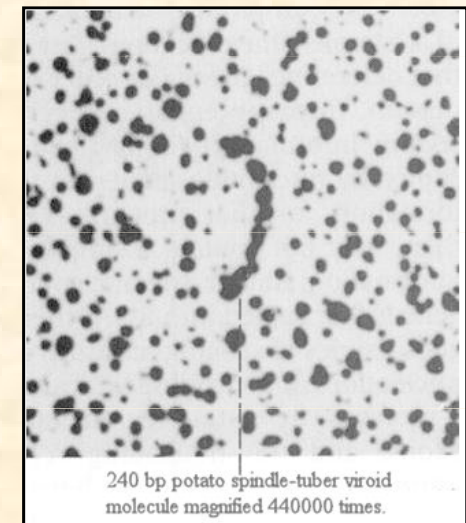
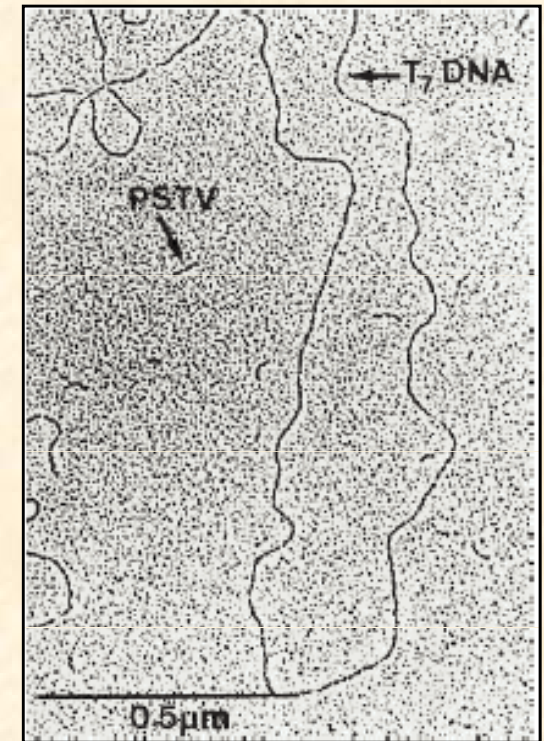
Mimiviry - hranice života:

- velikost genomu srovnatelná s prokaryoty (1.2Mb)
- metabolické geny (911 genů pro proteiny)
- 10% repetitivní DNA
- jen částečná závislost na hostiteli (proteosyntéza)



Viroidy: nejpodobnější časným replikonům

- patogeny rostlin
- 200 až 10 000 kopií na buňku
- malé RNA genomy (240-400 b), ssRNA, cirkulární,
- nekódují proteiny - jako replikony éry před proteiny
- replikovány hostitelskými RNA polymerázami
- rolling-circle mechanismus
- multimery štěpené autokatalytickými **ribozymovými** sekvencemi
- intenzivní **vnitřní párování bází** jejich genomické sekvence
- tvorba sekundárních struktur stabilizujících genomy

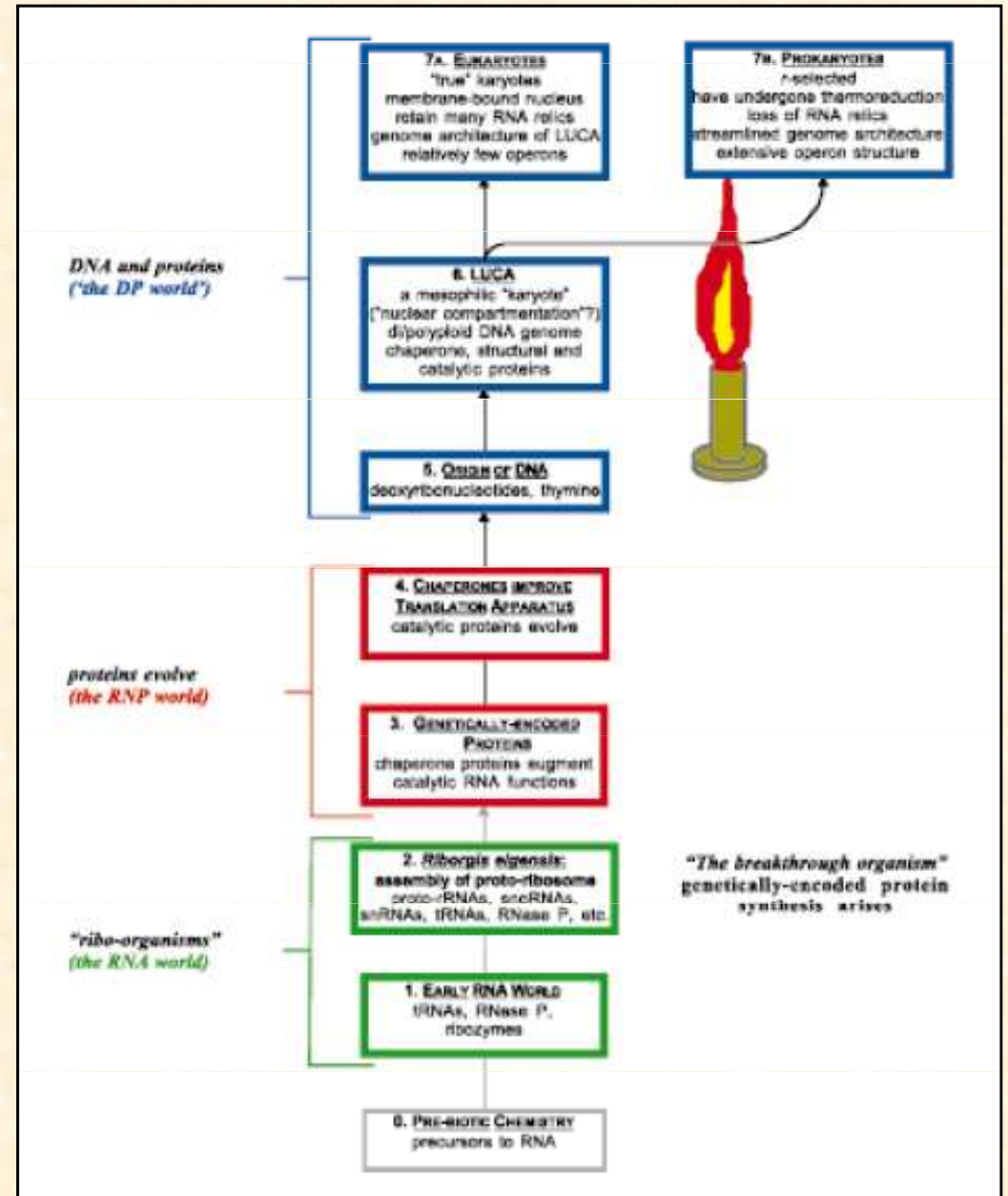


Svět RNA podporuje představu starobylosti eukaryot

1. Mnoho reliktnů světa RNA u eukaryot (snRNA, snoRNA, gRNA, telomeráza), jen některé také u prokaryot (RNázaP, tRNA), proč by účinnější proteiny byly nahrazeny molekulami RNA
2. Posttranskripční úpravy mRNA a rRNA jsou rychlé a účinné u prokaryot
3. Neexistuje selekční výhoda pro moderní vznik sestřihu a spliceosomu u eukaryot, složitější struktura, mRNA za 1hod místo za 1 minutu
4. Eukaryotické telomerázy jsou starobylé struktury, homologie s RT

Původ prokaryot a hypotéza „termoredukce“

- v evoluci prokaryot bylo stádium termofilních organizmů
- malá stabilita RNA při teplotách nad 50°C
- časové i prostorové oddělení transkripce a translace nevýhodné - degradace RNA
- odstraněním intronů odpadl náročný sestřih
- malé RNA vymizely nebo nahrazeny stabilnějšími proteiny



Genomy prokaryot jsou mladší a odvozené

Derivation of the Prokaryotes

	<i>Riborgis eigensis</i>	LUCA	Eukary- otes	Prokary- otes
DNA genome	—	+	+	+
Diploid or polyploid	+	+	+	—
Telomerase RNA	+	+	+	—
Linear Genome	+	+	+	—
rRNA processing by snoRNA	+	+	+	—
mRNA processing by snRNA ^a	+	+	+	—
tRNA processing by RNase P	+	+	+	+
Coupled rRNA transcription & processing	—	—	—	+
Coupled transcription & translation	—	—	—	+
Genome-encoded CCA tail ^b	—	—	—	+

Genomy prokaryot jsou mladší a odvozené

PŮVODNÍ GENOM

- lineární
- fragmentovaný
- introny obsahující
- RNA molekuly potřebné pro úpravy RNA

EUKARYOTA

ODVOZENÝ GENOM

- cirkulární
- jedna molekula
- operony obsahující
- mnohé RNA nahrazeny proteiny

PROKARYOTA

Mechanismus přechodu LIN → CIRK genomů na modelu retrovirů:

- transkripce retroviru spolu s genem a přepsání do DNA a cirkularizace
- množství cirkulárních molekul s různými geny, jejich rekombinace a zvětšování
- selekční zvýhodnění cirkulárních molekul (termostabilita a rychlejší replikace)