

NOVÁ MOLEKULA ŽIVOTA?

Peptidová nukleová kyselina, syntetický hybrid proteinu a DNA, by mohla tvořit základ nové třídy léků – a umělého života odlišného od toho, který nacházíme v přírodě.

Peter E. Nielsen

HLAVNÍ MYŠLENKY

- Syntetická molekula, zvaná peptidová nukleová kyselina (PNA), spojuje schopnost DNA ukládat informace s chemickou stálostí kostry podobné proteinu.
- Léky založené na PNA by dosahovaly terapeutických účinků tak, že by se vážaly na specifické sekvence bází DNA nebo RNA a potlačovaly by nebo podporovaly odpovídající gen.
- Někteří výzkumníci pracující na vytvoření umělých forem života ze směsí chemikálií také uvažují o PNA jako užitečné složce pro své návrhy.
- Molekuly podobné PNA mohly sloužit jako prvotní genetický materiál na Zemi.

– Redakce

Pro všechnu úchvatnou rozmanitost života na této planetě, sahající od drobných bakterií až k majestátním modrým velrybám, od rostlin využívajících sluneční světlo až k endolitům, které se živí minerály v hloubce několika kilometrů pod zemským povrchem, existuje jen jeden druh „známého života“. Všechny tyto organismy jsou založeny na nukleových kyselinách – DNA a RNA – a proteinech, které více či méně spolupracují, jak to popisuje ústřední dogma molekulární biologie: v DNA je uložena informace, která se přepisuje do RNA, která poté slouží jako vzor pro výrobu proteinu. Proteiny naopak slouží jako důležité strukturní prvky v tkáních a jako enzymy jsou i tažnými koňmi buňky.

Vědci však sní o syntéze života, který je tomuto světu zcela cizí – jednak proto, aby lépe pochopili, jaké minimum složek život existuje (jako část otázky po podstatě života a vzniku života na Zemi) a, upřímně řečeno, také proto, aby prostě zjistili, zda to dokážou. Doufají tedy, že se jim podaří dát dohromady novou kombinaci molekul, která se bude umět sama organizovat, bude metabolizovat (využívat zdroj energie), růst, reprodukovat se a vyvíjet se.

Molekulou, kterou někteří badatelé studují právě s touto vizí, je peptido-nukleová kyselina

(PNA), která imituje schopnost DNA a RNA ukládat informaci, ale je postavena na proteinu podobné kostře, která je jednodušší a odolnější než jejich cukr-fosfátové kostry. Moje skupina vyvinula PNA před více než 15 lety v rámci projektu s poněkud bezprostředně užitečnějším cílem než vytvoření nových forem života. Snažili jsme se navrhnout léky, které by působily na DNA obsahující specifické geny a blokovaly by či posilovaly expresi genu (tvorbu proteinu, který je tímto genem kódován). Takové léky by byly koncepčně podobné antisense látkám, jako jsou krátké úseky DNA nebo RNA, které se vážou na specifickou sekvenci RNA s cílem narušit tvorbu proteinu spojených s nemocí [*viz Hitting The Genetic Off Switch*, Gary Stix, Scientific American, říjen 2004].

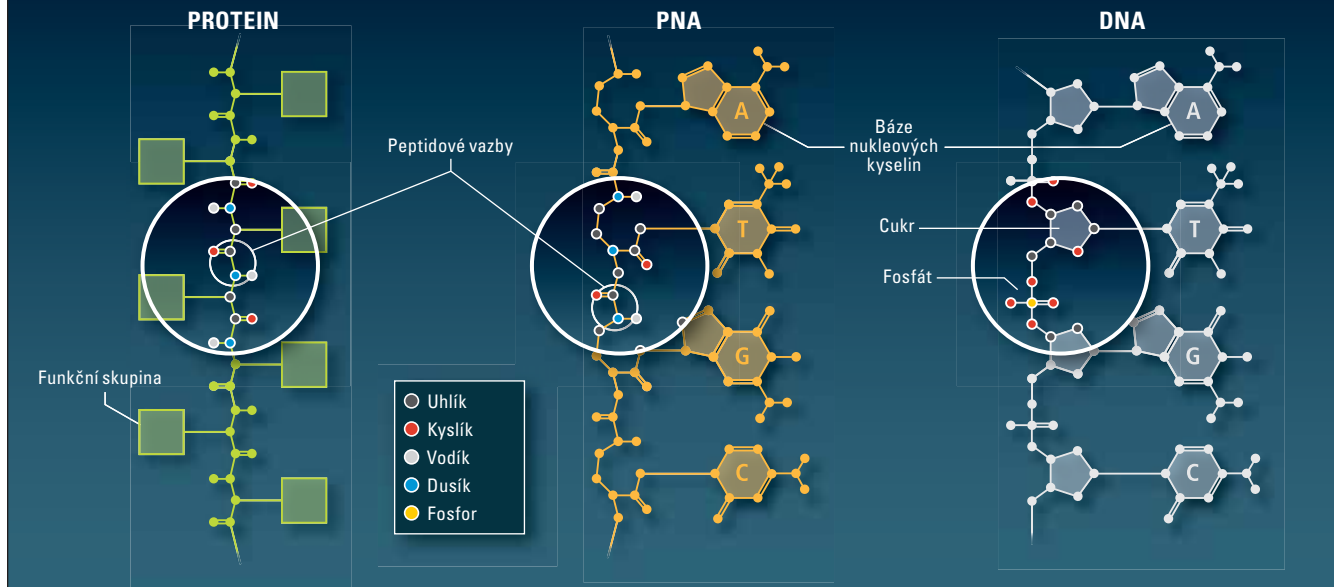
Unikátní vlastnosti PNA jí dávají několik výhod oproti antisense DNA a RNA včetně větší různorodosti ve vazbě na DNA i na RNA, silnější vazbě na svůj cíl a větší chemické stability v buněčném prostředí nabitým enzymy. Mnoho studií prokázalo schopnost PNA modifikovat exprese genů, většinou v molekulárních testech ve zkumavce a v buněčných kulturách. Začaly studie na zvířatech a rovněž výzkum, jehož cílem je přeměnit PNA na léky, které by mohly snadno vstupovat do buněk pacienta z krevního řečiště.



PEPTIDOVÁ NUKLEOVÁ KYSELINA (zlatě) ochotně vstupuje do hlavního žlábků DNA a vytváří s ní společné trojvláknové a jiné struktury, čímž jí umožňuje modifikovat aktivitu jejích genů novými způsoby.

PNA: HYBRID PROTEINU A DNA

Peptidová nukleová kyselina (PNA) spojuje vlastnosti proteinu a DNA. Kostra DNA se skládá z poměrně jednoduchých jednotek spojených pevnými peptidovými vazbami (*rámček*) jako v proteinu – na rozdíl od méně stabilní a záporně nabitě cukr-fosfátové kostry DNA. Každá jednotka DNA nese bázi nukleové kyseliny, stejně jako v řetězci DNA.



Vedle podnětných stimulů pro lékařský výzkum tyto podivuhodné molekuly inspirovaly úvahy o počátku života na Zemi. Někteří vědci navrhuji, že PNA nebo podobná molekula mohla vytvořit ranou fázi života před tím, než se vyvinuly proteiny, DNA a RNA. Je možné, že místo vytvoření nové formy života výzkumníci umělého života znovu vytvoří naše nejdávnější předky.

Do zlábků

Příběh objevu PNA začíná na počátku 90. let. Za účelem vytvoření léků s širšími schopnostmi, než má antisense RNA, jsem chtěl se svými kolegy vyvinout malé molekuly schopné rozpoznat dvouvláknovou neboli duplexní DNA s určitou sekvencí bází. Šlo o poměrně náročnou úlohu. Její obtížnost souvisela se známou strukturou dvojšroubovice DNA.

Jsou to právě báze DNA, v nichž je uložena informace – thymin (T), adenin (A), cytosin (C) a guanin (G). (V RNA je místo thyminu přítomen velmi podobný uracil – U.) Páry těchto bází spojených vodíkovými vazbami vytvářejí „stupínky“ známého „žebříku“ DNA. C se váže s G a A se váže s T do struktury zvané Watsonovo-Crickovo párování. Sloučenina, která se váže k úseku dvojvláknové DNA s určitou charakteristickou sekvencí bází, by proto měla být lát-

kou, která působí na jakýkoli gen obsahující v jednom ze svých řetězců tuto určitou sekvenci bází.

Požadavek rozpoznávání je poměrně skromný, pokud má sloučenina najít určitou sekvenci bází na *jednovláknové* DNA nebo na RNA. Pokud mají dvě nukleové kyseliny komplementární sekvenci, spárují se podle komplementarity bází jako uzavírající se zip. Pokud tedy známe sekvenci genu – například z Projektu lidského genomu, je vytvoření molekuly, která se na úsek tohoto genu váže, stejně snadné, jako syntéza komplementárního řetězce.

U dvojvláknové DNA je však požadavek na rozpoznání sekvence daleko větší výzvou, neboť atomy zodpovědné za Watsonovo-Crickovo párování jsou už zapojeny ve vodíkových vazbách, které spojují obě vlákna dohromady, a tak nejsou dostupné pro vazbu s další molekulou. Navíc buňky obsahují četné takzvané genové regulační proteiny, které rozpoznávají sekvence v dvojvláknových DNA, aby mohly řídit expresi genů. Takto mohou svého cíle dosáhnout. Pokud by mohla moje skupina nalézt molekuly schopné tuto úlohu splnit, mohly by potenciálně sloužit jako léky schopné regulovat geny.

Genová exprese se odehrává ve dvou stadiích. Prvním z nich je transkripce, kdy enzym vytváří informační RNA (mRNA; *messenger* RNA), což

[AUTOR]



Peter E. Nielsen vede Centrum biomolekulárního rozpoznávání na katedře buněčné a molekulární medicíny na Kodaňské univerzitě, kde začal pracovat v roce 1980, kdy získal svůj doktorát. Kromě toho, že je jedním z objevitelů peptidové nukleové kyseliny, je spoluzakladatelem dvou biotechnologických společností v Dánsku (Pantheoco a PNA Diagnostics, které nyní patří k firmám Santaris a Applied Biosystems) za účelem vývoje aplikací molekuly, a má více než 20 patentů a patentových přihlášek.

je vlákno RNA s kopií sekvence bází jednoho z vláken dvojšroubovice DNA. Molekulární stroj, známý jako ribosom, sám vytvořený z RNA a proteinu, zajistí druhé stadium – překlad (translaci) mRNA do proteinu kódovaného genem. Antisense agens narušují translaci tak, že se vážou na mRNA. Tyto sloučeniny jsou obvykle malé, chemicky upravené molekuly RNA nebo DNA, navržené s vhodnou sekvencí pro identifikaci svého mRNA-cíle s pomocí Watsonova-Crickova párování. Vazbou na svou mRNA mohou zahájit činnost enzymů odbourávajících RNA, nebo jen prostě fyzicky narušují fungování mRNA.

Buňky využívají proteiny zvané transkripční faktory, které rozpoznávají specifické sekvence v dvojlátkové DNA, při kontrole genové exprese ve stadiu transkripce. Tyto proteiny mohou potlačit gen tak, že zabrání v přístupu RNA-polymeráze, která by jinak přepisovala sekvenci DNA do mRNA, nebo mohou aktivovat gen tak, že pomohou RNA-polymeráze navázat se na DNA a započít transkripci.

Ačkoli tyto proteiny nabízejí model molekul schopných „číst“ sekvenci DNA z vnějšku šroubovice, na počátku 90. let nebylo ještě pro biochemiky možné, aby začali s nějakou sekvencí a navrhli protein tak, aby ji rozpoznával. Genově-regulační protein rozpoznává svou DNA-sequenci podle jejího celkově správného tvaru a chemického složení na jejím povrchu, takže se může k sekvenci navázat v takzvaném hlavním žlábků DNA, což poskytne přístup k párům bází, které jsou rozloženy podél centra dvojité šroubovice. Struktura aktivního povrchu proteinu však závisí na tom, jak jsou jeho aminokyseliny poskládány – tento proces vědci nedokážou modelovat s jakoukoli přijatelnou přesností.

Od té doby bylo dosaženo určitého pokroku; jako vodítka posloužily genově regulační proteiny, které obsahují domény zvané zinkové prsty – úseky o délce zhruba 30 aminokyselin, které se skládají okolo zinečnatého iontu a vytvářejí klasickou „prstovou“ strukturu, kterou lze najít v hlavním žlábků s několika aminokyselinami připojenými k bázím DNA. Výzkumníci vyvinuli umělé proteiny se zinkovými prsty, ale obecně je stále obtížné naprogramovat sekvenci aminokyselin tak, aby se hodila i k poměrně krátkému úseku DNA.

Jiný přístup poskytuje objev z roku 1957, pouhé čtyři roky po objevu dvojšroubovice DNA. V onom roce Gary Felsenfeld, Alexander Rich a Davies, tehdy všichni z Národního ústavu duševního zdraví vytvořili struktury trojitě šroubo-

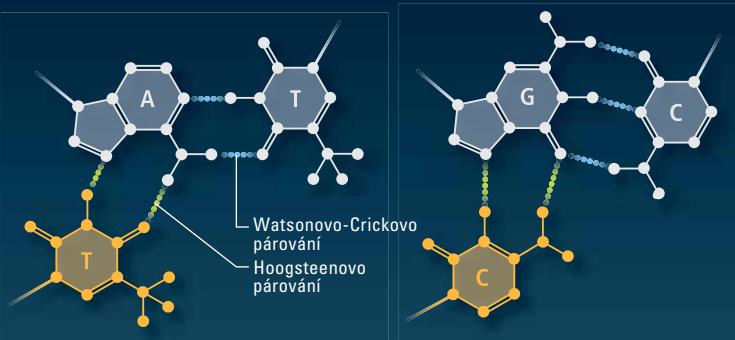
[JAK SE PNA VÁŽE]

ROZPOZNÁVÁNÍ DNA

PNA se váže k DNA a RNA jak Watsonovým-Crickovým párováním komplementárních bází (jak se vyskytuje v běžných dvojšroubovicích DNA), tak takzvaným Hoogsteenovým párováním, které PNA umožňuje vytvořit řadu struktur a působit v buňce různými způsoby jako lék.

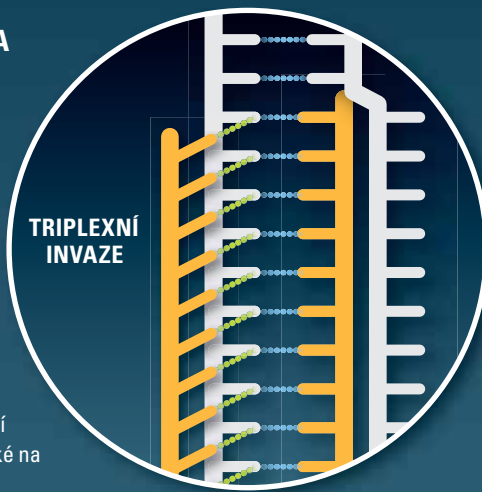
PÁROVÁNÍ BÁZÍ

Watsonovo-Crickovo párování (*modré vazby*) spojuje komplementární báze A a T (*vlevo*) a G a C (*vpravo*). Hoogsteenovo párování (*zelené vazby*) umožňuje připojení dalšího T (*oranžově, vlevo*) k páru A-T nebo připojení C (*s přidaným vodíkem*) k páru C-G.



STRUKTURY PNA-DNA

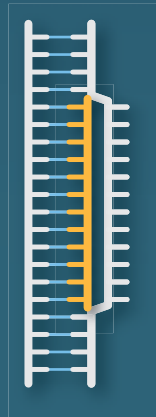
Zvláště zajímavou strukturou, která má řadu potenciálně užitečných biologických účinků v buňkách, je takzvaná triplexová invaze (*vpravo*), v které dvě vlákna PNA (*oranžově*) vytěsňují jedno vlákno dvojlátkové DNA a vytvářejí s jeho partnerským vláknem trojlátkovou strukturu (triplex). Další struktury uvedené níže zahrnují základní triplex PNA-DNA, ukázaný také na straně 35.



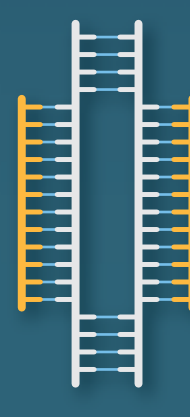
TRIPLEX



DUPLEXNÍ INVAZE



DVOJITÁ DUPLEXNÍ INVAZE

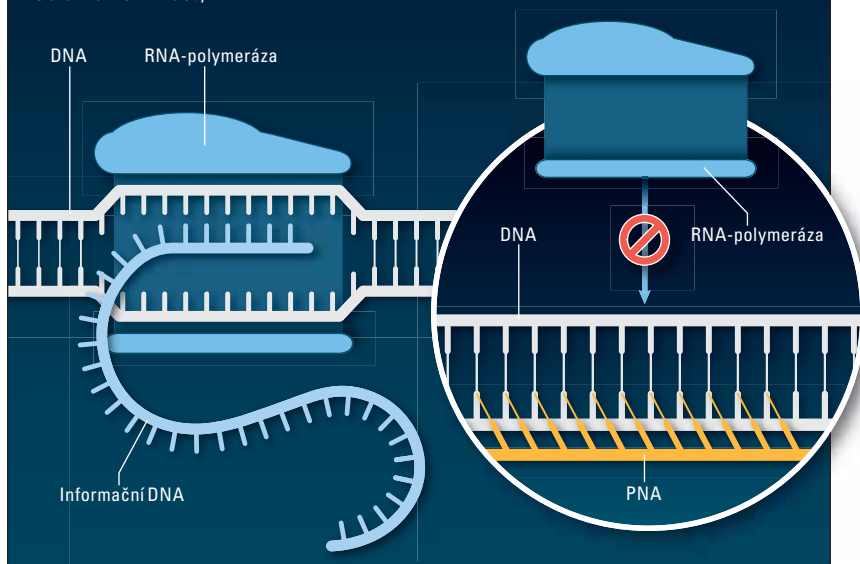


JAK PNA POMÁHÁ REGULOVAT GENY

Schopnost PNA vázat se na dvojlátkovou DNA stejně jako na RNA jí umožňuje několika způsoby ovlivňovat tvorbu proteinů kódovaných specifickými geny.

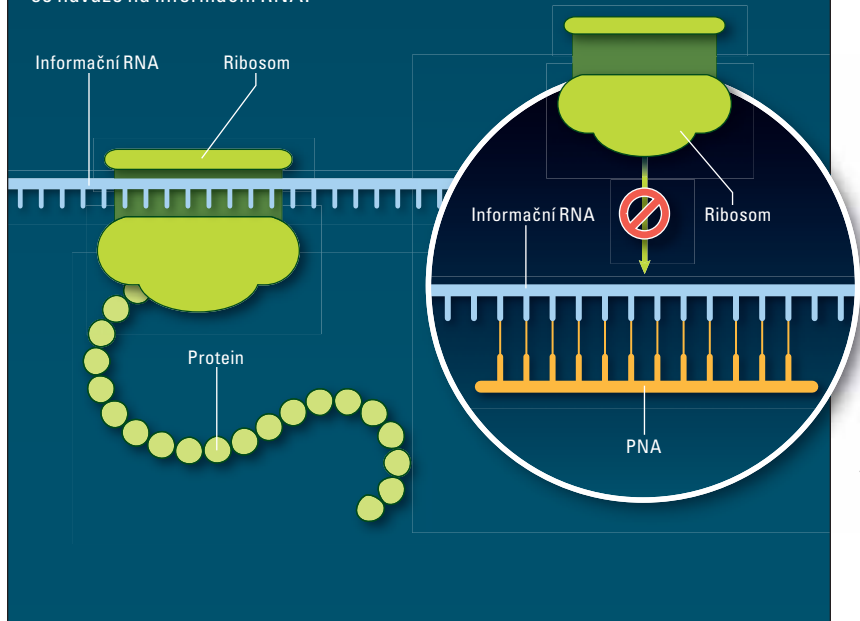
KONTROLA TRANSKRIPCE

Ve stadiu transkripce přepisuje enzym (RNA-polymeráza) informaci zakódovanou v molekule DNA do molekuly informační RNA (mRNA). PNA může tento proces blokovat tak, že se naváže na část genu, který se má přepisovat (*tento detail*). Druhou možností je to, že triplexová invaze PNA může zahájit transkripci tak, že vystaví příslušný úsek jednovláčkové DNA enzymům, které iniciují transkripci (*na obrázku není vidět*).



BLOKOVÁNÍ TRANSLACE

V druhém stadiu tvorby proteinu ribosom překládá sekvenci informační RNA do sekvence aminokyselin, a tak utváří protein. PNA může toto stadium narušit tak, že se naváže na informační RNA.



více, v kterých se řetězec nukleové kyseliny váže sám na sebe v hlavním žlábkou dvojšroubovice molekuly nukleové kyseliny. Dodatečné vlákno využívá odlišný druh vazby párů bází T-A a C-G zvaný Hoogsteenovo párování, podle Karsta Hoogsteena [viz rámeček na předchozí straně]. Každá pozice podél trojvlákna tak má trojici bází, kde se T váže k páru A-T (T-A=T, kde „=“ značí Hoogsteenovo párování) nebo se C váže k jednotce C-G (C-G=C). tato struktura však může vzniknout jen tehdy, když je dodateční vlákno homopyridinové povahy, tedy když je tvořeno celé jen C a T (nebo U v RNA), neboť každý Hoogsteenův pár vyžaduje v řetězci dvojité šroubovice G nebo A.

V roce 1987 Claude Hélène, později působící v Národním muzeu přírodní historie v Paříži, a Peter B. Dervan z Kalifornského technologického institutu nezávisle ukázali, že by se trojitá šroubovice dala opravdu využít k navrhování oligonukleotidů (úseků DNA o délce asi 15 nukleotidů), které čtou sekvenci dvojlátkové DNA a vážou se ke svému Hoogsteenovskému komplementárnímu cíli.

Překvapivá invaze

Pod vlivem tohoto digitálního výstupu dvojšroubovice DNA žlábkovou vazbou se moje skupina pustila do syntézy molekuly, která by mohla odvést stejnou práci při menším počtu omezení. Zvláště jsme doufali, že nalezneme molekulu, která by se neomezovala na rozpoznávání sekvencí tvořených výhradně G a A. Chtěli jsme také, aby naše molekula byla neutrální. Kostra nukleových kyselin obsahuje fosfátové skupiny, které v roztoku nesou záporný náboj. Odpuzování způsobované těmito negativními náboji na všech třech kostrách oslabuje navázání třetího vlákna k triplexu.

Proto jsme se rozhodli založit svůj návrh na chemii amidů a zapojit stejný druh vazby, jaký spojuje aminokyseliny v proteinech. Propracované techniky, které využívají amidové neboli peptidové vazby, umožňují pohodlnou syntézu vysoce stabilních neutrálních molekul. Molekula peptidové nukleové kyseliny, s kterou jsme přišli, má peptidu podobnou kostru vytvořenou opakováním mnohem jednodušší jednotky než cukru a fosfátu v DNA a RNA. Každá jednotka k sobě může mít připojeny standardní báze nukleových kyselin (T, A, C nebo G), nebo báze, které byly upraveny pro speciální účely. Uspořádání bází podél vláken PNA je velmi podobné uspořádání v DNA a RNA a umožňuje krátkým úsekům PNA, neboli oligomerům PNA, utvářet velmi stabilní

dvojláknové struktury s vlákny DNA a RNA, stejně jako s dalším řetězcem PNA. Báze se poskládají při standardní Watsonově vazbě k sobě jako zip.

Když jsme se pokusili zasáhnout dvojšroubovicovou DNA molekulou homopyridin-PNA, k našemu překvapení se PNA do hlavního žlábků DNA nevázala. Místo toho jeden řetězec PNA pronikl do šroubovice, vytěsnil jedno z vláken DNA a utvořil Watson-Crickovské vazby s jeho komplementem, a druhý řetězec PNA vytvořil Hoogsteenovy vazby za vzniku triplexu PNA-DNA=PNA. Vytěsňený úsek DNA utvořil podél trojšroubovice jednovláknovou strukturu zvanou P-smyčka.

Tento vazebný modus invaze triplexu má několik velmi zajímavých biologických důsledků, neboť triplex má velkou stabilitu a P-smyčka ovlivňuje biologické procesy, jako je transkripce, translace DNA a oprava genů. P-smyčka může například navodit transkripci z DNA do RNA. Navíc, jednovláknová smyčka může být využita například při diagnóze genetických poruch – DNA ve vzorku musí být nejprve namnožena (mnohokrát kopírována), a smyčka může sloužit jako specifický přípojný bod pro kopírovací proces.

Vyskytují se i jiné způsoby vazby čili mody – v závislosti na cílové sekvenci DNA a na tom, jak upravíme báze PNA. Z těchto modů je zvláště zajímavá invaze dvojité šroubovice. V tomto modu připravíme dva pseudokomplementární oligomery PNA – to znamená, že jejich báze jsou dostatečně upraveny na to, aby bránily vytváření komplexu PNA-PNA, ale ne natolik, aby porušily své individuální vazby k běžnému komplementárnímu řetězci DNA. PNA jen proniká do dvojláknové DNA a vytváří dvě dvojšroubovice PNA-DNA. Na rozdíl od trojláknového uspořádání, které vyžaduje dlouhé úseky purinů (A a G) v cílové DNA, má vazebný modus invaze dvojité dvojšroubovice méně omezující požadavky na sekvenci bázi: se současnou technologií musí cílová sekvence obsahovat alespoň 50 % párů bázi A-T. I toto omezení by bylo zmírněno objemem vhodných modifikovatelných forem bázi G a C.

PNA se těmito způsoby váže ke komplementárním molekulám RNA nebo DNA s mnohem větší specifitou než k přírodní DNA. PNA-oligomery s připojenými fluorescenčními skupinami jsou velmi lákavé jako sondy k detekci určitých genů v diagnostických testech. Například takzvaná fluorescenční analýza s hybridizací *in situ* osvětluje pozice chromosomů, kde lze nalézt specifické sekvence.

PROVĚŘENÍ KONCEPTU

Řada pokusů ukázala, jak mohou oligomery PNA ovlivnit biologické procesy způsobem, který může být terapeuticky užitečný.

Skupina, kterou vede Peter M. Glaser na Yaleově univerzitě, ukázala na pokusech s živočišnými buňkami, že PNA tvořící triplexovou strukturu s DNA aktivovala opravu genu nesoucího mutaci odpovědnou za lidské krevní onemocnění zvané thalémie. Tento proces může být nakonec využit při léčbě nemocí způsobovaných mutací jediné báze nebo ztrátou malých úseků genu.

David R. Corey z Jihozápadního lékařského centra Texaské univerzity v Dallasu se svými spolupracovníky ukázal v buňkách lidské rakoviny prsu, že PNA může blokovat transkripci tak, že se naváže na úsek DNA, který je rozdělen na dvě vlákna, těsně před tím, než enzym RNA-polymeráza začne přepisovat DNA do RNA. Tento proces nám umožní lépe pochopit úlohu určitých genů v přeměně buňky z normální na maligní.

Výzkumníci vytvořili PNA, které blokují expresi nepostradatelných genů v bakteriích, čímž bakteriím zabrání v růstu, nebo je dokonce zabijí. Tento objev může vést k novým třídám antibiotik, která se vypořádají s odolností bakterií vůči současným lékům.

Naděje na léky

Mnoho studií na buněčných kulturách i v roztocích *in vitro* prokázalo správnost použití oligomerů PNA k potlačení nebo aktivaci transkripce, replikace nebo opravy určitých genů tak, že se tyto oligomery různým způsobem vážou k DNA. Výzkumníci také hlásili velký počet pokusů, které ukázaly, že oligomery mohou narušovat funkci antisense RNA, kdy inhibují genovou expresi v traslačním stadiu, a to jak v buněčných kulturách tak v několika studiích na myších. PNA dosahuje těchto výsledků fyzickou blokadou klíčových procesů, které zahrnují RNA. Naproti tomu oligomerům DNA nebo RNA použitým k narušení funkce RNA pomáhají v buňkách enzymy, které odbourávají utvořené dvojšroubovice DNA-RNA nebo RNA-RNA. Struktura RNA-PNA se těžko dočká takovéto pomoci, neboť enzymy nedovedou rozpoznat takovou cizí strukturu, i když výzkumníci tuto možnost zkoumali zatím jen u jednoho z enzymů, které připadají v úvahu. Díky své odlišné povaze jsou PNA-oligomery mimořádně odolné i v biologickém prostředí – enzymy, které odbourávají ostatní peptidy, je nerozeznávají, takže PNA mají více času na vyhledání odpovídající RNA a její vyřazení z funkce.

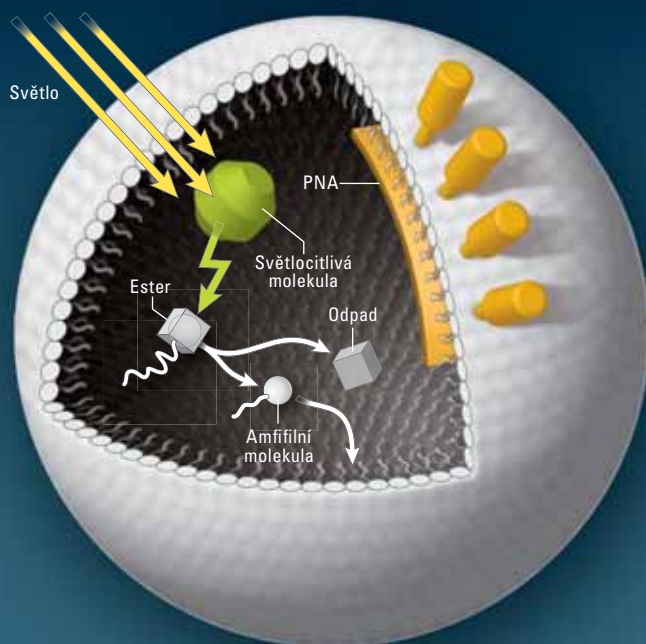
V některých případech může blokáda RNA-procesu obnovit zdravý protein. Matthew Wood z Oxfordské univerzity se svými spolupracovníky v roce 2007 ukázal, že PNA může tento efekt využívat. Když injekčně vpravili PNA do myši se svalovou dystrofií, vykazovaly myši po injekci zvýšené hladiny proteinu zvaného dystrofin, jehož absence vyvolává svalovou dystrofii. PNA zabránila špatnému úseku genu pro dystrofin v translaci z RNA na proteiny, a tak eliminovala oslabující mutaci přítomnou v tomto segmentu, zatímco zanechala dostatek funkčního dystrofinu.

Oligomery PNA i běžné nukleové kyseliny jsou obtížně biologicky dostupné, neboť jsou velké a převážně hydrofilní, což jim znesnadňuje vstup do buněk, jejichž stěny jsou tvořeny hydrofobní lipidovou membránou. Nehledě na svou značnou stálost nevydrží PNA v žádném živočišném organismu dlouho; díky své hydrofilitě se vylučují močí. Například polovina PNA v myši se ztratí za méně než půl hodiny. Proto příchodu léků založených na PNA musí předcházet vývoj vhodných chemických nebo farmaceutických úprav (tedy směsí s jinými látkami), které vylepší biologickou dostupnost PNA. Skutečně: hlavní pozornost výzkumu v genetické medicíně se na obecné úrovni soustředí na

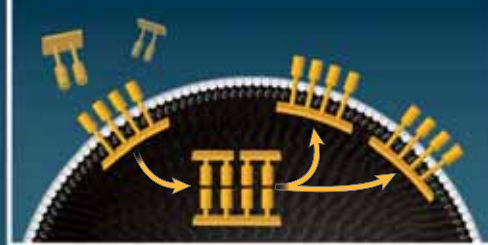
UMĚLÝ ŽIVOT

Výzkumníci, kteří se snaží vytvořit nové formy života spojením neživých chemikálií, ve svých návrzích používají PNA jako genetickou složku (tedy složku nesoucí informaci), neboť je jednodušší a stabilnější než DNA nebo RNA. V návrhu ukázaném níže je PNA zanořena v povrchu koule, která se sama vytváří z amfifilních molekul. Svět-

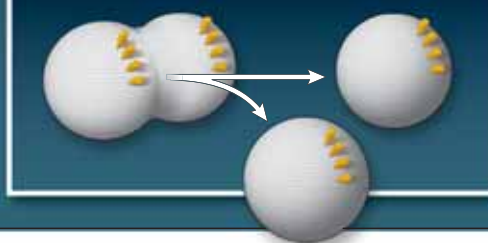
locitlivé molekuly v buňce pohánějí tvorbu dalších amfifilních molekul z prekursorových esterů. Pokud se PNA replikuje (*nahoře*), může se expandující protobuňka rozdělit na dvě podobné kopie (*dole*). Samoorganizováním, metabolizováním a samoreplikací protobuňka vykazuje některé z klíčových znaků života.



PNA se replikuje, když se k ní připojí krátké komplementární úseky RNA, a putuje do lipidového nitra protobuňky, kde se úseky spojí, aby vytvořily druhé vlákno PNA.



Když protobuňka dosáhne dostatečné velikosti, stane se nestabilní a rozdělí se na dvě.



překonání problému s dodáváním patřičných látek do buněk v těle. Výzkumníci věří, že tento problém je poslední překážkou na cestě k rozsáhlým aplikacím těchto látek a přístupů v medicíně.

Umělý život

Při spojení nukleových kyselin a proteinů by mohla být PNA schopna sloužit zároveň jako uložisko informací, jako DNA a jako katalytické soustrojí umělé buňky, podobně jako mnoho proteinových enzymů v přirozených buňkách. Právě tato dvojí schopnost, společně s dalšími vlastnostmi PNA, vzbudila zájem vědců, kteří se snaží o vytvoření umělého života.

V mnoha ohledech je však v této hře RNA oproti PNA o mnoho dále. Přírodních a syntetických příkladů katalytické RNA je hodně. Naproti tomu katalytické molekuly PNA na svůj objev teprve čekají. PNA se však podobně jako proteiny a RNA skládají do různých tvarů (tak zvané sekundární a terciární struktury), které jsou klíčem k účinné katalýze. Proto věřím, že je vývoj katalytické PNA pouze otázkou času.

Nejpokročilejší přístupy k vytvoření života od samého počátku, sestavováním souborů molekul, se snaží identifikovat samoreplikující se molekuly RNA, které katalyzují svou vlastní syntézu. V podstatě by mohly být molekuly v těchto schématech nahrazeny PNA nebo velmi podobnou syntetickou molekulou. Byly objeveny autokatalytické replikační systémy využívající krátké oligonukleotidy, a byly objeveny i samoreplikující se krátké peptidy. Mělo by tedy být možné vyvinout analogické samoreplikující se PNA-systémy. Samoreplikující se systém založený na PNA by měl výhodu chemicky silných peptidových vazeb společně s různorodostí specifickou pro rozpoznávání sekvence bází.

Genetický replikační systém je však jen jednou složkou života, i když složkou ústřední. Základem života je síť chemických reakcí fungujících ve stavu, který je poměrně stálý, ale ještě není v rovnováze, a který je otevřený jak pro vstupy tak pro výstupy [*viz* „A Simpler Origin for Life on the Earth,“ Robert Shapiro; Scientific American, červen 2007]. Hlavní výzvou tedy bude začlenění samoreplikující se molekuly

ly do většího systému, který plní jiné katalytické aktivity a má metabolický cyklus, a propojení tohoto systému s fyzickým místem, například s lipidovým váčkem, a tak stvořit to, čemu vědci říkají “protobuňka”.

Steven Rasmussen z Národní laboratoře v Los Alamos a Liaohai Chen z Národní laboratoře Argonne předložili návrh jednoduché protobuňky založené a PNA [viz rámeček na protější straně]. Obal protobuňky se sám skládá z amfifilních molekul – lipidových řetězců s hydrofilními hlavičkami. Kostra PNA je upravena do lipofilní podoby, takže se PNA sama zanoří do povrchu protobuňky. Krátké úseky PNA se párují s PNA protobuňky, aby vytvořily druhý řetězec s komplementární sekvencí. Světlocitlivá molekula pohání tvorbu dalších amfifilních molekul, takže protobuňka dále roste. Když dosáhne dostatečné velikosti, stane se nestabilní a nakonec se rozdělí. Tento návrh je však vysoce spekulativní a stále trpí základním problémem, který musí chemici vyřešit – tím je stabilita dvojvláknové PNA, která značně brání jejímu rozdělení na dva dceřiné řetězce. Než vědci vyvinou první protobuňku, čeká je ještě dlouhá a svízelná cesta.

Původ života?

Hlavní cílem těchto snah o vytvoření života *de novo* v laboratoři je lépe pochopit, jak mohl začít život na Zemi. Když se zamyslíme nad detaily mikrobiologie současných forem života, zdá se být jasné, že RNA je zřejmě mnohem starší a do větší míry ústřední molekulou než DNA a proteiny. Tato jediná molekula může nést jak genotyp (informace sledu genů) organismu tak fenotyp (katalytické funkce). Proto i z dalších důvodů nyní mnoho vědců přijímá za svou myšlenku, že před naším DNA/RNA/proteinovým světem existoval svět RNA [viz „The Origin of Life on the Earth,” Leslie E. Orgel; Scientific American, říjen 2004].

Zůstává však stále záhadou, jak mohly v primitivních prebiotických podmínkách vzniknout molekuly RNA, zvláště cukr ribosa v kostře RNA. Navíc, i když byly vytvořeny molekuly RNA, jejich nízká chemická stabilita by jim sotva umožnila bez jakékoli ochrany přežít dostatečně dlouho na to, aby mohly sehrát ústřední roli v počátku chemické evoluce života. Proto se molekula jako PNA jeví jako velmi přitažlivý kandidát na svět, který předcházela



SVĚT PNA?

Někteří výzkumníci navrhnou, že původní život na Zemi mohl být založen na PNA nebo na podobné molekule nesoucí informace, neboť je jednodušší a stabilnější než RNA, o které se široce věří, že se vyvinula před DNA. Tento „svět PNA“ by se vyvinul ve „svět RNA“ s životem založeným na RNA a z něj poté do světa s životem, jak ho známe nyní, založeným na DNA, RNA a proteinech.

světu RNA: je extrémně stálá a chemicky jednoduchá, a nese informaci o sekvenci.

V roce 2000 Stanley L. Miller, známý svými pokusy se spermatem před více než padesáti lety, kde prokázal, že aminokyseliny mohou vznikat za určitých podmínek, o nichž se věří, že stimulovaly jejich tvorbu v počátcích naší planety, v podobných experimentech identifikoval prekursor PNA. Výzkumníci také ukázali, že sekvencí informace v PNA-oligomeru může být cestou „chemického kopírování“ přenesena na jiný PNA-oligomer nebo na molekulu RNA – tento proces je potřebný pro svět PNA a pro následující přechodně existující svět PNA/RNA. Připouštíme, že existuje dlouhá cesta od těchto nemnohých porovnání k vytvoření silného argumentu pro svět před RNA, založený na PNA nebo na nějaké velmi podobné molekule, a aby se tato hypotéza vůbec mohla postavit na nohy, musejí vědci objevit molekuly PNA s katalytickou aktivitou.

Patnáct let po objevu PNA se stále máme co učit: Mohou katalytické molekuly existovat? Jaký je dobrý systém pro doručení terapeutických PNA do buněk? Mohou být v laboratoři vytvořeny zcela nové formy života, založené na PNA? Jsem si jistý, že během následujících 15 let získáme odpověď na tyto otázky i na mnoho dalších. ■

➔ CHCETE-LI VĚDĚT VÍCE

Sequence-Selective Recognition of DNA by Strand Displacement with and Thymine-Substituted Polyamide. Peter E. Nielsen, Michael Egholm, Rolf H. Berg a Ole Buchardt in *Science*, díl 254, strany 1497–1500; 6. prosinec 1991.

Template Switching between PNA and RNA Oligonucleotides. Christof Böhrer, Peter E. Nielsen and Leslie E. Orgel in *Nature*, díl 376, strany 578–581; 17. srpna 1995.

Peptide Nucleic Acid: A Molecule with Two Identities. Peter E. Nielsen in *Accounts of Chemical Research*, díl 32, č. 7, strany 624–630; červenec 1999.

Synthesizing Life. Jack W. Szostak, David P. Bartel and P. Luigi Luisi in *Nature*, díl 409, strany 387–390; 18. ledna, 2001.

Prebiotic Chemistry and the Origin of the RNA World. Leslie E. Orgel in *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, díl 39, č. 2, strany 99–123; březen/duben 2004.