# EVOLUÇÃO MOLECULAR E PROTOBIOLOGIA: — Uma panorâmica

Klaus DOSE(\*)

# I - Introdução

Nas conferências sobre o Darwinismo que proferiu no semestre de Inverno de 1865/66, o biólogo alemão Ernst Haeckel (1834-1919) propôs uma sequência evolutiva para explicar a origem das primeiras células através de processos de auto-agregação e de selecção. Estas conferências foram publicadas em 1868 (Haeckel, 1868). As ideias pioneiras de Haeckel constituíram na sua época uma violação da concepção reinante segundo a qual a origem da vida não podia ser objecto de investigação científica.

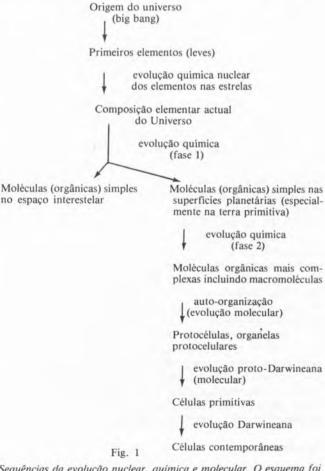
Esta concepção está mais claramente expressa em algumas afirmações proferidas por C. Darwin mais ou menos na mesma época. Em 1859 (C. Darwin, 1859) C. Darwin sugeria que todas as formas de vida que existiram sobre a Terra evoluíram a partir de um antepassado comum o qual teria sido criado por um acto divino. Em 1863 Darwin rejeitava mais uma vez a ideia de que o problema da origem da vida pudesse ser racionalmente analisado. Numa carta a Hooker (editada por F. Darwin, 1896) ele escrevia: "It is mere rubbish thinking at the presence of the origin of life — one might as well think of the origin of matter". Mas mais tarde, em 1871, talvez sensibilizado pelas teses de Haeckel, Darwin deixou de rejeitar o pensamento sobre uma origem evolutiva da vida (Darwin, 1959, póstumo).

O conceito formulado por Haeckel de uma auto--organização por etapas da matéria até conduzir a um sistema vivo era certamente um assunto polémico na época tanto mais que não era suportado por uma argumentação baseada em dados experimentais. A era moderna neste dominio foi iniciada em 1924 quando Oparine (Oparine, 1924) publicou pela primeira vez as suas concepções sobre a origem da vida. Mas Oparine limitou-se a retomar os conceitos de Haeckel datados já do século XIX. É certo que Oparine podia ser mais específico e basear-se mais em factos do que o podia fazer Haeckel cujas ideias surgem hoje como ingénuas em muitos pormenores. No entanto, o fosso entre as conceptualizações e os factos era ainda enorme em 1924. Foram precisos mais de 30 anos para que algumas das ideias de Oparine (e de Haeckel) sobre a formação espontânea de moléculas de interesse biológico a partir de percursores "inorgânicos" pudessem ser verificadas em laboratório. A história deste período da investigação foi abordada com pormenor em várias trabalhos (ver p. ex. Kenyon e Steinman, 1969; Miller e Orgel, 1974; Fox e Dose, 1977). Até 1955 muitas das experiências neste campo estavam relacionadas com a origem abiótica ou prebiótica das moléculas simples na Terra primitiva. Este domínio de investigação é frequentemente designado por "evolução química".

Também foi enorme o número de experiências realizadas sobre a origem das primeiras macromoléculas de interesse biológico e sobre a sua auto-organização em sistemas prebióticos incluindo modelos de protocélulas. Este domínio é frequentemente designado por "evolução molecular", termo este geralmente aceite por analogia com "biologia molecular" para exprimir o envolvimento adicional das interacções moleculares (ou supramoleculares) para além do nível das reacções (bio)químicas típicas. Apesar das muitas intrigantes experiências sobre a origem das primeiras células, experiências essas levadas a cabo em particular por S.W. Fox e colaboradores nos últimos 30 anos, ainda não podemos afirmar sem ambiguidade que se tenha conseguido sintetizar em laboratório uma protocélula. No entanto as experiências com moléculas prebióticas demonstram de forma convincente o papel central da auto-organização no contexto prebiótico. As várias estruturas do tipo celular ou organela celular que se produziram em experiências de simulação podem ser encaradas como pré-células ou pré-organelas. Falta ainda no entanto estabelecer em que medida algumas destas pré-células são capazes de, em determinadas condições, evoluir para células primitivas (ou células primordiais), isto é para os percursores das céluas contemporâneas. Só estas estruturas pré-celulares podem ser designadas por protocélulas. A forma de "vida" que representam será pois uma protovida. A ciência que a estuda é a protobiologia.

Pensar no contexto da protobiologia ou da evolução molecular implica uma forma de pensamento diferente do da biologia: dado que ninguém, assistiu ao aparecimento da vida, o tipo de pensamento dominante em protobiologia é em grande medida construcionista, ao passo que em biologia é essencialmente deducionista.

As diferentes etapas da evolução, desde a origem do Universo ao aparecimento das células contemporâneas podem resumir-se num esquema sintetizado na Fig. 1.

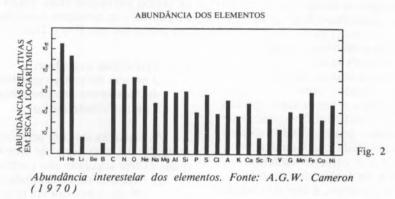


Sequências da evolução nuclear, química e molecular. O esquema foi elaborado com base na experimentação, observação e considerações teóricas

# II — A abundância dos bioelementos nas nuvens presolares

Quando analisamos as abundâncias dos elementos nas nuvens de matéria interestelar, isto é nas nuvens que contêm os materiais de base para a formação de novas estrelas, incluindo estrelas do tipo do nosso Sol com o seu sistema planetário, verificamos que os quatro bioelementos mais importantes, hidrogéneo, carbono, oxigénio e azoto, são também os elementos mais abundantes para além dos gases raros hélio e néon (Fig. 2). A produ-

ção destes elementos através de processos químicos nucleares que ocorrem no interior das estrelas é directamente controlada pelas propriedades físicas dos neutrões, protões e outras particulas constitutivas do núcleo destes elementos. As leis da Física e as propriedades da matéria predeterminaram o nosso Universo a produzir predominantemente os quatro bioelementos (para além do hélio e do néon). Todos os elementos químicos (com excepção dos gases raros) têm facilidade para interagir químicamente desde que as condições sejam favoráveis.



A formação espontânea e a interconversão de moléculas são processos que ocorrem numa grande variedade de cenários cosmológicos, mesmo nas condições de extremamente baixas temperatura e pressão reinantes nas nuvens interestelares. A grande maioria destes compostos até hoje observados e identificados são compostos de car-

bono (Tabela 1). No entanto a espécie molecular mais abundante é a água. Os dados de que dispomos sobre a química do Universo sugerem que qualquer forma de vida que possamos imaginar será provavelmente baseada numa química de compostos de carbono, tendo a água como solvente.

TABELA 1

MOLÉCULAS INTERESTELARES ORSERVADAS

INORGÂNICAS	ORGÂNICAS		
H <sub>2</sub> hidrogénio OH hidroxilo SiO monóxido de silício SiS sulfureto de silício NS sulfureto de azoto SO monóxido de enxofre	-DIATÓMICAS	CH CH+ CN CO CS	metilidino ião metilidino cianogénio monóxido de carbono monosulfureto de carbono
H <sub>2</sub> O água H <sub>2</sub> H + H <sub>2</sub> S sulfureto de hidrogénio SO <sub>2</sub> dióxido de enxofre	TRIATÓMICAS	CCH HCN HNC HCO+ HCO OCS	etinal cianeto de hidrogénio isocianeto de hidrogénio ião formilo formilo sulfureto de carbonilo
NH <sub>3</sub> amónia	4-ATÓMICAS	H <sub>2</sub> CO HNCO H <sub>2</sub> CS	formaldeido ácido isociânico tioformaldeido
	5-ATÓMICAS	H₂CHN H₂NCN HCOOH HC₃N	metanimina cianamida ácido fórmico cianoacetileno
	6-ATÓMICAS	CH <sub>3</sub> OH CH <sub>3</sub> CN HCONH <sub>2</sub>	metanol cianometano formamida
	7-ATÓMICAS	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H HCOCH <sub>3</sub> H <sub>2</sub> CCHCN HC <sub>3</sub> N	metilamina metilacetileno acetaldeído cianeto de vinilo cianodiacetileno
	8-ATÓMICAS	HCOOCH <sub>3</sub>	formato de metilo
	9-ATÓMICAS	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> O C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH HC <sub>7</sub> N	éter dimetílico etanol cianotriacetileno

# III — Moléculas prebióticas: a ocorrência prebiótica e biótica dos aminoácidos e dos seus polímeros

As experiências de simulação sobre a origem prebiótica das biomoléculas a partir de misturas simples contendo os elementos C, H, O e N mostram na generalidade que os aminoácidos (ou percursores facilmente hidrolizáveis para dar aminoácidos) se formam com rendimentos apreciáveis (ver p. ex. o artigo de revisão de Fox e Dose, 1977). Estes rendimentos são normalmente bastante superiores aos da formação de outros tipos de compostos orgânicos. A glicina, a alanina, o ácido glutâmico e o ácido aspártico são os α-aminoácidos formados mais abundantemente em condições prebióticas e os aminoácidos quirais (assimétricos) formam-se em misturas racémicas. Até hoje não existe ainda uma explicação satisfatória para o facto de os aminoácidos serem os produtos mais abundantemente formados e terem uma aptidão particular para sobreviver às condições frequentemente severas de diferentes ambientes geoquímicos. Sabemos apenas que a sua estabilidade geoquímica está estreitamente ligada com o seu carácter zwiteriónico, com os seus elevados pontos de fusão (decomposição), com as suas baixas pressões de vapor, a sua geralmente elevada solubilidade e estabilidade em água e a sua tendência para uma ligação selectiva a minerais com capacidade de permuta catiónica e aniónica.

Outra propriedade importante dos aminoácidos é a sua capacidade para sofrerem reacções de condensação intermolecular conduzindo à formação de polímeros relativamente estáveis tais como polipéptidos, proteínas e outros poliaminoácidos. Devido à existência destes processos e ao grande número de mecanismos bioquímicos envolvendo aminoácidos, este tipo de compostos apresenta também um elevado grau de ocorrência biológica.

As experiências de laboratório, em particular as realizadas por S.W. Fox e colaboradores (Fox e col., 1959 a, b e também o artigo de revisão de Fox e Dose, 1977), mostraram que misturas de aminoácidos podem ser polimerizadas em condições geológicas simuladas para dar origem a uma grande variedade de polímeros de sequências não aleatórias. Estes polímeros apresentam propriedades importantes que se revelam idênticas às das proteínas produzidas biologicamente (Fox e Dose, 1977). Por isso são habitualmente designados por proteinóides. O significado dos proteinóides como percursores prebióticos das proteínas, isto é como protoproteínas, foi recentemente discutido (Fox, 1981). Dada a origem geoquímica dos proteinóides (protoproteinas) estes compostos devem também ser considerados como moléculas geologicamente estáveis.

# IV — A capacidade de auto-agregação: a origem das protocelulas e de outras estruturas protobiológicas

Foram Fox e colaboradores (1959 a) quem primeiro descreveu a formação de "esférulas" durante o processo de arrefecimento de soluções (aquosas) saturadas de proteinóides. Mais tarde estas estruturas esféricas de tipo celular foram designadas por microsferas (proteinóides). Os proteinóides ricos em aminoácidos acídicos (ácido aspártico, ácido glutâmico) são geralmente bons materiais de base para a produção de microsferas. O processo é simples, rápido e relevante do ponto de vista geológico. As microsferas de proteinóides apresentam estruturas que se assemelham em vários aspectos aos "elementos

organizados" observados nas condrites carbonáceas ou em antigos sedimentos. No entanto as estruturas observadas nas condrites carbonáceas têm muito provavelmente uma origem não aquosa. O modelo que descreve a formação das protocélulas por auto-agregação a partir de proteinóides, ou a partir de proteinóides, lípidos e compostos afins encontrados nas membranas das células contemporâneas, é aquele que está mais fundamentado em resultados experimentais obtidos em experiências de simulação da evolução prebiótica.

As propriedades das microsferas de proteinóides e de outras estruturas afins, assim como o seu significado no contexto da evolução protobiológica foram discutidas

em pormenor por Fox e Dose (1977).

V — Problemas a resolver:
 a origem do código genético,
 da biossíntese das proteínas
 e da actividade óptica

As experiências com proteinóides conduziram à formulação de uma série de questões fundamentais das quais as três seguintes são particularmente importantes:

a) Será que os proteinóides e os modelos de protocélulas formados em laboratório a partir dos proteinóides contêm, nas suas sequências não aleatórias de aminoácidos, a informação apropriada necessária para a evolução até as primeiras (primordiais) células vivas?

b) Poderá esta informação ser considerada uma informação protogenética (uma informação a partir da qual evoluiu a informação genética contemporânea contida nos ácidos nucleicos)? Como poderá esta informação contida nos proteinóides (protoproteínas) ter sido traduzida na sequência dos nucleótidos dos ácidos nucleicos, em particular do ADN?

 c) Como surgiram os primeiros ácidos nucleicos e as suas estruturas estereoespecíficas necessárias

para a sua replicação?

Alguns investigadores em biologia molecular e alguns teóricos postularam que a informação genética dos sistemas vivos surgiu **ab initio** nos polinucleótidos. O problema está em que os polinucleótidos não têm, por si sós, a propriedade de se auto-reproduzirem. Para isso precisam de enzimas. A probabilidade de uma formação praticamente simultânea de nucleótidos estereoquimicamente apropriados e de polinucleótidos replicases específicos deve ser extremamente pequena, praticamente nula de acordo com os dados experimentais hoje disponíveis.

Os dois argumentos óbvios que a seguir se apresentam são frequentemente utilizados para combater o

conceito da "primazia dos genes":

a) Como já foi dito, não há auto-reprodução dos ácidos nucleicos nas células contemporâneas ou em sistemas não celulares. Para isso são necessários catalizadores. Nas células contemporâneas os catalizadores são replicases de ácidos nucleicos altamente específicas. A síntese destas enzimas, é codificada pelo ADN e pelo ARN.

b) Mesmo se existir (o que até hoje apenas foi sugerido) um catalizador não-enzimático mas suficientemente específico para a replicação dos polinucleótidos, donde terá surgido o primeiro polinucleótido replicável? Para ser replicável o polinucleótido deverá ter uma estrutura altamente específica como a que apresenta o ADN contem-

porâneo (D-2-desoxirribose com as posições 3' e 5' esterificadas com ácido fosfórico e com a posição  $1'(\beta)$  em ligação de tipo glicosídico com um átomo de azoto específico de uma base purínica ou pirimidínica).

Só se abstrairmos destas duas objecções é que o conceito da "primazia dos genes" (ver também lado direito da Fig. 3) pode dar origem a uma teoria realista. No entanto, a selecção e conservação prebiótica da D-ribose opticamente pura, assim como a formação espontânea de um oligonucleótido devidamente estruturado (talvez um decanucleótido) surgem como extremamente improváveis no contexto dos dados experimentais hoje disponíveis.

origem do Universo

evolução química e química nuclear

moléculas orgânicas pequenas (micromoléculas); algumas biológicamente relevantes tais como biomonómeros ou metabolitos (aminoácidos, açúcares, compostos heterocíclicos, etc...)

condensação de biomonómeros (essencialmente aminoácidos e açúcares)

### macromoléculas

evidência experimental forte: protoproteinas (proteinóides), polissacarideos, pigmentos. evidência experimental forte: péptidos prebióticos, açúcares, alguns metabolitos.

postulado (sem evidência experimental):

formação aleatória dos primeiros polinucleótidos com capacidade replicativa.

auto-orgazação

(conceito da primazia dos protoproteinas.

(conceito da primazia dos ácidos nucleicos)
zação

protocélulas células primitivas (protoproteínas = protogenes)

evolução protobiótica evolução (proto-)Darwineana

procarióticos (ácidos nucleícos = genes)

Esquema de evolução dos procarióticos. De acordo com o "conceito da primazia das proteínas" (esquerda) os proteinóides (protoproteínas=protogenes) foram os primeiros biopolímeros informativos. Durante a evolução ulterior a sua informação foi traduzida em sequências nucleotídicas específicas nos primeiros ácidos nucleicos (informativos). De acordo com o "conceito da primazia dos ácidos nucleicos" (direita) a informação biológica surgiu ab initio nos polinucleótidos (protogenes) espontaneamente formados. Este último conceito não é confirmado pelas experiências de simulação da evolução prebiótica

Em síntese, as experiências de simulação prebiótica reforçam a ideia da primazia das protoproteínas (Fig. 3 à esquerda). A transição das sequências informativas de aminoácidos nos polipéptidos para as sequências de nucleótidos codificantes das sequências de aminoácidos não implica a inversão do que, em biologia molecular, se designa por translacção. O conhecido "dogma central da biologia molecular" apenas proibe a inversão directa da translacção nas células contemporâneas. Mas este dogma não exclui a possibilidade de as proteínas catalizarem e dirigirem a síntese de sequências nucleotídicas específicas na ausência de um ácido nucleico que actue como molde. Este tipo de fluxo de informação foi, por exemplo, verificado no caso da  $Q\beta$ -replicase (Sumper e Luce, 1975).

Por isso insistimos em que a informação biológica pode passar das proteínas para os ácidos nucleicos. Do ponto de vista mecanístico existem várias formas de realizar este fluxo de informação por interacção directa de nucleótidos com posições activas específicas de uma nucleótido polimerase. Uma série de artigos presentes neste volume mostram que não é necessário violar o "dogma central" para demonstrar ou postular que os primeiros genes de ácidos nucleicos foram produzidos por proteínas (proteinóides).

# Referências

- Cameron, A.G.W. (1970). Space Science Reviews 15, 121-146
- Darwin, C. (1859). On the Origin of Species by Means of Natural Selection. Murray, London.
- Darwin, C. (1959, póstumo). Some Unpublished Letters (1871) (Sir Gavin de Beer, ed) Notes Rec. R. Soc. London 14, 1.
- Darwin, F. (1896). The Life and Letters of Charles Darwin. Vol. 2, p. 202. Appleton and Co., New York.
- Fox, S.W. (1981). The American Biology Teacher 43, 127-140.
- Fox, S.W. e Dose, K. (1977). Molecular Evolution and the Origin of Life. 2nd edn. Marcel Dekker, New York.
- Fox, S.W., Harada, K. e Kendrick, J. (1959 a). Science 129, 1221-1222.
- Fox, S.W., Harada, K. e Vegotsky, A. (1959 b). Experimentia 15, 81-84.
- Haeckel, E. (1868). Natürliche Shöpfungsgeschichte. G. Reimer, Berlin.
- Kenyon, D.H. e Streinman, G. (1969). Biochemical Predestination. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Miller, S.L. e Orgel, L.E. (1974). The Origins of Life on the Earth, Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Oparin, A.I. (1924). The Origin of Life, 1st. edn. (russ. Proiskhozdenic Zhizny). Moskovski Rabochii, Moscow.
- Sumper, M. e Luce, R. (1975) Proc. Nat. Acad. Sci. 72, 162-166.

<sup>(\*)</sup> O AUTOR: O Professor Klaus Dose é director do Instituto de Bioquímica da Universidade J. Gutenberg em Mogúncia (Mainz). Tem desenvolvido intenso trabalho no domínio da evolução molecular e é co-autor, com Sidney Fox, de um livro fundamental nesse domínio: "Molecular Evolution and the Origin of Life" (ver referências). O texto aqui apresentado destina-se a ser publicado num volume de homenagem a S.W. Fox.