

化学生物学与生命起源

赵玉芬

(清华大学化学系,教授、博士生导师、中国科学院院士 北京 100084)

〔摘要〕 化学生物学在探索生命起源上发挥着巨大的作用,涉及化学进化过程的各个领域。本文简要介绍了化学进化过程中几个关键问题的研究现状和进展,着重强调了磷在化学进化过程中举足轻重的作用,并希望以磷为突破口来探索生命起源中的关键问题。

〔关键词〕 化学生物学 生命起源 磷 核酸 蛋白质

〔中图分类号〕 Q5 Q7

生命起源是现代科学 3 个前沿问题(天体演化、生命起源、基本粒子理论)之一,其研究内容包括地球和地外星球由非生命物质变为原始生命的过程,以及利用人为方法模拟原始条件重现这一历程,有助于认识生命发生和发展的规律,控制生物遗传,具有重大的理论意义和现实意义。

化石年龄的研究表明,生命早在 35 亿年前已经存在。生物进化从那时开始一直延续到人类的出现,而人类的出现是在约 400 万年前。我们研究的重点选择在生物进化之前的化学进化过程。化学进化是指从原子到分子生物大分子的进化过程,发生在距今 38 亿年前。在仅仅 3 亿年的时间,宇宙的生命进化就完成了其最基本的一步历程,这深深地吸引着无数化学和生物学家的兴趣。几十年来,科学家们在探索生命起源的问题上取得了一系列突破性的进展。1953 年 Miller 在实验室中首次模拟了原始大气中合成氨基酸的反应;同年 4 月沃森和克里克提出的 DNA 双螺旋模型轰动了整个科学界;1966 年 64 种遗传密码子全部被破译……这些都为以后的研究工作打下了深厚的基础。

化学生物学在探索生命起源上发挥着巨大的作用,涉及化学进化过程的各个领域。本文就化学进化过程中膜的起源、t-RNA 的起源、遗传密码子的起源、核酸与蛋白的耦合、磷在生命起源中的重要作用等几个关键问题,简要介绍相关研究的现状和进展;尤其是强调了磷在化学进化过程中举足轻重的作用,如为什么 DNA 和 RNA 都采用磷酸二酯键作为基本骨架;为什么生命体中磷元素的含量大大高于环境;磷与手性起源的密切关系。诺贝尔奖获得者 Todd 教授提出“哪里有生命,哪里就有磷”^[1],哈佛大学的 Westheimer 教授也提出了“为什么大自然选择了磷”的问题^[2]。因此,我们希望以磷为突破口来探索生命起源中的关键问题。

出。在这一模型当中,磷脂构成酯质双分子层,蛋白质流动镶嵌在磷脂双分子层的表面^[3]。在后期的研究中,Danielli 又提出与磷脂双分子层相结合的蛋白质以 β -form 存在,并且蛋白质中氨基酸疏水侧链隐藏在膜结构的酯质部分。

2. Wallach 和 Zahler 模型 Wallach 和 Zahler 在 1966 年提出具有主导地位的膜蛋白结构模型^[4]。这一新模型就是著名的流动镶嵌模型。Danielli 和 Davson 模型中提出的磷脂双分子层被保留,但是新模型中蛋白质分子以两种形式(内在蛋白和外在蛋白)存在于磷脂双分子中。而这些蛋白分子的构象以跨膜的 α -helices 形式存在。接下来的问题是关于膜的起源、磷脂和膜蛋白哪个先出现。

3. 脂肪酸模型 最新的膜起源模型提出,原始海洋中可能通过 Fischer-Tropsch 反应利用二氧化碳、一氧化碳和水进行脂肪酸的积累。如果烷基侧链具有相当长度,这些脂肪酸可能会自发地形成酯质双分子层,由此生成最原始的膜结构。磷脂双分子层的产生可能是后期的一个变化过程。但是这一观点的最大争议点是,该膜结构在金属离子(如钾)和单体(如氨基酸)中相对不稳定。事实上,如果这种膜结构中出现蛋白质和聚核苷酸,就会引起膜的破裂。原因在于这种膜对水具有渗透性,渗透压会导致囊泡的破裂。

4. Orgel 模型 针对以上问题,Orgel 于 1987 年提出了以聚合多肽为基础的另一种模型^[5]。根据 Orgel 提出的模型,原始膜由多肽组成,这些多肽则由疏水-亲水交替的氨基酸聚合连接而成;而氨基酸通过一些简单的聚核苷酸编码生成。Brack 和 Orgel 在 1975 年通过实验研究疏水-亲水交替的氨基酸正交聚合。实验表明,聚 leu-lys 在盐溶液中能够通过疏水基团成簇形成不对称的内部疏水而外部亲水的双分子层^[6]。

一、膜的起源

1. Danielli 和 Davson 模型 早期极具影响力的细胞膜的模型由 Danielli 和 Davson 于 1935 年提

二、t-RNA 的起源

科学家们试图通过 t-RNA 的进化来探索遗传密码的起源和进化,提出了以下几种模型。

1. Hartman 模型 1984 年 Hartman 提出 t-RNA 的前体是一种小的寡聚核苷酸亚单元^[7],这一结构由一个环结构和 5 个碱基的双螺旋线状结构构成。这可以引申出 t-RNA 的三叶草结构可能是其几个更小前体的结合。

2. RNA 微螺旋模型 利用甘氨酸或丙氨酸对微螺旋状物和对小限度四环状物进行酰化的研究提出了更小的 t-RNA 前体。“t-RNA 分子可能从 RNA 微螺旋的进一步区分和修饰衍生出来”^[8]。

3. Schimmel 模型 根据以上观点, Schimmel 于 1993 年提出,目前 t-RNA 分子的两个 domain 起源于环状头线状尾的寡聚核苷酸,并且这种寡聚核苷酸最终聚集在一起形成 t-RNA 分子 L 型结构^[9]。

三、遗传密码的起源

1. 图表扩充模型 1975 年提出的图表扩充模型假定最早的密码是(GC)码,对应氨基酸的情况是 glycine (GG)、Proline (CC)、alanine (GC)、“arginine”(CG)。(GC)码引入 A 后进化成(GCA)码,对应的氨基酸也增加了 glutamic acid, aspartic acid, glutamine, asparagine, lysine, histidine, threonine, serine。最终引入 U 构成(GCAU)码,对应的氨基酸也增加了 valine, leucine, isoleucine, methionine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan, cysteine^[10]。

2. 最古老的氨基酸 有文献提出在早期的遗传密码中,在精氨酸之前存在更简单的基本氨基酸,如鸟氨酸^[11-12]。1994 年 Hartman 提出了更原始的基本氨基酸前体是 β 丙氨酸^[13]。精氨酸的另一种前体可能是 guanidinoacetic acid。

3. 最古老的多肽 如果原始的多肽是疏水-亲水端交替的聚合肽,那么最简单的由(GC)码决定的交替多肽聚合物是由 GC-引导的丙氨酸和由 CG-决定的精氨酸。这可能是最早的膜,并且可能具有很多功能。例如,1973 年 Woese 预测“原始核苷酸的复制包括一种特定的多肽来建立一个‘增长点’,这种多肽有基本的交替氨基酸残基”。聚合多肽可能是丙氨酸和精氨酸的共聚物,并由 C 和 G 的共聚物编码。Woese 在 1973 年也提出丙氨酸和精氨酸共聚物在某些矿物的表面聚合生成^[14]。另外,既然原始的遗传密码包括 GG,对应甘氨酸,并且由 CC 作为甘氨酸的反密码子,那么甘氨酸低聚物可能也是一种原始的多肽。甘氨酸和其反密码子 CC 之间的耦合可以由被称为最终氨基乙酰 t-RNA 聚合酶来调解。这一过程可以在陶土的表面和边缘进行。精氨酸在蒙脱土上的聚合经实验得到证实。Lawless 和 Levis 在 1979 年的实验中^[15],采用含有铜离子的蒙脱土合成了含有 5 个精氨酸片断的低聚物。实验采用干燥-加热-浸湿循环处理反应体系。通过实验得出

“岩石矿物中的金属离子在地球原始生命起源中应该起相当重要的作用”。与此同时,由蒙脱土催化的活性核苷酸聚合成聚核苷酸成为一个十分活跃的研究课题。总之,岩石的表面和边缘对于氨基酸和核苷酸的聚合都是很好的反应介质。

4. 最年轻的氨基酸 Jurka 和 Smith 于 1987 年提出,最年轻的氨基酸应该是定位在遗传密码中尿嘧啶的附属物之后出现。这些年轻的氨基酸大部分是没有极性并且在四面体结构的球状蛋白的形成中起着至关重要的作用^[16]。有趣的是,这一密码模型的进化是以 β -turn 的进化为基础的。

四、核酸与蛋白的耦合

1. 原始 t-RNA 对氨基酸的识别 从某种情况上讲,最早的遗传密码可能是鸟嘌呤低聚物,对应甘氨酸低聚物;并且原始 t-RNA 对谷氨酸的识别具有很重大的意义。那么,这一过程是怎样发生的呢?

2. 蒙脱土上的反应 人们发现了一种来自于聚合物 cytosine-glycyl-glycyl-copper(II) 有趣共结晶^[17]。最早的遗传密码可能从甘氨酸和铜离子与胞嘧啶相互作用开始,其中胞嘧啶在含铜离子的蒙脱土的边缘线性排列并聚合。胞嘧啶聚合物可以为鸟嘌呤的聚合提供模板。GG 和脯氨酸的相互作用可以通过铜离子和锌离子调控,随后可能在矿物岩石边缘和表面以胞嘧啶聚合物为模版进行聚合。

五、磷在生命起源中的重要作用

现阶段很多有趣的科学发现,都预示着太阳系以及其它天体环境中含磷化合物的研究具有广阔的前景,并且将为生命起源的探索提供相当的依据。然而,这一点是大家所忽视的。

鉴于可能针对来自火星的微生物化石进行观察,我们期望利用磷尤其是那些一直记录着火星上各种变化的沉积性钙磷化合物,作为一种很有潜力的探针来寻找地球上已经灭绝的生命^[18]。事实上,利用包含有 C 同位素的磷灰石矿物,已经搜寻到可能是地球上最古老生物的痕迹^[19]。

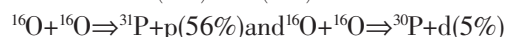
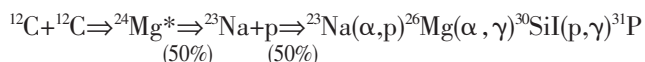
尽管磷元素在天体中属于微量元素,但含磷化合物在生命体系中却以更高的丰度存在。在生命体中,磷具有很多基础生化功能,例如生命信息的存储和传递、能量传输、膜结构、信号传导等。

1. 磷的原始来源

(1)核反应 通过比较合成 H、C、O、N、S、P 的核反应过程,我们发现合成磷的过程是特殊的。首先,磷原子核的生成只在极少数具有足够大质量来燃烧 C、Ne 燃料的天体上进行。其次,许多可能产生磷核的反应中,磷的产率很低(组合产率 2.5%)。这也

表 1 Nucleosynthesis of the biogenic elements

Element	Source	Process	Rank
H ¹	Big-Bang	Primordial nucleosynthesis	1
He ²	Big-Bang and H-burning	Prim.synthesis. p-p and CNO cycle	2
O ⁸	He-Burning	Alpha-capture: $^{12}\text{C}+\alpha\Rightarrow^{16}\text{O}$	3
C ⁶	He-burning	Triple-alpha process: $3\alpha\Rightarrow^{12}\text{C}$	4
Ne ¹⁰	C-burning	Alpha-capture: $^{16}\text{O}+\alpha\Rightarrow^{20}\text{Ne}$	5
N ⁷	H-burning	CNO cycle	6
S ¹⁶	O-burning	$^{16}\text{O}+^{16}\text{O}\Rightarrow^{28}\text{Si}$ $^{28}\text{Si}+\alpha\Rightarrow^{32}\text{S}$	10
P ¹⁵	C and Ne-burning	Many processes	17



解释了为何磷在主要的生命元素中含量较低。

(2) 环绕天体区间和星际空间的磷 人们对环绕在天体和星际空间的磷的化学性质知之甚少。尽管如此,与其它主要的生命元素相比,磷具有不同寻常的地位。磷在宇宙空间的含量丰富,在宇宙中所用元素中丰度处于第 17 位^[20]。目前,星际空间中只探测到了 PN^[21] 和 CP^[22]。另外,PH₃ 存在的可能不大,也没有探测到 PO^[23]。然而,PO 从能量角度^[24]曾经被预测为星际空间磷的主要存在形式。这可能是由于观测的偏差所引起,因为在探测含碳丰富的天体时,其中氧主要以 CO 的形式存在。

(3) 陨石中的磷 球粒状陨石、石铁陨石、月球样品和火星陨石矿物组成的测定表明,磷虽然稀少但却普遍存在于太阳系内部。有趣的是,SNC (Shergotty, Nakhla and Chassigny) 陨石中磷的含量比其它种类陨石和地球岩石都高。尽管这些样品不能代表所有的星体,但是在未来探索火星的任务中对它的求证将是很有意义的。

因为 S 和 Si 信号的干扰,对于火星表面含磷的直接元素分析是不准确的。现阶段对火星元素的分析是依靠分析 SNC 系列陨石,结果如下表所示。

表 2 Chemical composition of the SNC meteorites

	Shergotty	EETA 79001A	EETA 79001B	ALHA 77005	Nakhla	Chassigny
'P205' (wt%)	0.80	0.54	1.31	0.36	0.103	0.058

(4) 彗星中的磷 对可能来自彗星的星际尘粒中磷阴离子 PO₂⁻ 和 PO₃⁻ 以及磷酸盐矿物的监测,揭示了彗星可能含有相当比率的磷元素,至少和太阳中的含量相当。由此判断,尽管在彗星中磷元素以何种形式存在还不是很明确,但是验证彗星尘埃颗粒中心内磷的氧化物和磷酸盐的存在将是极具挑战性的工作。

(5) 烷基磷酸同系物 研究烷基磷酸同系物时发现,参与前生物化学过程的有机磷化合物主要是通过星球和陨石的撞击被运输到原始地球的。与此

相似的是,地球上大部分水和挥发性物质也是通过彗星撞击而汇合成一体的。

(6) 地壳中的磷 地壳中现有磷元素的总质量约 8×10²⁰g,在所有元素中排第 11 位。在火山岩、变形岩和沉积岩中都含有丰富的磷。科学家曾经计算出,在后期增长阶段,被原始地球捕获的彗星和陨石可能贡献了相当于总质量 10% 的磷,这可能提供了一种含磷化合物向地球原始运输过程的假想。尽管磷可能同时以正三价和正五价的状态存在,但在地球岩石圈中磷几乎全部以磷酸盐 PO₄³⁻ 存在。

表 3 Modern reservoirs of phosphorus in the Earth's crust (adapted from Van Capellen and Ingall, 1996)

Reservoir	Mass content (g)
Igneous and metamorphic rocks on land	4.3×10 ²⁰
Marine sedimentary rocks	3.9×10 ²⁰
Oceans	6.3×10 ¹⁶
Total P content	8.2×10 ²⁰

上表是磷在地球上存在的情况。值得一提的是,陆地岩石和海底岩石磷的含量相近,而海洋磷的含量较前两者较少。尽管表中没有明确指出,但是预测中(我们设想 C 的质量是 10¹⁸g)地球生物圈中捕获磷的总量大约应是 4×10¹⁶g。

(7) 前生物条件下的磷酸化 前生物条件下的磷酸化可能不是发生在开放的海洋中,而是在矿石的表面或特定环境下的固定区域中进行的。磷的后期增加过程伴随着水、氨、甲烷和许多其它的有机或无机化合物,这些物质可能参与并促进最初生化分子的合成,这个事实也支持了以上的思想。前生物进化中的磷酸化和多聚核苷酸的合成,可能分别在磷矿石和陶土的表面进行。这两个过程在局部的环境中进行,最终引发了地球上生命的出现。

1964 年,Miller 和 Parris 在低温下(35℃)成功地模拟了前生物磷酸化过程。他们利用羟磷灰石和氰酸钾盐得到了 27% 的焦磷酸盐,以及少量三磷酸盐(大约是焦磷酸盐的 5%)。据此,氰酸盐和磷酸盐可以在磷灰石表面适当合成氨基甲酰磷酸盐,其产物可以继续和其它磷酸盐反应生成焦磷酸盐。

结合其它的一些实验我们可以得出,羟磷灰石、磷酸盐、铵盐都可能参与了局域环境中的磷酸化反应。正如 Charles Darwin 在给 Hooker 的信中所预见的,“所有的铵盐和磷酸盐都是不同寻常的”。根据这样的思想,如果核苷酸是在蒸发的池塘和矿石的表面进行磷酸化的,那么同样在这些环境中核苷酸可以在粘土和其它矿石的表面缩合成相当长度的核酸,从而进行分子的原始复制。

(8) 生命体中的磷 生命体能量传输系统进化的前期过程中,耦合放能和吸能反应的作用某种程度上是由无机磷酸盐来体现的,该作用主要与相应生物体中的 ATP 有关^[25,26]。生物化学研究揭示了磷在生命系统中的巨大作用(能量转化、复制等),而

这些功能是其它无机化合物无法代替的^[27]。

(9) 展望 为了验证前生物过程中原始地球上含磷化合物是否由陨石和彗星携带而来,可以从以下几个工作展开研究:①在星际空间中探测具体的含磷基团,主要探测在富氧天体的星际空间中的 PO 和 PO₂ 以及巨大的密集分子云中的 HCnP 或 HPhN;②在将来的彗星探测飞船上装备高性能的质谱设备,来同时监测磷的氧化物和有机磷化物^[28];③准确细致地对原始彗星样品进行元素组成分析,通过分析结果很有可能证实前生物期间这种含磷酸盐或焦磷酸盐的颗粒的存在;④从理论的观点出发,努力建立中的前生物磷酸化进化模型^[29,30]将使我们对焦磷酸盐及其它活性含磷化合物在生命系统早期突出的催化作用有进一步的了解。

2.磷与生命小分子

(1) 磷与氨基酸的形成 1974 年在木星大气层中探测到 PH₃^[31],并认为其可能是原始大气混合物组分之一。基于这一发现提出了 PH₃ 可能是合成生命的基础分子所必需的磷的来源,并且在原始地球的进化过程中起重要作用。1983 年王文清和 Kobayashi Kensei 在 Ponnampereuma Cyril 实验室用 CH₄、N₂、NH₃、H₂O、PH₃ 组成的混合气体进行了氨基酸的前生物合成^[32-34],并与不含 PH₃ 的 CH₄、N₂、NH₃、H₂O 气体放电作了对照。用气相色谱鉴定出含 PH₃ 的体系放电后产生 19 种氨基酸,而不含 PH₃ 的 CH₄、N₂、NH₃、H₂O 体系在相同的放电条件下只产生丙氨酸、甘氨酸、天冬氨酸等 6 种氨基酸(表 4)。由表 4 可知,几乎所有形成蛋白质的氨基酸都生成

表 4 PH₃ + N₂ + CH₄ + NH₃ + H₂O 体系火花放电后氨基酸产量

峰	氨基酸	P-1 产量 /nmol	P-2 产量 /nmol	N-2 产量 /nmol
1	肌氨酸(Sarcosine)	230	2700	—
2	丙氨酸(Alanine)	57	540	18000
3	α-丙氨酸(α-Ala)	75	—	—
4	缬氨酸(Valine)	44	—	34000
5	甘氨酸(Glycine)	970	6700	5800
6	β-氨基丙酸(β-APA)	6	120	20
7	异亮氨酸(Isoleucine)	73	280	—
8	亮氨酸(Leucine)	59	55	—
9	N-亮氨酸(N-leucine)	100	140	—
10	脯氨酸(Proline)	32	110	—
11	苏氨酸(Threonine)	110	79	—
12	丝氨酸(Serine)	1000	63	—
15	天冬氨酸(Aspartic acid)	160	280	11000
17	苯丙氨酸(Phenylalanine)	46	160	—
19	谷氨酸(Glutamic acid)	250	260	100
22	α,β-二氨基丙酸(α,β-DAPA)	74	44	—
24	酪氨酸(Tyrosine)	5	—	—
26	鸟氨酸(Ornithine)	610	250	—
27	赖氨酸(Lysine)	31	110	—

注:P-1,P-2 气相为 CH₄ 和 N₂,均为 26.7 kPa;PH₃ 为 (4.00~9.33)kPa;水相 100mL,NH₄⁺ 50 mmol/L,pH 8.0~8.7;温度 60℃,火花放电 24h;N-1 气相不含 PH₃,其它条件相同

了。这一结果表明:磷可能在生命起源中早期的有机物合成阶段对氨基酸的形成起重要作用,PH₃ 可能是化学进化过程中气相和水相中的催化剂。

(2)碱基的形成 嘌呤和嘧啶是构成核酸的重要碱基。这些化合物已经通过复杂的有机化学方法(非生物途径)合成了。Fox 和 Harada 将苹果酸、尿素、聚磷酸混合,加热到 100~140℃,获得尿嘧啶^[35]。聚磷酸的量增大则尿嘧啶的产量增大。在他们的工作中,第一次引入了原始地球上可能存在的聚磷酸试剂,研究了其对核苷碱基形成的影响。

(3) 磷与核苷的形成 核糖和碱基结合形成核苷,是导致生命起源的一个重要步骤。Ponnampereuma 等在 1963 年做了利用紫外线形成核苷的尝试^[36]。将 ¹⁴C 标记的腺嘌呤及核糖的稀溶液与磷酸或乙基偏磷酸盐放在一起,用紫外线(253.7nm)照射,证实生成了腺苷。值得提出的是,没有磷酸存在时,不产生腺苷。可以说,腺苷的形成必须在磷酸或磷酸盐的存在下才能发生。Ponnampereuma 和 Kirk(1964 年)报告^[37],用光照腺嘌呤和脱氧核糖的稀溶液合成了脱氧腺苷。同样,在没有磷酸存在的情况下,不生成腺苷;而在有磷酸存在时,通过紫外线(253.7nm)的作用以 5% 的收率产生了脱氧腺苷。1962 年, Schramm 等用多聚磷酸做缩合剂,在二甲基甲酰胺溶液中使腺嘌呤与脱氧核糖缩合成脱氧核糖核苷^[38]。1963 年,Carbon 在不同体系中研究了聚磷酸在核苷合成中的作用^[39]。在有机体系中,合成产率高达 50% 以上,但在水溶液体系中合成产率极低。

(4) 核苷酸的形成 核苷上核糖和脱氧核糖磷酸化后即得到核苷酸。Ponnampereuma 和 Mack(1965 年)将腺苷、鸟苷、胞苷、尿苷及胸苷和各种磷酸盐加热到 160℃时,发生了核苷的磷酸化^[40]。Beck 等^[41](1957 年)将尿苷和无机磷酸盐在 65~85℃长时间加热,得到了 5'-磷酸尿苷、2'(3')-磷酸尿苷及二磷酸尿苷。Lohrmann 和 Orgel^[42](1968 年)在有 H₂PO₄⁻ 离子存在的条件下,通过氰(NC-CN)、氰酸离子、氰胺(CA,NH₂-CN)、双氰胺(DCDA,NH₂-C(NH)-NH-CN)、水溶性碳二亚胺等缩合剂的作用,将尿苷磷酸化,以 1~4% 的收率得到 5'-磷酸尿苷(UMP)。

Ponnampereuma 等(1963 年)用紫外线(253.7nm)照射腺嘌呤及核糖的稀溶液与磷酸或乙基偏磷酸盐的混合物时,除了生成腺苷外,还形成了 AMP、ADP、ATP、A₄P^[36]。据 Schram 报道^[43],用于产生核苷及核苷酸的乙基偏磷酸盐是特殊的聚磷酸酯。Schwartz 和 Ponnampereuma(1968 年)将腺苷和直链的聚磷酸盐放在水溶液中加热,得到了 2'、3'及 5'磷酸腺苷^[44]。这种聚磷酸盐由于能在很宽的 pH 范围内将各种核苷磷酸化,所以被认为可能是原始地球上的一种磷酸化试剂。Weanheldt 和 Fox(1967 年)让腺苷、鸟苷、尿苷、胞苷、脱氧胞苷及胸苷和聚磷

酸在 0~22℃ 的温度下进行反应,总计以 25%~45% 的收率将核苷磷酸化^[45]。

尽管很多科学家认为不溶性和极低的反应性使得原始地球上最丰富的含磷矿物质难以作为好的磷酸化试剂,但 Miller 和 Parris 却发现焦磷酸可以在石灰石表面通过与 CN-加热反应生成^[46],故推论可由不溶性和反应性极低的磷酸盐生成聚磷酸而参与核苷的磷酸化反应。这个推论不久后得到了证据。无机环三聚磷酸(Trimetaphosphate)与核苷反应 4 天得到很高产率的 2'-和 3'-核苷酸^[47]。Yamagata 等在 1991 年证明火山的活动可以产生大量的聚磷酸^[48],这就证明了环三聚磷酸在原始条件下有可能存于地球表面。聚磷酸这种高反应能力,使许多从磷酸转化为聚磷酸的途径被提出来^[49,50]。Etaix 和 Orgel 对环三聚磷酸与核苷反应作了比较深入的研究,发现脱氧核苷与环三聚磷酸在 25℃ 碱性溶液中反应,能获得 10%~40% 的三磷酸脱氧核苷;但在同样条件下与核糖核苷反应,则只得到少量三磷酸核苷。Tsukako 等后来的工作证明,核糖核苷远比脱氧核糖核苷易磷酸化,且 2'-,3'-核苷酸的生成几乎是等量的^[51,52]。反应首先形成少量的 2',3'-环状磷酸核苷,后被水解成 2'-,3'-单核苷酸。聚磷酸在原始地球上的确存在且能够磷酸化核苷、糖^[53,54],所以说它是前生源条件下最可能的磷酸化试剂。Rabinowitz 1969 年的工作和 Yamanaka 等 1988 年的工作证明了在所有火山活动产生的多聚磷酸中,环三聚磷酸是最有效的缩合和磷酸化试剂^[55]。

3. 磷与生命大分子

(1) 磷与肽的形成 氨基酸脱水缩合连接,这个过程是自由能增加的过程(图 1)。不加入能量,肽的合成反应就不会自发地进行。现代有机化学合成肽,是通过将不参加连接反应的氨基、羧基以及具有活性的侧链全部保护起来,进行缩合反应完成。反应中要经过羧基活化一步。在肽的生物合成中也存在羧基活化这一过程。然而,在原始地球条件下,要有意识地对氨基和羧基进行保护根本是不可能的,这种偶然性的几率也非常小。

在原始地球上可能存在的一些脱水缩合剂如聚磷酸盐,可促进水溶液中肽的形成。Fox 将聚磷酸引入到氨基酸的缩聚合反应中,把磷酸加热到 200℃、250℃、300℃、350℃ 时所产生的聚磷酸用于氨基酸的缩合。聚合反应一般在 100℃ 条件下进行,即使温度在 65℃ 情况下也可以发生氨基酸聚缩合^[56]。这里的磷酸显然是“起脱水剂、溶剂和催化剂的作用”。但在同样条件下,浓 H₂SO₄ 却不能促进氨基酸的聚缩合,这从生物进化观点看来是很有趣的。

水的存在从热力学角度讲并不利于氨基酸聚

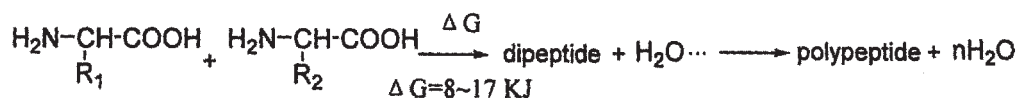


图 1 氨基酸脱水缩合形成肽

合成肽反应的自发进行,但有利于反应物的输送,且可以使生成的产物免除太阳辐射的损伤,所以在水溶液中发生的氨基酸缩聚反应具有更重要的生物意义。

Feldmann 和 Rabinowitz 分别于 1969 年将聚磷酸用于水中氨基酸缩合反应^[57]。他们发现,用环状三聚磷酸(trimetaphosphate)处理甘氨酸和 α-丙氨酸能得到比较理想产率的二肽。Rabinowitz 将这个反应扩展至合理的前生源条件(稍偏碱性,低温,低浓度)^[58],同样也获得了满意的结果,最佳反应条件为 pH 7.5~9.5,70℃ 下,反应 70 小时,二肽产率可达 35%。基于实验结果,他俩提出了一个经由酰基磷酸酯中间体的成肽途径^[57,59]。这个中间体(图 2)由氨基酸的羧基进攻环三聚磷酸上磷原子得到。更早期的工作中发现的磷酸羧酸混酐能与氨基酸反应形成肽键的事实,从一个侧面支持了他们的猜测。

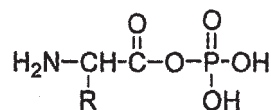


图 2 Feldmann 和 Rabinowitz 提出的环三聚磷酸成肽反应的混酐中间体

但是,Chung 等对此反应进行的更深入的研究^[60]发现了下列事实。①三聚磷酸与羧基反应缓慢,但与氨和烷基胺反应很快并形成开链的磷酸胺化合物(phosphorimidate)^[61]。②在甘氨酸与三聚磷酸的反应产物中测到了 N-磷酸甘氨酸、N-磷酸甘二肽、N-磷酸甘氨酸三肽^[60]。因此,他提出了成肽反应的途径是最初应经历氨基酸上氨基亲核进攻磷原子形成磷酸胺类化合物,而不是羧基进攻磷形成酰基磷酸酯(图 3)。肽的产率与体系的 pH 有关,较低的 pH 使氨基酸以两性离子存在而减弱了氨基的亲核性,两价金属由于对环三聚磷酸上负电荷有中和作用而增大磷的亲电能力。有实验报道在 DMF 中反应的环状三聚磷酸(trimetaphosphate)和 9 种氨基酸反应可得到聚合度高达 12 的寡肽^[62]。

Chung 等在 20 世纪 70 年代提出的反应机理,在 20 世纪 80 年代得到了证实。HPLC 和 NMR 是证实这个机理的有力分析手段。Tsuhako 等的工作证实了 N-磷酸氨基酸和五元环的混酐中间体(图 3)存在于三聚磷酸与氨基酸的反应体系中^[63-65],而且还证实了所有氨基酸均能与三聚磷酸反应生成磷酸胺或三聚磷酸胺,用醋酸与三聚磷酸在同一条件下反应,结果表明不可能发生羧基对磷的进攻反应。这就证明了 Chung 在早年提出的猜想是正确的。尽管他们均在实验中发现 β-丙氨酸不能给出

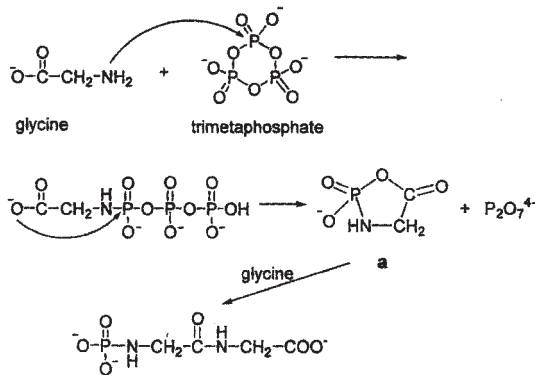


图3 经过五元环混酐中间体 a 的
环三聚磷酸成肽反应历程

肽,但均未给出合理的解释。虽然当时并没能确定原始地球环境是否存在聚磷酸,但 Hulshof 和 Ponnamperna 在 1976 年就认为无论是从化学的观点,还是从生物学的观点,线状和环状聚磷酸都应该是原始地球上最可能的一种缩合剂^[66]。

(2) 核酸的前生物合成 前生物合成 (Prebiotic Synthesis) 是指在原始地球的条件下,在生物出现以前,所有可能的非生物过程的自然合成。从单核苷酸到 DNA、RNA 是化学进化的一大步。在前生物条件缺乏酶的情况下,大自然怎样积累一定数量的单核苷酸,以什么样的方式进行聚合反应,一直是生命起源中一个非常令人感兴趣的问题。理论上讲,核酸的前生物合成是指由单核苷酸聚合先形成寡核苷酸,再由寡核苷酸进一步脱水缩合形成多核苷酸,最终进化到核酸大分子。到现在为止,模拟原始地球条件探索单核苷酸可能的聚合方式大致可以分为 3 类:一是对单核苷酸的加热或光照聚缩合;二是在水溶液中前生源条件可能的缩合剂存在下,单核苷酸的聚缩合;三是各种可能的模板指导下的活化单核苷酸的聚缩合反应。

① 单核苷酸的加热或射线引发聚缩合。Schramm^[67,43]使用乙基偏磷酸盐,在 50℃ 下使核苷酸进行聚缩合,以大约 20% 的产率获得聚核苷酸。Schwartz 和 Fox (1967 年)^[68]在 65℃ 将 5'-磷酸胞嘧啶核苷和其它核苷的混合物放在聚磷酸中加热时,得到平均聚合度为 5.6 的寡核苷酸,其中 50%~60% 是以 2'-5'及 3'-5'磷酸二酯键形式存在。这个实验的关键是聚磷酸,聚磷酸是热聚反应很好的缩聚催化剂。虽然许多人怀疑原始地球是否能积累聚磷酸,但是也有人认为,积蓄在局部地区(特别是火山区)的磷酸,由于火山活动释放的热能有形成聚磷酸的可能性^[55]。关于尿苷酸的热聚合问题, Moravek 等发表了许多研究报告^[50]。他们将 5'磷酸尿苷酸加热到 160℃ 后,得到齐聚物,核苷酸间的结合大体上是 2'-5'及 3'-5'。1962 年, Contreras^[69]用 γ -射线照射核糖核苷酸水溶液时发生了聚合。

② 缩合剂存在下核苷酸的聚缩合。这类反应多采用咪唑和氰胺为脱水缩合剂。氰胺类缩合剂已被用于在水溶液中生成糖的磷酸酯及肽键。用这些试剂合成核酸时,大概是合成寡核苷酸的一种方法。Steimann 和 Capolupo^[70]根据地质学观点认为,原始地球上生成了这些东西。由于咪唑和氰胺可在原始地球上由非生物途径形成,故这类反应具有比较重要的前生物意义。这类反应的温度都较低(60℃~100℃),可由高岭土^[71]和多聚鸟氨酸催化,反应时间很短(18h~40h),可获得 2~10 聚体的聚核苷酸^[72]。

③ 咪唑基磷酸化核苷的缩合及模板指导下的合成。由单体核苷酸的聚合反应生成寡核苷酸的研究中,使用最多的是咪唑活化的单核苷酸的衍生物 (ImpA, adenosine-5'-phosphorimidazolide 及其 G、C、U 的类似物 ImpG、ImpC、ImpU),即在单核苷酸的 5'-磷酸上接上咪唑基团,以取代现代生物合成中的三磷酸腺苷的形式。Lohrmann 讨论了这类衍生物的前生物合成途径^[73]。ImpA 可由腺苷 5'-多聚磷酸 (adenosine 5'-polyphosphate) 或 P1、P2-二腺苷二磷酸 (P¹, P²-diadenosine diphosphate, A^{5'}ppA) 与 Mg²⁺ 及咪唑的混合物在适当的温度下生成。能量从原先的聚磷酸盐 (p_nA, n ≥ 3), 例如 ATP 中,转移到咪唑磷酸衍生物中。而 p_nA 可能由单核苷酸 5'-AMP 与环三聚磷酸 (trimetaphosphate) 反应生成 (图 4)。

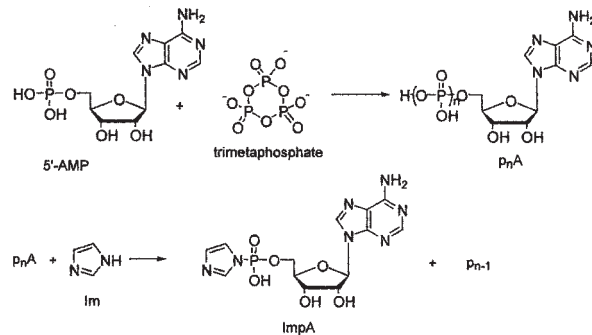


图4 ImpA 的前生物合成途径

大量实验事实说明,无机矿物粘土能够催化寡聚核苷酸(包括嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸)的生成反应。矿物粘土大量广泛地分布于地球上,它能催化种类众多的化学反应。这些矿物大多以呈片状结构的硅铝酸盐为其主要成分。早在 50 年前,就有人提出无机矿物可能是地球上前生物催化剂的设想,甚至有人猜想矿物是最早生命形式的基本组成^[74]。这些在原始地球上广泛存在的无机矿物能吸附、浓缩水溶液中的前生物分子,使这些有机分子在固体表面以一定趋向排列,结果分子之间成键而形成大分子。Ferris 领导的小组则发现蒙脱土 (Montmorillonite) 能作为非生物模板,促进活化的单核苷酸聚合^[75-77]。在 pH=8 的偏碱性溶液中,5'-咪唑磷酸化腺苷 (ImpA) 在蒙脱土上能产生 10 聚体,并且形成 3'-5'磷酸二酯键的区域定向性可通过向反应体系加入

10%的二腺苷焦磷酸来提高。若反应不加入蒙脱土,则反应物 ImpA 在水溶液中水解生成 5'-核苷酸,并与未水解的 ImpA 反应生成以焦磷酸键连接的二核苷酸 (dinucleotide pyrophosphate)^[78]。对 ImpC 和 ImpU 在同样条件下的反应研究表明上述结论同样适用。对于不同的活化基团,由苯并咪唑和邻二甲基氨基吡啶衍生物活化的单核苷酸能给出最高的聚合物产率。

非酶体系的模板指导下的聚合主要采用 poly(U)、poly(C) 和 poly(U-G)、poly(A-C), 它们被认为可以促进与之互补的活化单核苷酸或寡核苷酸聚合。这类非生物合成是基于核酸模板和与之互补的单核苷酸或寡核苷酸之间,通过氢键形成螺旋状复合体进行的。此复合体的构象促成一个底物分子上被活化的 5'-末端和另一个底物分子上 3'或 2'自由羟基接近而成键(图 5)^[79]。反应必须在螺旋状复合体的熔点温度以下进行,而熔点大致随反应物浓度和环境离子浓度的增加而升高。这类反应与生物体系中 DNA 或 RNA 聚合酶以及 DNA 连接酶催化下进行的反应相对应。

作为反应物,活化的核苷酸可以是单核苷酸,也可以是寡聚核苷酸。这类反应之首例,是模板 poly(dA)上的两个(pT)₆片段,在水溶性的缩合剂碳二亚胺(carbodiimide)促成下生成(pT)₁₂的反应^[80]。

单核苷酸的聚合反应实例如:在 0℃和 pH<7 的条件下,poly(U)和 A(2:1)及 poly(C)和 G(2:1)分别形成三股链的螺旋复合体。被活化的单核苷酸参加反应,聚合成与模板互补的寡聚核苷酸^[81]。

然而,poly(A)和 U 的反应在同样条件下却不成功,因为 poly(A):U 复合体不稳定;poly(G)和 C 的反应也不成功,因为 poly(G)本身形成更为稳定的复合体,所以通常状况下不能再与 C 形成复合体。因此,均一组分的模板催化活化单核苷酸类型的反应只局限于嘧啶模板与嘌呤单体。然而,如果模板有一些二级结构,诸如发夹型结构(hairpin structure),那么模板可由不均一成分组成。在 G 和 C 共存并呈“发夹”构象的模板上,其中 G 的部分能促成 2-MeImpC 以 3'-5'磷酸二酯键的方式聚合。在由 C、A 和 T 组成的模板上,不同部位的 A 和 T 部分能分别促成 U 和 A 以 3'-5'磷酸二酯键方式分别聚合。

一些金属离子对模板指导的单核苷酸缩合有催化作用。在 Pb²⁺、Zn²⁺存在时,poly(C)为模板可指导 ImpG 的聚合反应,生成寡聚的 G 片段,但 Pb²⁺存在时主要形成 2'-5'相连的非天然寡聚物,链长可达 10 个单体^[82];若加入 0.01 mol ~ 0.1 mol Zn²⁺,则主要催化形成以 3'-5'磷酸二酯键相连的寡核苷酸,链长可达 30 个单体^[83]。如果用 2-MeImpG 作为反应物,则在无 Zn²⁺存在的情况下生成专一的以 3'-5'磷酸二酯键相连的 G 寡聚体,链长达 50 个单体^[84]。当

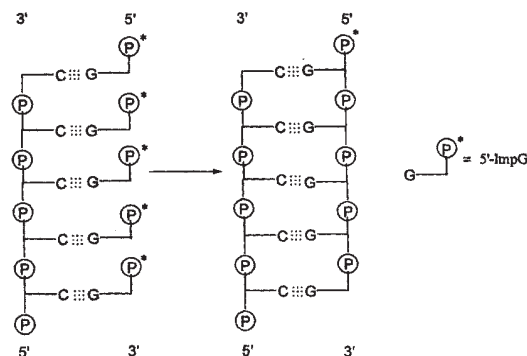


图 5 poly(C)指导下的活化的鸟苷酸(5'-ImpG)的聚合

poly(C)与 2-MeImpG, 2-MeImpU, 2-MeImpC, 2-MeImpA 的混合物保温反应时,poly(C)对 G 单体的选择性是其它单体的 100-500 倍^[85]。

poly(U)为模板的 ImpA 聚合反应中,产物主要是以 2'-5'磷酸二酯键为连接方式的小片段 A 寡聚体。而 3'-5'磷酸二酯键的比例随着 0.01 mol ~ 0.1 mol Pb²⁺的加入而显著增加。与 2-MeImpG 的聚合不同,2-MeImpA 取代 ImpA 作为反应物反应效率并不增高^[86]。

短链的寡核苷酸,例如 C5 或 dC5,也是有效的模板,但由其指导的核苷的寡聚反应常得到复杂的异构体混合物^[87]。

混合组分的模板 poly(CU)能高效促成活化形式的 ImpG 和 ImpA 单体的共聚合^[88,89]。短链模板 CCGCC 能促进其互补链 GGCCG 的合成^[90],反应具有高度的序列专一性。其它类似的模板,如 CCCGCCGCCGCC,指导的互补链的精确合成也有文献报道^[91]。

模板指导下寡核苷酸的聚合反应研究得较少^[92]。poly(U-G)和 poly(A-C)也可以作为活化的二核苷酸缩合的模板。5'-磷(代)胞苷酰(3'-5')腺苷咪唑(ImpCpA)的缩聚可由 poly(U-G)来指导,通常产生 3'-5'磷酸二酯键聚合物^[93]。Kiedrowski(1986 年)^[94]利用一个六核苷酸作为模板,使两个脱氧三核苷酸底物通过碱基互补配对与之结合,然后在缩合剂的作用下,底物缩合得到一个六聚的新的模板分子(图 6)。另外一个例子是将二核苷酸底物的 3'-羟基改性以增加反应活性,以一个四核苷酸分子为模板,得到了底物缩合的四聚体^[95](图 7)。

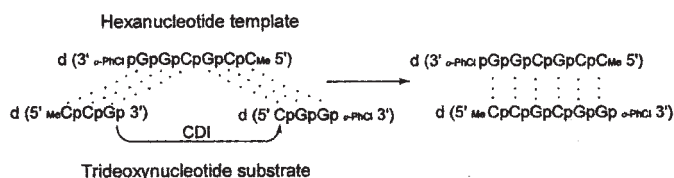


图 6 RNA 六聚体模板指导下的自催化复制

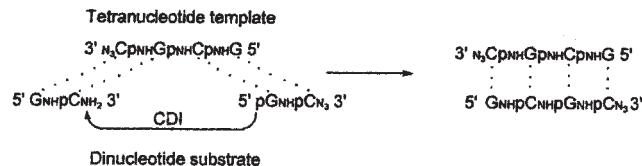


图7 RNA四聚体模板指导下的自催化复制

非酶模板指导的寡核苷酸合成遵循下列规则：

- ① 2'-5'寡核苷酸具有模板活性,但比3'-5'寡核苷酸模板活性低;
- ② 反应要求高浓度的反应物(10 mmol ~ 25 mmol);
- ③ 嘌呤单核苷酸的寡聚可在嘧啶寡核苷酸模板上进行,但反之则不行;
- ④ 仅当起始嘧啶核苷酸是3聚体或更长寡聚体时,与之相补的嘌呤多核苷酸模板才能指导嘧啶核苷酸的寡聚。

另外一种相当有趣的模板,则是基于含有碱性氨基酸的多肽能水解多聚核糖核苷酸^[96],则根据微观可逆原理,这种多肽亦能催化聚核酸的形成。这种推论由 poly (1eu-1ys) 在 pH=6.5、Mn²⁺存在下催化 ImpdGpIm 聚合成 18 聚合度的寡核苷酸所证实^[97]。

尽管在探索生命起源的化学进化过程中我们取得了相当的成果,但是要合理揭示生命本质,还有很多待解决的问题,如:核酸蛋白耦合关系并没有得到合理解释;遗传密码子起源研究,只停留在字母扩充上,缺少化学和物理依据。在更具体的领域,如:手性与生命起源问题——蛋白质骨架只用 L- α 氨基酸(而不用 β 、 γ 氨基酸),核酸骨架用 D-核糖(而不用其它种类的糖如葡萄糖);为什么 DNA 和 RNA 采用磷酸二酯键作为基本骨架,都没有得到合理的解释。要想在这些问题的研究上有所突破,还需长时间的努力以及更多优秀科研人员的参与。

参考文献

- [1] L. Todd, Science, 1984, 279
- [2] F. H. Westheimer, Science, 1987, 235, 1173-1178
- [3] Danielli JF, Davson H, A contribution to the theory of permeability of thin films, J Cell Physiol 5: 495-508
- [4] Wallach DFH, Zahler PH, Protein conformation in cellular membranes, Proc Natl Acad Sci 56: 1552-1559
- [5] Orgel L, Evolution of the genetic apparatus: a review, Cold Spring Harb Symp Quant Biol 52: 9-16 [6] Brack A, Orgel L, β structure of alternating polypeptides and their possible prebiotic significance, Nature 256: 383-387
- [7] Hartma H, Speculation on the evolution of the genetic code IV: the evolution of t-RNA, Orig Life Evol Biosph 14: 643-648
- [8] Schimmel P et al (1993), An operational RNA code for amino acids and possible relationship to genetic code, Proc Natl Acad Sci USA 90:8763-8768
- [9] Schimmel P et al, An operational RNA code for amino acids and possible relationship to genetic code, Proc Natl Acad Sci USA 90:8763-8768
- [10] Hartman H, Speculations on the evolution of the genetic code, Orig Life 6:423-427
- [11] Jukes TH, Arginine as an evolutionary intruder into protein synthesis, Biochem Biophys Res Commun 53:709-714
- [12] Hartman H, Speculations on the origin and evolution of metabolism, J Mol Evol, 4:359-368
- [13] Hartman H, Speculations on the evolution of the genetic code III: the evolution of tRNA, Orig Life Evol Biosph 14:

643-648

- [14] Woese C, Evolution of nucleic acid replication: the possible role of simple repeating sequence polypeptides therein, J Mol Evol 2:205-208
- [15] Lawless JG, Levis N, The role of metal ions in chemical evolution: Polymerization of alamine and glycine in a cation-exchanged environment. J Mol Evol 13:281-286
- [16] Jurla J, Smith TF, β turns in early evolution: chirality, genetic code, and biosynthetic pathways, Cold Spring Harb Symp Quant Biol 52:407-410
- [17] Szalda DJ, et al, Dipeptide-metal-nucleoside complex as models for enzyme-metal-nucleic acid ternary species. Synthesis and molecular structure of the cytidine complex of glycylglycinatocopper(II), Biochem Biophys Res Commun 63: 601-605
- [18] Weckwerth G and Schidlowski M. Phosphorus as a Potential Guide in the Search for Extinct Life on Mars. Adv. Space Res. 1995, 15(3): 185-191
- [19] Mojzsis, S., Arrhenius, G., McKeegan, K. D., Harrison, T. M., Nutman, A. P. and Friend, C. R. L.: 1996, Nature 384, 55
- [20] Anders, E. and Grevesse, N.: 1989, in Geochim. Cosmochim. Acta 53, 197
- [21] Turner, B. E. and Bally, J.: 1987, Ap. J. (Letters) 321, L75
- [22] Guelin, M., Cernicharo, J., Paubert, G. and Turner, B. B.: 1990, Astron. Astrophys. 230, L9
- [23] Matthews, H. E., Feldman, P. A. and Bernath, P. F.: 1987, Ap. J. 312, 358
- [24] Thorne, L. R., Anicich, V. G., Prasad, S. S. and Huntress, W. T.: 1984, Ap. J. 280, 139.
- [25] Kulaev, I. S.: 1974, in K. Dose, S. W. Fox, G. A. Deborin, and T. E. Pavlovskaya (eds.), The Origin of Life and Evolutionary Biochemistry, Plenum Press, New York, p. 271
- [26] Baltscheffsky, M. and Baltscheffsky, H.: 1992, in L. Ernster (ed.), Molecular Mechanisms in Bioenergetics, Elsevier, Amsterdam, p. 331
- [27] Westheimer F H. Why Nature Chose Phosphates. Science. 1987, 235(4793): 1173-1178
- [28] Brownlee, D. E.: 1994, in M. E. Zolensky, T. L. Wilson, F. J. M. Rietmeijer, and G. J. Flynn (eds.)
- [29] Schwartz, A. W.: 1974, in K. Dose, S. W. Fox, G. A. Deborin and T. E. Pavlovskaya (eds.), The Origins of Life and Evolutionary Biochemistry, Plenum Press, New York, p. 435
- [30] Baltscheffsky, H. and Baltscheffsky, M.: 1994, in S. Bengtson (ed.), Early Life on Earth, Nobel Symposium No. 84, Columbia Univ. Press, New York, p. 81
- [31] Ridgway S T, Wallace L and Smith G R. The 800-1200 Inverse Centimeter Absorption Spectrum of Jupiter. Astrophys. J. 1976, 207: 1002-1006
- [32] 王文清, Kobayashi K and Ponnampereuma C. 甲烷、氮、三氯化磷与水混合物的预生物合成[J]. 北京大学学报(自然科学版). 1984, (6): 36-44
- [33] 王文清. 三氯化磷、甲烷、氮与水混合物的前生物合成- PH_3 在化学进化中的作用 [J]. 科学通报. 1984, 29(21): 1344-1344
- [34] Wang W Q (王文清). Prebiotic Synthesis in a Mixture of Phosphine, Methane, Nitrogen and Water. Sci. Bull. (Kexue Tongbao). 1985, 30(2): 281-281
- [35] Fox S W and Harada K. Synthesis of Uracil under Conditions of a Thermal Model of Prebiological Chemistry. Science. 1961, 133: 1923-1924
- [36] Ponnampereuma C, Mariner R and Sagan C. Formation of Adenosine by Ultraviolet Irradiation of a Solution of Adenine and Ribose. Nature, 1963, 198: 1199-1200
- [37] Ponnampereuma C and Kirk P. Synthesis of Deoxyadenosine under Simulated Primitive Earth Conditions. Nature, 1964, 203: 400-401
- [38] Schramm G. Synthesis of Nucleosides and Polynucleotides with Metaphosphate Esters. In: Origins Prebiol. Systems Their Mol. Matrices, Proc. Conf., Wakulla Springs, Fla. 1963. 299-309

- [39] Carbon J A. Schramm Deoxyadenosine Synthesis. Chem. Ind. 1963, 529~530
- [40] Ponnampereuma C and Mack R. Nucleotide Synthesis under Possible Primitive Earth Conditions. Science. 1965, 148 (3674): 1221~1223
- [41] Beck A, Lohrmann R and Orgel L E. Phosphorylation with Inorganic Phosphates at Moderate Temperatures. Science. 1967, 157: 952~952
- [42] Lohrmann R and Orgel L E. Prebiotic Synthesis: Phosphorylation in Aqueous Solution. Science. 1968, 161: 64~66
- [43] Schramm G, Gr?tsch H and Pollmann W. Non-enzymatic Synthesis of Polysaccharides, Nucleosides, and Nucleic Acids and the Origin of Systems Capable of Self-reproduction. Angew. Chem. 1962, 74: 53~59
- [44] Schwartz A and Ponnampereuma C. Phosphorylation of Adenosine with Linear Polyphosphate Salts in Aqueous Solution. Nature. 1968, 218: 443~443
- [45] Waehndt T V and Fox S W. Phosphorylation of Nucleosides with Polyphosphoric Acid. Biochim. Biophys. Acta. 1967, 134(1): 1~8
- [46] Miller S L and Parris M. Synthesis of Pyrophosphate under Primitive Earth Conditions. Nature. 1964, 204 (4965): 1248~1250
- [47] Saffhill R. Selective Phosphorylation of the cis-2',3'-Diol of Unprotected Ribonucleosides with Trimetaphosphate in Aqueous Solution. J. Org. Chem. 1970, 35(9): 2881~2883
- [48] Yamagata Y, Watanabe H, Saitoh M et al. Volcanic Production of Polyphosphates and Its Relevance to Prebiotic Evolution. Nature. 1991, 352: 516~519
- [49] Ferris J P, Goldstein G and Beaulieu D J. Chem. Evolution. IV. An Evaluation of Cyanovinyl Phosphate as a Prebiotic Phosphorylating Agent. J Am. Chem. Soc. 1970, 92 (22): 6598~6603
- [50] Moravek J. Formation of Oligonucleotides during Heating of a Mixture of Uridine 2'(3')-Phosphate and Uridine. Tetrahedron Lett. 1967, (18): 1707~1710
- [51] Tshuhako M, Fujimoto M and Ohashi S. Phosphorylation of Inosine with Cyclo-Triphosphate. Chem. Lett. 1981, 155(7): 849~852
- [52] Tshuhako M, Fujimoto M and Ohashi S. Phosphorylation of Nucleosides with Sodium cyclo-Triphosphate. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1984, 57(11): 3274~3280
- [53] Feldmann W. Das Trimetaphosphat als Triphosphorylierungsmittel f?r Alkohole und Kohlenhydrate in W?riger L?sung. Seine Sonderstellung unter den kondensierten Phosphaten. Chem. Ber. 1967, 100(12): 3850~3860
- [54] Tshuhako M, Sueyoshi C, Baba Y et al. Phosphorylation of Glucose with cyclo-Triphosphate. Chem. Lett. 1987, 187(7): 1431~1434
- [55] Yamanaka J, Inomata K and Yamagata Y. Condensation of Oligoglycines with Trimeta- and Tetrametaphosphate in Aqueous Solutions. Origins Life Evol. Biosphere. 1988, 18 (3): 165~178
- [56] Fox S W. The Origins of Prebiological Systems and of Their Molecular Matrices. New York: Academic Press, 1965. 289
- [57] Feldmann W. Ringaufspaltung des Trimetaphosphations, $P_3O_9^{3-}$, durch Aminos?uren in W?riger L?sung; ?ber die Kn?pfung von Peptid-bindungen mit $P_3O_9^{3-}$. Z. Chem. 1969, 9(4): 154~155
- [58] Rabinowitz J. Preparation and Transformation of Esters. LXXXIII. Condensation and (or) Phosphorylation Reactions in Aqueous Solution of Organic Compounds Containing Hydroxy, Carboxy, Amino and Other Functional Groups with Linear or Cyclic Phosphates. Helv. Chim. Acta. 1969, 52(8): 2663~2671
- [59] Rabinowitz J, Flores J, Krebsbach R et al. Peptide Formation in the Presence of Linear or Cyclic Polyphosphate. Nature. 1969, 224: 795~796
- [60] Chung N M, Lohrmann R, Orgel L E et al. Mechanism of the Trimetaphosphate-induced Peptide Synthesis. Tetrahedron. 1971, 27(6): 1205~1210
- [61] Feldmann W and Thilo E. Condensed Phosphate and Arsenates. XXXVIII. Amidotriphosphate. Z. Anorg. Allgem. Chem. 1964, 328(3-4): 113~126
- [62] Noonan D W and Or? J. Direct Synthesis of Polypeptides. Polycondensation of α -Amino Acids by Polymetaphosphate Esters. J. Mol. Evol. 1974, 3(1): 79~88
- [63] Tshuhako M, Fujita N, Nakahama A et al. The Reaction of cyclo-Triphosphate with L-Valine. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1980, 53(7): 1968~1972
- [64] Tshuhako M, Ohashi S, Nariai H et al. Reaction of Trimetaphosphate with Glycine. Chem. Pharm. Bull. 1982, 30(11): 3882~3889
- [65] Tshuhako M, Nakajima A. The Reaction of cyclo-Triphosphate with L- α - or β -Alanine. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1985, 58(11): 3092~3098
- [66] Hulshof J and Ponnampereuma C. Prebiotic Condensation Reactions in an Aqueous Medium: A review of Condensing Agents. Origins of Life. 1976, 7(3): 197~224
- [67] Schramm G, Gr?tsch H and Pollmann W. Non-enzymatic Synthesis of Polysaccharides, Nucleosides, and Nucleic Acids. Angew. Chem. 1961, 73: 619~619
- [68] Schwartz A W and Fox S W. Condensation of Cytidylic Acid in the Presence of Poly-phosphoric Acid. Biochim. Biophys. Acta. 1967, 134(1): 9~16
- [69] Contreras G, Espejo R, Mery E et al. Polymerization of Ribonucleotides by γ -Radiation. Biochim. Biophys. Acta. 1962, 61: 718~727
- [70] Steinman G and Capolupo A A. Chemical Plausibility of Dicyanamide as a Primordial Reactant. Curr. Mod. Biol. 1969, 2(6): 295~297
- [71] Ibanez J D, Kimball A P and Or? J. Possible Prebiotic Condensation of Mononucleotides by Cyanamide. Science. 1971, 173: 444~446
- [72] Odom D G, Brady J T and Or? J. The Prebiotic Synthesis of Deoxythymidine Oligonucleotides. III. Acid Salt Reactions. J. Mol. Evol. 1976, 7(2):151~157
- [73] Lohrmann R. Formation of Nucleoside 5'-Phosphoramidate under Potentially Prebiological Conditions. J. Mol. Evol. 1977, 10(2): 137~154
- [74] Cairns-Smith A G. The First Organism. Sci. Amer. 1985, 252(6): 74~82
- [75] Ding P Z, Kawamura K and Ferris J P. Oligomerization of Uridine Phosphorimidazolides on Montmorillonite: A Model for the Prebiotic Synthesis of RNA. Origins Life Evol. Biosphere. 1996, 26(2): 151~171
- [76] Ferris J P and Ertem G. Oligomerization of Ribonucleotides on Montmorillonite: Reaction of the 5'-Phosphorimidazolide of Adenosine. Science. 1992, 257: 1387~1389
- [77] Ferris J P and Ertem G. Oligomerization of Ribonucleotides: the Reaction of 5'-Phosphorimidazolide of Nucleosides on Montmorillonite and Other Minerals. Origins of Life. 1992, 22(6): 369~381
- [78] Lohrmann R and Orgel L E. Formation of P1, P2 -dinucleoside 5'-pyrophosphates under Potentially Prebiological Conditions. J. Mol. Evol. 1978, 11(1): 17~23
- [79] Orgel L E. Mini Review RNA Catalysis and the Origins of Life. J Theor. Biol. 1986, 123: 127~149
- [80] Naylor R and Gilham P T. Studies on Some Interactions and Reactions of Oligonucleotides in Aqueous Solution. Biochemistry. 1966, 5(8): 2722~2728
- [81] Orgel L E and Lohrmann R. Prebiotic Chemistry and Nucleic Acid Replication. Accts. Chem. Res. 1974, 7(11): 368~377
- [82] Lohrmann R and Orgel L E. Efficient Catalysis of Polycytidylic Acid-directed Oligoguanylate Formation by Lead. J. Mol. Biol. 1980, 142(4): 555~567
- [83] Bridson P K and Orgel L E. Catalysis of Accurate Poly(C)-directed Synthesis of 3'-5'-Linked Oligoguanylates by Zinc. J. Mol. Biol. 1980, 144(4): 567~577
- [84] Inoue T and Orgel L E. Substituent Control of the Poly(C)-Directed Oligomerization of Guanosine 5'-Phosphorimidazolide. J. Am. Chem. Soc. 1981, 103(25): 7666~7667
- [85] Inoue T and Orgel L E. Oligomerization of (Guanosine 5'-phosphor)-2-methylimidazolide on Poly(C), An RNA Poly-

生命起源中的 RNA World(核糖核酸世界)

王孔江

(中国科学院生物物理研究所,博士、副研究员 北京 100101)

[摘要] RNA World(核糖核酸世界)是随着核酶的发现而提出的,它解决了长期困扰生命起源研究的主要难题之一——鸡-蛋悖论。1987年RNA World提出以后,立即成为科学热点之一;随后的研究取得了重要的实验证据支持生命起源中RNA World的存在。虽然仍然有一些难题,RNA World仍然是目前科学界最广泛接受的生命起源理论之一。本文认为, RNA World理论是可与1938年A. Oparin的现代生命起源理论及1953年Stanley Miller的放电实验相提并论的重大进展。研究RNA World的过程中,出现了一系列对分子生物学有普遍意义的重要新概念及新方法。本文强调应加强对生命起源等基本科学问题的关注。

[关键词] 生命起源 核糖核酸世界 核酶 [中图分类号] Q5 Q7

生命是大自然最伟大的创造。生命起源问题是自然科学面临的尚未解决的重大基本问题之一。从人类有自我意识的那一天起就本能地开始了对生命起源问题的思考。

生命起源问题就是要弄清在原始地球条件下非生命物质如何转化为生命体系。现代生命起源研究的具体目标是弄清在原始地球条件下生命体系的自复制系统(Self-replication System)是如何产生的。

1938年,原苏联生物化学家Aleksandr Oparin首先提出生命起源的化学进化理论,并提出了生命起源的基本步骤及反应途径。1953年,美国化学家Stanley L. Miller及H. C. Urey的放电实验,开创了对生命起源问题的实验研究。随后几十年的研究证明,生命所需的主要小分子是可能在原始地球条件下合成的;实验也进一步表明了生命小分子在原始地球条件下向生物大分子聚合的可能性。

根据现代生物学的中心法则,在生命体系中蛋白质是功能分子而核酸是信息分子,那么在生命起源中到底是先有蛋白质还是先有核酸?由于蛋白质是基于核酸序列而合成的,而核酸的所有功能又是在蛋白质的催化下完成的,这就形成了著名的鸡-蛋悖论。这是一个长期困扰生命起源研究的问题。

一、核酶(Ribozyme)的发现与RNA World

蛋白质是功能分子而核酸是信息分子,蛋白质功能的多样性是基于其结构单位氨基酸结构的多样性。在20种生命氨基酸中,既有亲水氨基酸又有疏水氨基酸;既有酸性氨基酸又有碱性氨基酸。氨基酸的侧链既有带正电荷的氨基酸又有带负电荷的氨基酸;既有线性结构又有分叉结构,而且还有多种亲核基团。与此形成鲜明对照的是核酸的结构。从化学角度来看,DNA的信息分子功能是基于DNA结构的化学性质的稳定性及DNA 4种碱基配对的选择性。但是其结构的简单性及功能基团的缺乏使DNA只适合于信息的缺乏。RNA介于蛋白质与DNA之间,其结构的相对稳定性及4种碱基的选择性配对使其具有信息储存功能,而其所具有的2-位羟基又决定了其在化学性质上较DNA更加活跃。

正是基于基本化学原理对RNA结构的分析,C. Worese (1966)、Francis Crick (1967)、L. Orgel (1967)独立预言RNA可能具有催化功能。所以对鸡-蛋悖论的解决方案是:不是先有鸡还是先有蛋,而是一种分子同时既是鸡又是蛋。也就是说,由于RNA同时

- merase Model. J. Mol. Biol. 1982, 162(1): 201~217
- [86] Sleeper H L, Lohrmann R and Orgel L E. Template-directed Synthesis of Oligoadenylates Catalyzed by Lead (2+) Ions. J. Mol. Biol. 1979, 13(3): 203~214
- [87] Chen C B, Inoue T and Orgel L E. Template-directed Synthesis on Oligodeoxycytidylate and Polydeoxycytidylate Template. J. Mol. Biol. 1985, 181(2): 271~297
- [88] Inoue T and Orgel L E. A Nonenzymatic RNA Polymerase Model. Science. 1983, 219: 859~862
- [89] Joyce G F, Inoue T and Orgel L E. Non-enzymatic Template-directed Synthesis on RNA Random Copolymers Poly(C, U) Templates. J. Mol. Biol. 1984, 176(2): 279~306
- [90] Inoue T, Joyce G F, Grzeskowiak K et al. Template-directed Synthesis on the Pentanucleotide CpCpGpCpC. J. Mol. Biol. 1984, 178(3): 669~676
- [91] Haertle T and Orgel L E. The Template Properties of Some Oligodeoxynucleotides Containing Cytidine and Guanosine. J. Mol. Biol. 1986, 23(2): 108~112
- [92] Ninio J and Orgel L E. Heteropolynucleotides as Tem-

- plates for Non-enzymatic Polymerizations. J. Mol. Biol. 1978, 12(2): 91~99
- [93] Lohrmann R and Orgel L E. Self-condensation of Activated Dinucleotides on Polynucleotide Templates with Alternating sequences. J. Mol. Biol. 1979, 14(4): 243~250
- [94] Von Kiedrowski G. A Self-replicating Hexadeoxynucleotide. Angew. Chem. Int. Ed. Eng. 1986, 25 (10): 932~935
- [95] Zielinski W S and Orgel L E. Oligomerization of Activated Derivatives of 3'-Amino- 3'-Deoxyguanosine on Poly(C) and Poly (dC) Templates. Nucleic Acid Res. 1985, 13(7): 2469~2486
- [96] Barbier B, Brack A. Conformation-Controlled Hydrolysis of Polynucleotides by Sequential Basic Polypeptides. J. Am. Chem. Soc. 1992, 114(9): 3511~3515
- [97] Barbier B, Visscher J and Schwartz A W. Polypeptide-Assisted Oligomerization of Nucleotide Analogs in Dilute Aqueous-Solution. J. Mol. Biol. 1993, 37(6): 554~558

(责任编辑 苏青 王宏章)