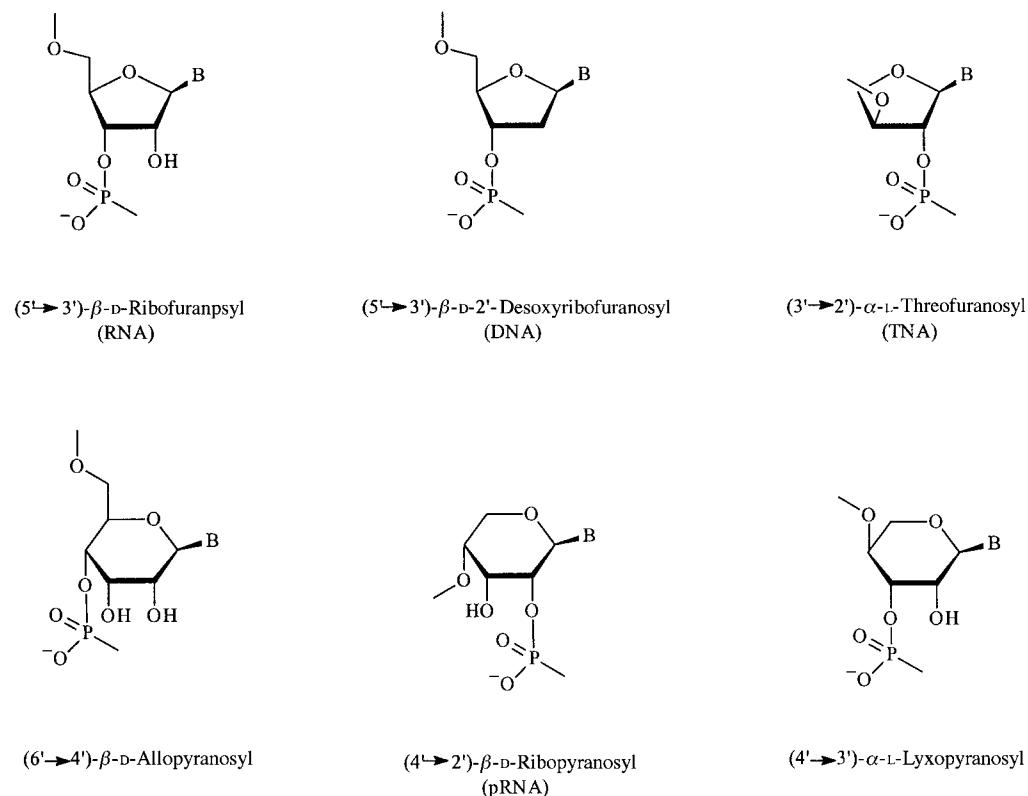


TNA als potentielle Alternative zu natürlichen Nucleinsäuren

Piet Herdewijn*

Eine der faszinierenden Fragen im Zusammenhang mit dem Ursprung des Lebens betrifft die chemische Ätiologie der heutigen Nucleinsäuren: RNA und DNA. Vor allem Eschenmoser und seine Mitarbeiter haben sich ausführlich mit dieser Thematik auseinandergesetzt, indem sie Alternativen zu Nucleinsäuren erforschten, die ebenfalls unter präbiotischen Umständen entstanden sein könnten. Ihre Untersuchungen konzentrierten sich auf die chemischen Eigenschaften, die für die biologischen Funktionen von RNA und DNA von Bedeutung sind. Diese Untersuchungen haben nun zur Synthese und Erforschung der Eigenschaften des (*L*)- α -Threofuranosyl-(3' \rightarrow 2')-oligonucleotides (TNA) geführt (Schema 1).^[1] Die Auswahl von TNA als Modellsystem basiert auf früheren Untersuchungen der diastereo-selektiven Aldolkondensation von Glycoaldehyd-Phosphat. In Abwesenheit von Formaldehyd ist die Bildung von Allose-2,4,6-triphosphat kinetisch bevorzugt. In der Gegenwart von Formaldehyd wird Ribose-2,4-diphosphat gebildet. Insbesondere in Abwesenheit von Formaldehyd entstehen als Intermediate der Hexo-Aldose-Synthese signifikante Mengen an racemischen Erythrose-2,4-diphosphaten und Threose-2,4-diphosphaten.^[2] Aufgrund dieser Untersuchungen ist es nicht unwahrscheinlich, Threofuranosyl-Nucleinsäuren als Vorfahren von RNA oder als RNA-Alternative anzusehen. Das



Schema 1. Verschiedene Oligonucleotid-Bausteine; B = Base.

Basenpaarungspotential von TNA wurde von seiner Strukturverwandtschaft mit (*L*)- α -Lyxopyranosyl-(4' \rightarrow 3')-oligonucleotid abgeleitet, von dem bekannt ist, dass es Kreuzpaarung mit DNA und RNA zeigt.^[3] Früher wurden β -Aldohexose-Nucleinsäuren aufgrund ihrer im Vergleich zur RNA geringeren funktionellen Eignung als Nucleinsäure-Alternativen ausgeschlossen. Dies wurde mit ihrer im Vergleich zur RNA geringeren Basenpaarungsstärke und Selektivität begründet. Pentopyranosyl-(4' \rightarrow 2')-oligonucleotide – Prototyp hierfür ist die pRNA – sind hingegen potentielle RNA-Alternativen, da sie eine höhere und selektivere Basenpaarungsstärke als RNA aufweisen. Außerdem haben sie das Potential für eine nichtenzymatische Replikation.^[4] Diese Studien der pRNA führten zu der Schlussfolgerung, dass die Natur RNA wohl nicht nach dem Kriterium der maximalen Basenpaarungsstärke auswählte. Die quasilineare Struktur der thermodynamisch stabileren doppelsträngigen pRNA zeigt nur eine

[*] Prof. Dr. P. Herdewijn
Laboratory of Medicinal Chemistry
Rega Institute, Katholieke Universiteit Leuven
Minderbroedersstraat 10, 3000 Leuven (Belgien)
Fax: (+32) 16-337340
E-mail: Piet.herdewijn@rega.kuleuven.ac.be

leichte Linksdrehung; ganz anders als die helicale Struktur der natürlichen Nucleinsäuren. Da pRNA jedoch auch keine Kreuzpaarung mit RNA eingeht, erscheint ein direkter Informationsaustausch zwischen diesen Oligonucleotiden sehr schwierig. Das Fehlen von pRNA-RNA-Kreuzpaarung schließt nicht aus, dass pRNA eine direkte Vorstufe von RNA sein könnte – es lässt diese Möglichkeit nur sehr unwahrscheinlich erscheinen. Eine Nucleinsäure, die in der Lage ist, verschiedene Konformationen anzunehmen und dadurch sowohl mit pRNA als auch RNA hybridisieren kann, könnte als evolutionäre Zwischenstufe zwischen pRNA und RNA angesehen werden.^[5]

Untersuchungen von TNA könnten die Frage beantworten, warum TNA das genetische System der Natur hätte werden können – aber nicht wurde; so könnten wir verstehen, warum RNA den möglichen Alternativen überlegen ist. Eschenmoser zeigte, dass diese auf Tetrose basierenden Oligonucleotide eine Basenpaarung aufweisen, die, was Spezifität, Orientierung der Stränge und Bindungsstärke betrifft, ähnlich der auf Pentose basierenden RNA ist. TNA hybridisiert außerdem mit den natürlichen Nucleinsäuren RNA und DNA. Zwischen diesen Furanosyl-Oligonucleotiden findet ein Informationstransfer statt, der auf der (vermutlich) komplementären Watson-Crick-Basenpaar-Erkennung beruht. Dieses Ergebnis ist einzigartig, da die früher untersuchten Nucleinsäure-Alternativen (Pentofuranosyl-Nucleinsäureanaloga wie Arabinofuranosyl-Nucleinsäuren^[6] ausgeschlossen) dieses Charakteristikum nicht zeigen. Diese Ergebnisse sind so innovativ, weil sie außerdem zeigen, dass eine für die Beweglichkeit der Nucleinsäure verantwortliche Bindung (die sich wiederholende Einheit des TNA-Rückgrats hat im Unterschied zu den herkömmlichen sechs nur fünf Bindungen) entfernt werden kann, ohne dass die Eigenschaften der Furanosyl-Nucleinsäuren bei der Basenpaarung verloren geht. Diese Beobachtung geht auf Vorbilder aus dem Gebiet der künstlichen Nucleinsäuren zurück: Sowohl carbocyclische 5'-nor-Oligonucleotide (fünf Bindungen)^[7] als auch carbocyclische Oxetanocin-Oligonucleotide (sieben Bindungen)^[8] hybridisieren mit RNA.

Kreuzpaarung zwischen TNA und RNA ist durch die gestreckte Konformation von TNA möglich. In dieser Anordnung sind alle Substituenten des Furanoseringes quasi-axial orientiert (3'-endo-Konformation). Dabei handelt es sich um ein interessantes Beispiel einer Nucleosid-Konformation, die hauptsächlich durch stereoelektronische Effekte (Gauche- und anomere Effekte) bestimmt wird. β -D-Xylofuranosyl-Nucleoside weisen eine ähnliche Konformation auf, dadurch bieten sich (3' → 2')- β -D-Xylofuranosyl-Nucleinsäuren als weitere Kandidaten für Kreuzpaarung mit RNA an (unter der Voraussetzung, dass die 5'-CH₂OH-Gruppe keine sterische Behinderung verursacht).^[9] Eine wichtige Beobachtung ist ferner, dass TNA in der Lage ist, Haarnadel-Strukturen zu bilden, das heißt, dass die konformativ Vielfalt der TNA nicht allein auf die klassische Duplexbildung beschränkt ist.

Die Auswahlkriterien für potentielle natürliche (intermediäre) Nucleinsäure-Alternativen als genetisches Material für primitives Leben sind:^[10]

- 1) eine Molekülstruktur, die natürlich vorkommen kann
- 2) die Möglichkeit zur informellen Basenpaarung

- 3) die Möglichkeit zur Selbstkopie
- 4) die Möglichkeit, einen chemischen Phänotyp (bezüglich der Reaktivität und katalytischer Eigenschaften) zu bilden
- 5) ein Evolutions-Potential zu haben

Welches dieser Kriterien wird von TNA erfüllt? TNA kann als eine Alternative zur RNA betrachtet werden, da TNA möglicherweise durch Selbstorganisation aus organischem Material gebildet werden kann (erste Voraussetzung). Die Frage, ob RNA oder TNA am einfachsten unter präbiotischen Bedingungen (Einfachheit der Synthese) entsteht, kann nur beantwortet werden, wenn stickstoffhaltige Systeme in den Experimenten zur Selbstanordnung enthalten sind.^[1] TNA erfüllt auch die zweite Voraussetzung: eine auf der Basenpaarung basierende thermodynamisch funktionelle Auswahl. Wenn TNA als Vorstufe oder Alternative zu RNA vorgeschlagen wird, muss gezeigt werden, dass TNA RNA aufgrund von funktionellen Kriterien unterlegen sein muss. Schließlich hat die Natur RNA und nicht TNA als Träger der genetischen Information gewählt. Es kann bezweifelt werden, ob aufgrund der geringeren Basenbindungsstärke von TNA die nicht enzymatische Replikation so gut funktioniert wie mit pRNA. Aber das Potential zur Replikation sollte zumindest gleich, wenn nicht sogar besser als das der RNA sein. Sowohl RNA als auch TNA haben Paarungseigenschaften, die optimal für den Verwendungszweck der Natur zu sein scheinen.

Durch die Abwesenheit einer freien Hydroxyfunktion (dem Äquivalent der 2'-OH-Gruppe in RNA) wird das katalytische Potential von TNA eingeschränkt (z. B. für die Selbsteilung, das heißt, vom Standpunkt der Katalyse aus betrachtet kann TNA somit als Analogon zur DNA aufgefasst werden). Es steht sicherlich fest, dass die steigende Effizienz und die Verschiedenartigkeit von katalytischen Aktivitäten in der Evolution eine wichtige Triebkraft in Richtung der heutigen RNA darstellte. Vielleicht gab es eine RNA-Vorstufe mit geringeren katalytischen Fähigkeiten, dafür aber mit einer höheren chemischen Stabilität. In dieser Hinsicht sind also sowohl TNA als auch pRNA als Kandidaten für diese RNA-Vorstufen anzusehen, obwohl nicht klar ist, wie das katalytische Potential von TNA und pRNA in RNA-Katalyse übertragen werden kann. Obwohl sich TNA als ein so hervorragender Kandidat für die Speicherung von genetischer Information anbietet, bevorzugte die Natur also eine komplizierte Chemie für die Umwandlung von RNA in DNA. Der Bildung von Leben geht aber sicherlich eine Möglichkeit zur Speicherung von Information voraus – das schließt TNA als eine Vorstufe zu RNA oder als RNA-Alternative nicht aus. Tatsächlich könnte in primitiven Lebensformen derselben molekularen Struktur diese Doppel-funktion zugekommen sein: Informationsspeicher und gleichzeitig auch eine strukturspezifische Reaktivität und Katalyse.^[10] Obwohl TNA als genetisches Modell seine eigenen charakteristischen Funktionalitäten entwickelt haben könnte, ist die Evolution dahingehend konservativ, dass sie Substanzen aus einer primitiven Lebensform für verschiedene Zwecke wiederverwendet haben könnte. Von diesem Standpunkt aus betrachtet ist es interessant anzumerken, dass Pentopyranose-Nucleoside aus natürlichen Quellen isoliert werden konnten (z. B. aus einem Zuchtmittel von *Streptomyces griseochromogenes*), wohingegen es bis jetzt nicht

möglich war, Threofuranosyl-Nucleoside aus natürlichen Quellen zu isolieren.

Wie schon zuvor besprochen, impliziert „Leben“ die Möglichkeit, Informationen zu speichern, zur Selbstkopie und zum exponentiellen Wachstum. Es wurde darüber spekuliert, ob Threose-, Furanose- und (Pento)pyranose-Nucleinsäuren nicht alle dieses Potential haben. Evolution (und Überleben) schließt auch das Potential für den Transfer von Informationen ein, z.B. durch die Weiterentwicklung eines Systems in ein anderes, sowie die Möglichkeit der Selektion (vielleicht auf eine kombinatorische Weise) durch Rekombinationen und Mutationen, um so neue Funktionen zu finden. In der Evolution könnten Konformationsunterschiede ein Ersatz für Strukturunterschiede gewesen sein – große Strukturunterschiede waren in einer primitiven Welt sicherlich kaum möglich und auch in etwas komplexeren Systemen nicht ausreichend vorhanden. Auch für die Katalyse, den entscheidenden Faktor in jedem lebenden Organismus, sind Konformationsunterschiede von großer Bedeutung. Möglicherweise ist es eher eine Frage der Evolution als eine Frage der Bildung von Leben, dass die Furanose-Nucleinsäuren sich gegenüber den Pyranose-Nucleinsäuren durchgesetzt haben. Beispielsweise erfordert die Reproduktion und die Transkription (Informationstransfer), dass der Nucleinsäure-Doppelstrang geöffnet und wieder geschlossen wird. Die Stärke der Duplex wird definiert durch das Ausmaß der Interstrang- und Intrastrang-Stapel-Wechselwirkungen. In der thermodynamisch stabileren A-Form von Doppelstrang-Nucleinsäuren ($3'$ -endo-Furanose-Konformation) ist die Interstrang-Stapel-Wechselwirkung stärker ausgeprägt als in der weniger stabilen B-Form ($2'$ -endo-Furanose-Konformation). Eine Transformation des A-Typs in den B-Typ könnte die Öffnung der Doppelstrang-Nucleinsäure ermöglichen, und daher wird bei der Replikation und Transkription auch eine konformativ flexible erzeugt. Diese Überlegungen könnten erklären, warum die sehr stabile DNA ein besseres Informationsspeichermedium ist als die RNA (unter der Annahme, dass die Speicherung von Informationen von der Natur geplant wurde) und der Gebrauch von Pyranosyl-Nucleinsäuren ausgeschlossen ist. Ähnliche Überlegungen bezüglich der katalytischen Reaktivität von RNA schränken die Wahl von möglichen Alternativen für die von der Natur gewählten Nucleinsäuren beträchtlich ein. Die verminderte

konformativ flexible (fehlende $5'$ -CH₂OH-Gruppe) könnte die TNA zu einem ungeeigneteren Informationsspeicher als die DNA machen; außerdem ist die TNA hinsichtlich der Katalyse-eigenschaften der RNA unterlegen.

Im Augenblick gibt es weder eine Andeutung noch einen Hinweis darauf, dass TNA oder pRNA Vorstufen oder Konkurrenten in der Entwicklung von RNA waren – das Gegenteil kann allerdings genauso wenig bewiesen werden. Die Untersuchungen und Erkenntnisse von Eschenmoser und seinen Mitarbeitern liefern einen weiteren Teil des Puzzles, das vielleicht irgendwann zu einem Verstehen der Entwicklung unseres heutigen Lebens oder zu Vorschlägen zu alternativen Lebensformen führen könnte. Es wird außerdem deutlich, dass die Triebkraft der natürlichen Selektion nicht vollständig verstanden werden kann, wenn nur die Informationen in Betracht gezogen werden, die sich aus der Synthese und der Analyse der Eigenschaften von RNA-Alternativen ergeben.

- [1] K.-U. Schöning, P. Scholz, S. Guntha, X. Wu, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Science* **2000**, *290*, 1347–1351.
- [2] D. Müller, S. Pitsch, A. Kittaka, E. Wagner, C. E. Winter, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1410–1468.
- [3] F. Reck, H. Wippo, R. Kudick, M. Bolli, G. Ceulemans, R. Krishnamurthy, A. Eschenmoser, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1531–1534.
- [4] S. Pitsch, R. Krishnamurthy, M. Bolli, S. Wendeborn, A. Holzner, M. Minton, C. Lesueur, I. Schlövogt, B. Jaun, A. Eschenmoser, *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 1621–1635.
- [5] Y. Maurinsh, H. Rosemeyer, R. Esnouf, A. Medvedovici, J. Wang, G. Ceulemans, E. Lescrinier, C. Hendrix, R. Busson, F. Seela, P. Sandra, A. Van Aerschot, P. Herdejwin, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2139–2150. Cyclohexanyl-Nucleinsäuren können nicht als Alternative zu natürlichen Nucleinsäuren angesehen werden, sie repräsentieren jedoch ein Beispiel, in dem eine Nucleinsäurestruktur zwei gänzlich verschiedene Konformationen annehmen kann.
- [6] M. Resmini, W. Pfeiderer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1909–1912; M. Damha, N. Usman, K. K. Ogilvie, *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 831–831.
- [7] M. Koga, K. Abe, S. Ozaki, S. W. Schneller, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **1994**, *31*, 65–66.
- [8] S. Honzawa, S. Ohwada, Y. Morishita, K. Sato, N. Katagiri, M. Yamaguchi, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2615–2627.
- [9] Soweit wir wissen, wurden nur ($5' \rightarrow 3'$)-2'-Desoxyxylofuranosyl-Nucleinsäuren untersucht: H. Rosemeyer, M. Krečmerová, F. Seela, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 2054–2067.
- [10] A. Eschenmoser, *Science* **1999**, *284*, 2118–2124.