

分子进化的基本化学规律

赵玉芬, 卢 奎

(生命有机磷化学教育部重点实验室: 1. 清华大学, 北京 100084; 2. 厦门大学, 福建 厦门 361005)

摘要: N-磷酰- α -氨基酸在水或有机溶剂中可以同时自组装生成肽及核苷酸, 而 β -氨基酸或 γ -氨基酸在同样条件下则不发生任何反应. 这种分子结构的特征是由磷化学的特性所决定的. 五配位磷化合物对 α -氨基酸及核糖具有专一的化学选择性, 这种化学选择性推动了自然选择.

关键词: 分子进化; 选择; 氨基酸; 五配位磷; 自组装

中图分类号: O 64

文献标识码: A

生命起源、物质起源、宇宙起源及脑力起源是当今世界四大科学前沿课题. 在生命起源中, 核酸与蛋白的起源问题、遗传密码起源及手性选择又为其中的几个最关键问题.

地球表面的气体, 早期是还原态的, 如 CH_4 、 NH_3 、 H_2 、 H_2O 等, 这些气体在 高能粒子、UV、及放电等作用下, 能产生 HCHO 、杂环化合物及氨基酸等有机分子. 甲醛聚合能够生成各种糖类化合物; 氨基酸聚合则能生成多肽, 这是蛋白质的前身. 在无生命之前, 当这些蛋白的单体及核苷酸的单体皆生成之后, 它们是如何组装成有序的蛋白质及核酸的呢? 自组装的化学规律是什么? 分子进化从小分子进化为大分子依据的准则是什么?

Eigen 在 1971 年就提出生物大分子是由小分子自组装而成的^[1], 那么, 是什么因素造成自组装的? 谁来指挥进化的? 为什么从最简单的单细胞或病毒到最复杂的人类的蛋白骨架皆是由 α -氨基酸组成的? 为什么核酸的骨架是由核糖及磷酸二酯组成的? 也就是大自然为什么选择 α -氨基酸? 为什么选择核糖? 为什么选择磷? 自然选择的科学或化学依据是什么?

1 α -氨基酸可以自组装, 而 β 、 γ -氨基酸则不行

α -氨基酸和 β 、 γ 、 δ 等其它氨基酸平时看不出有什么不同, 但是, 我们发现, 当它们的氨基接上磷酰基团, 形成 N-磷酰- α -氨基酸后, 在水中及在有机溶剂中能够自组装成肽, 而 N-磷酰- β 、 γ 等氨基酸则不能自组装成肽. 这是因为 N-磷酰- α -氨基酸的过渡态是一个五元环的五配位磷酸与羧酸的混酐(I), 其中磷中心被羧基激活, 因此可以发生磷上酯交换反应; 尤其与核苷的核糖上的 $\text{cis-}2', 3'$ -diol 能发生两个酯交换反应, 而把核苷转化为核苷酸^[2]. 我们发现五配位

收稿日期: 2001-02-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29632004, 39870415, 29902003, 20072023)

作者简介: 赵玉芬(1948-), 女, 院士

磷化合物的酯交换反应有很强的化学选择性, 它们与顺-1, 2-二醇交换的速率分别是 1, 3-二醇、1 醇及 2 醇的 6 倍、20 倍和 100 倍^[3]。同样的, 这个过渡态(I)上的羧基被磷酰基激活, 很容易发生成肽反应。被相同的氨基酸进攻生成(同)hom o-二肽; 若被不同的氨基酸进攻, 则生成

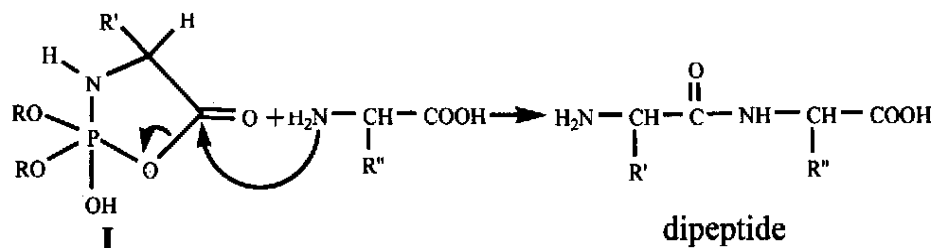


图 1 α -氨基酸的自组装成肽反应

Fig 1 The reactions of self-assembly into peptides for α amino acids

杂二肽。这两种反应不仅在有机溶剂中能够发生, 而且在水中也能发生(图 1)。

为什么 β 、 γ 或 δ 氨基酸不能被磷激活呢? 若 N-磷酰- β 氨基酸环化时, 则生成一个六元环结构的五配位磷过渡态, 我们的实验结果证明它是不能生成的, 而 I 则可以用硅试剂捕获(图 2)^[4]。

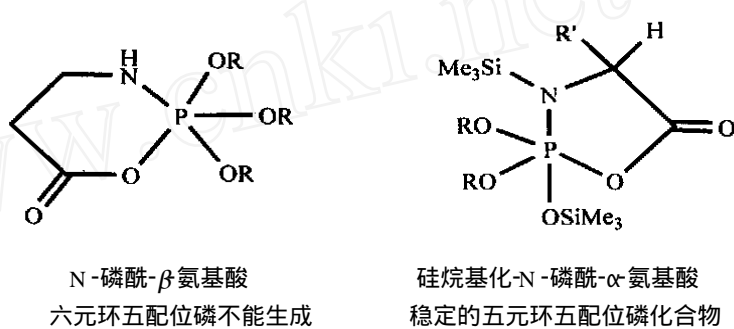


图 2 α -氨基酸与 β -氨基酸的差异

Fig 2 The differences of α amino acids with β amino acids

2 组 丝、天冬氨酸的自组装能力最强

在 20 种天然的 α -氨基酸中, 我们发现, 随着氨基酸侧链的不同, 自组装的能力不同, 其中组氨酸、丝(苏)氨酸及天冬氨酸自组装的能力最强。甘氨酸虽然体积最小, 却是最不活泼的氨基酸。当以硅试剂捕捉这 20 种氨基酸的五配位磷过渡态时, 也发现了同一现象。在 20 左右, 组氨酸在 6 min 内全部转化为五配位磷中间体, 丝氨酸、苏氨酸及天冬氨酸也在 10 min 左右全部转化完, 而甘氨酸则在几个小时之后, 仍只有 75% 转化为五配位磷。由此可见, 手性中心对于五配位磷是十分重要的结构因素(图 3 及表 1)^[5]。

丝氨酸、苏氨酸在发生磷酰化反应生成五配位磷化合物时, 因侧链羟基的参与, 可发生异构化反应, 生成具有磷酸酯结构的五配位磷化合物。通过 ^{31}P NMR、 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 等分析可以确认异构化产物的结构。丝氨酸与 O,O-亚苯基磷酰氯生成的五配位磷化合物的异构化反应如图 4 所示。实验发现, 温度对异构化反应的影响非常显著, 在 -18 以下, 不发生异构化, 高于该温度, 则有明显异构化。20 时, 异构化产物可达 20%。但有机碱对异构化反应无影响^[6]。

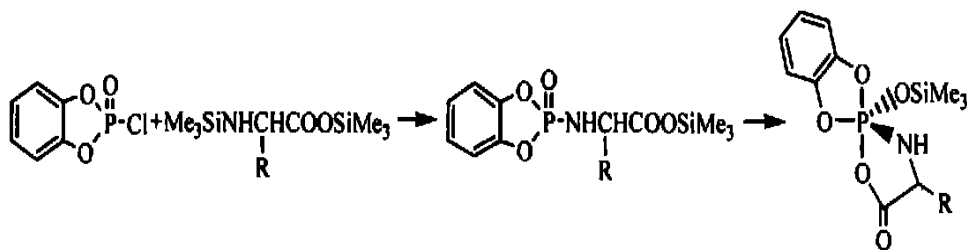


图3 O,O'-亚苯基磷酰氯与三甲硅基氨基酸生成五配位磷化合物的反应

Fig. 3 The reaction of O, O'-phenylene phosphoryl chloride with N, O-bis (trimethylsilyl) amino acids into penta-coordinated phosphorus compounds

表1 O,O'-亚苯基磷酰氯与三甲硅基氨基酸生成五配位磷化合物的 ^{31}P NMR 和速率常数*

Tab. 1 ^{31}P NMR data and rate constants of O, O'-phenylene phosphoryl chloride with N, O-bis (trimethylsilyl) amino acids into penta-coordinated phosphorus compounds

起始氨基酸	四配位磷酰化产物的 ^{31}P NMR	氨基酸五配位磷化合物的 ^{31}P NMR	生成五配位磷的速率常数/ 10^{-4} s^{-1}	$t_{1/2}$ / min
β 丙氨酸	22.6	/	/	/
脯氨酸	17.8	/	/	/
羟脯氨酸	18.1	/	/	/
甘氨酸	21.1	- 42.0 ⁱ	-	-
亮氨酸	20.8	- 45.1, - 45.6	3.6	32
酪氨酸	20.5	- 45.4, - 45.5	4.7	25
苯丙氨酸	20.6	- 45.3(d) ⁱⁱ	7.3	16
丙氨酸	20.7	- 45.4, - 46.0	8.5	13
蛋氨酸	20.9	- 44.8, - 45.4	13	9
丝氨酸	21.3	- 44.0, - 44.4	15	7
苏氨酸	22.7	- 42.1, - 43.4, - 44.1, - 44.9	20	5.8
天冬氨酸	21.0	- 44.8, - 45.4	16	7.2
组氨酸	21.8	- 45.0, - 45.2	38	3.0

* 通过 ^{31}P NMR 积分面积的变化, 半定量计算出的反应速率常数和半衰期

i 反应平衡时, 四配位与五配位磷化合物的比例约为 1 : 5

ii 低温下有细微裂分.

3 氨基酸进化为功能分子

当组氨酸与磷相连成 N-磷酰组氨酸时, 它成为可以切割 DNA 的功能分子^[7]. 而 N-磷酰丝氨酸在组氨酸的饱和溶液中, 于 -40℃ 放置 2 周之后, 也可以切割 DNA. 经过系统研究发现, 是反应生成的丝组二肽切割 DNA. 这是世界上首先发现的可以切割 DNA 的最小肽. 它的切割机理, 是通过三对氢键的结合及识别作用, 和 -OH 的亲核进攻磷而造成的结果(图 5). 由此可见, 由 α -氨基酸自组装能够产生功能分子.

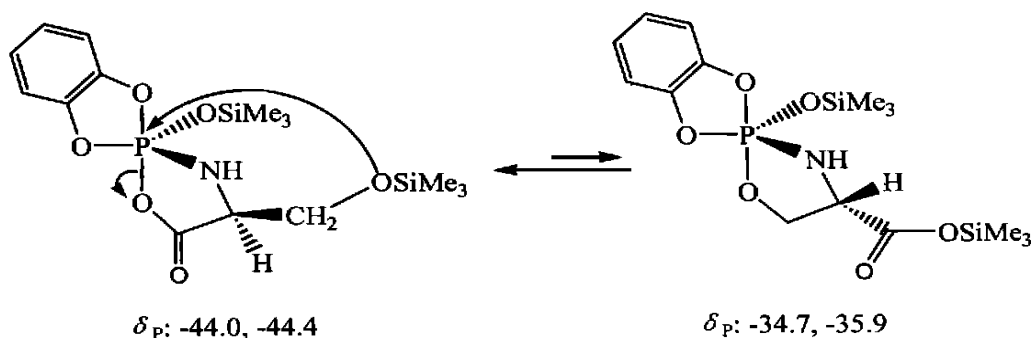


图 4 丝氨酸五配位磷化合物的异构化反应

Fig 4 The isomerization of penta-coordinated phosphoryl serine

4 高配位磷与识别

在生物化学中, 新陈代谢的循环及生物信号的传导过程中, 有机磷化合物占有十分重要的地位。几乎所有的细胞活动皆是靠蛋白可逆磷酸化来调节控制的。蛋白质的可逆磷酸化亦即是其氨基酸上侧链的磷酸化及磷酰基的转移问题。我们的实验发现, 磷酰基的转移与结构的关系十分密切, 它需要一定的方向及距离。方向不对, 或距离太远, 皆不能发生磷酰基的转移反应。在磷酰基的转位过程中, 磷原子的结构必须

从四面体转变为双三角锥或正八面体结构。这些过渡态的产生, 也要求方向及距离匹配。在反应的过程中, 磷原子从 sp^3 杂化升级为 dsp^3 或 d^2sp^3 杂化, 其中 d_z^2 , d_{xy} 及 d_{yz} 方向的键比较长, 比较弱, 是最易于发生反应的方向。就象碳化学中的 S_N2 反应, 五配位磷化学的反应也是进攻与离去基团成一条直线。在生化反应如蛋白可逆磷酸化中, 由于磷原子的杂化状态在 sp^3 、 dsp^3 、 d^2sp^3 之间的快速转化, 因而可以完成定向的生化反应。

对于识别作用, 氢键是一个十分重要的结构因素。我们发现, 当丝氨酸与 AMP、GMP、UMP (TMP) 及 CMP 形成磷酰胺类的缀合物时, 除了 AMP-Ser 外, 其它 4 种都会很快的发生自催化的磷酰转移反应。通过量子力学的半经验计算, 证明在 Ser-残基与 G、U、T、C 之间有两对氢键及一个 -OH (羟基) 牢牢地稳定住磷的五配位过渡态, 随后, 亲核试剂 (如蛋白上的其它侧链基团) 能够很容易地将磷酰基转移 (图 6)^[8]。

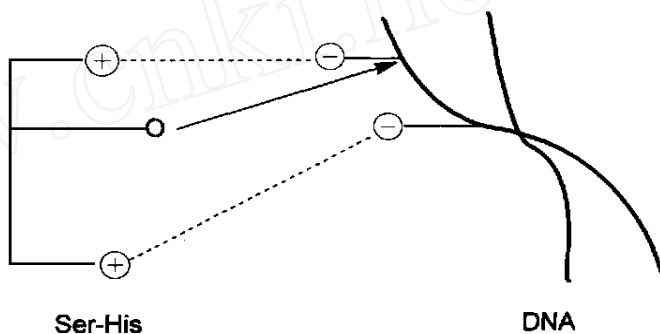


图 5 丝组二肽切割DNA 示意图

Fig 5 The sketch map of seryl-histidine dipeptide cleavage DNA

5 结论—分子结构、信息、指令、进化与自然选择

当 20 种 α -氨基酸与磷酸二酯键通过氨基成键时, 它们就成了一个自我进化的系统 含羟基的糖、丙三醇等能被它们磷酰化继而发生次级、多级瀑布式的反应 其中核糖被转化为核苷酸、寡聚核苷酸, 氨基酸转化为多肽或氨基酸、肽与核苷酸的缀合物 这些自发的现象无需酶或高能物质 ATP 的参与 这种合成反应是可逆的, 即核酸、蛋白等大分子也会被磷酰组氨酸及其产生的二肽切割

这些自发反应, 证明分子结构本身就带有信息, 能定向的推动自催化反应, 推动进化的方向 可见, 分子进化与化学选择及自然选择的依据是分子结构 例如磷酰- α -氨基酸是自己能激活自己的双位激活子, 它指挥了肽的定向合成, 同时指挥了核苷酸的 5' 3' 合成, 指挥了功能分子进化(图 7).

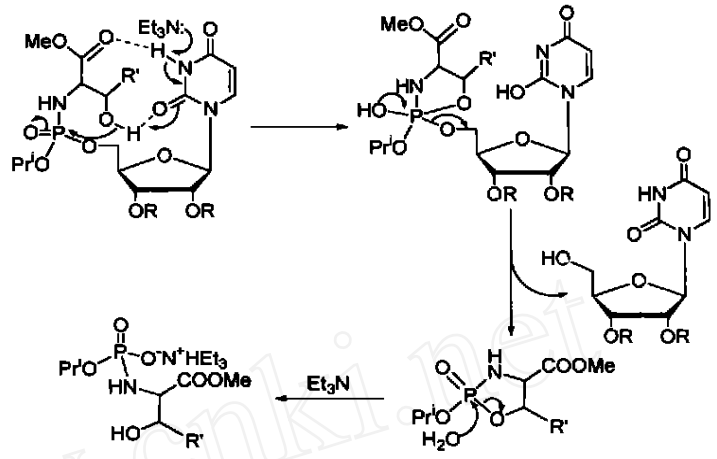


图 6 尿苷-5'N-磷酰丝氨酸甲酯、苏氨酸甲酯的磷酰基转移反应

Fig 6 The phosphoryl group migration of uridine-5'N-phosphoryl serine methyl ester and threonine methyl ester

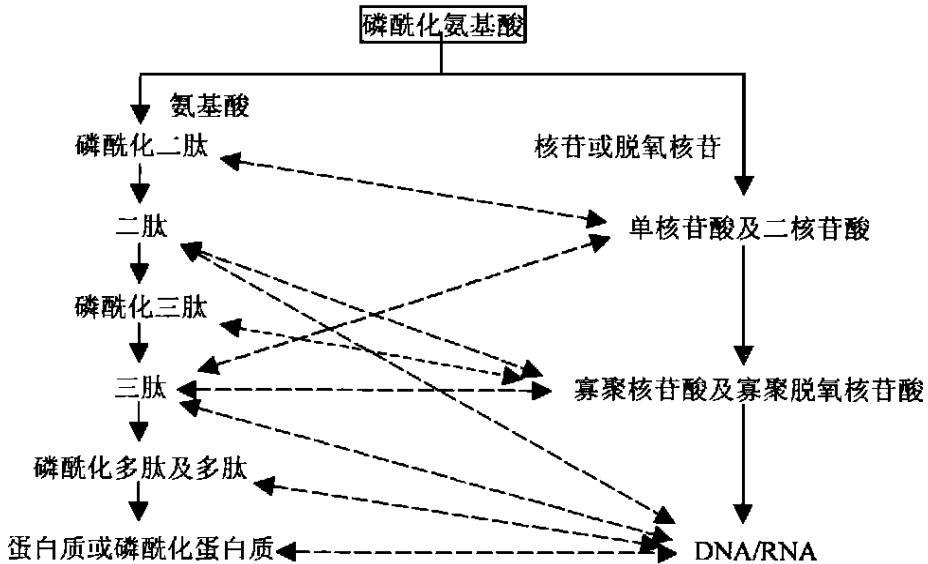


图 7 蛋白质与核酸的分子进化规律

Fig 7 The rule of molecular evolution for proteins and nucleic acids

α -氨基酸及核苷酸的五配位磷化学的基本规律, 为分子进化提供了一个新的视角, 尤其提出了新的生化机理, 更为合成化学开创了新的战略方法

致谢: 感谢国家自然科学基金委、教育部、科技部和清华大学对本课题的资助

参考文献:

- [1] Eigen M. Selforganization of Matter and Evolution of Biological Macromolecular[J]. Naturwiss, 1971, 58: 465- 523
- [2] Zhou Wei-Hua, Ju Yong, Zhao Yu-Fen, et al Simultaneous formation of peptides and nucleotides from N-phosphothreonine[J]. Origins of Life and Evolution of the Biosphere, 1996, 26: 547- 560
- [3] Chen Xin, Zhang Nan-Jing, Zhao Yu-Fen. Reaction kinetics of oxyphosphoranes with model compounds of nucleosides[J]. Bioorganic Chemistry, 1997, 25: 23- 31.
- [4] Fu Hua, Li Zhao-Long, Zhao Yu-Fen, et al Oligomerization of N, O-Bis(trimethylsilyl)- α -amino acids into peptides mediated by O-phenylene phosphorochloridate[J]. J. Am. Chem. Soc., 1999, 121: 291- 295
- [5] 王倩, 赵玉芬, 安逢龙, 等. 通过O,O-亚苯基磷酰氯与 α -氨基酸三甲基硅基衍生物的反应观察五配位磷[J]. 中国科学B辑, 1995, 25: 683- 688
- [6] Lu Kui, Tu Guang-Zhang, Guo Xiang-Fen, Zhao Yu-Fen, et al Structure and isomerization of O, O-phenylene penta-coordinated phosphoryl serine[J]. J. Org. Chem., submitted
- [7] Li Yong-Fang, Sha Yao-Wu, Ma Yuan, Zhao Yu-Fen, et al Cleavage of DNA by N-phosphoryl histidine[J]. Biochemical Biophysical Research Communication, 1995, 213(3): 875- 880
- [8] 韩波. 氨基酸-核苷酸缀合物的合成及性质研究[D]. 北京: 清华大学, 1999

Basic Chemical Rule of Molecular Evolution

ZHAO Yu-fen, LU Kui

(Key Laboratory for Bioorganic Phosphorus Chemistry of Ministry of Education:

1. Tsinghua University, Beijing 100084, China;

2. Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Peptides and nucleotides could be obtained by self-organizing from N-phosphoryl- α -amino acids in water or organic solvent. However, β -amino acids or γ -amino acids could not take place the similar reactions in the same conditions. It was found that the characters of phosphorus chemistry decided on the character of the molecular structure. The penta-coordinated phosphorus compounds had the single chemical selectivity for α -amino acids and ribose. The chemical selectivity accelerated the natural selective

Key words: molecular evolution; selective; amino acid; penta-coordinated phosphorus; self-organization