

磷化学与生命化学过程

Phosphor Chemistry and Process of Life Chemistry

赵玉芬

(清华大学化学系教授,中国科学院院士 北京 100084)

李艳梅

(清华大学化学系 北京 100084)

碳、氢、氧、氮、硫、磷等元素组成了生物体,其中磷是组成生命活体至关重要的元素。目前尚未发现在生命过程中不包含磷的生命体。人体内磷的含量大约占元素总量的 1%,它占人脑总重量的 0.3%,占肝脏总重量的 0.2%。早先人们认为磷的作用仅限于作为骨骼的组成部分,然而随着科学的发展,人们越来越认识到磷在生命化学过程中扮演了十分重要的角色。

一、磷与蛋白质

蛋白质是生物体中不可缺少的组成部分,磷与蛋白质、多肽等具有极其密切的关系。早在 1933 年施米特(Schmidt)和莱文(Levene)等人就从水解酪蛋白中分离得到含磷的肽。Posternak 等人进一步证实了这种肽的结构是 O—磷酰基—L—丝氨酸—

L—谷氨酸。此后,许多与磷通过共价键结合的磷酰蛋白、磷酰肽相继被发现,人们逐渐证实了磷在酶的活性调节、蛋白质的生物合成、开关血浆膜上某些特殊离子的微孔、调节膜的渗透等主要过程中起着关键作用。

蛋白质的磷酰化是生物体内普遍存在的过程。许多研究表明:人的学习和记忆过程与大脑的蛋白磷酰化有关;许多磷酰蛋白具有络合大量钙和铁的功能,可作为这些元素的运输者和贮存者;血浆膜上也含有大量的磷酰蛋白,通过磷酰化和去磷酰化开关膜上某些特殊的离子微孔,调节膜的渗透性,在神经系统和视网膜系统中这种作用尤为突出。在特定环境中,磷酰肽还是一个不可缺少的结构因素。例如,眼球中的一种重要蛋白——高纯度 α -晶体,含有两个小的磷酰肽,如果除去它,蛋白质将失其水晶结构,变为松散的肽链。

文时采取了“不需推荐,不看资历,不限学历,不分职业,不重权威,唯才是举”的方针,以论文水平为选用的唯一依据。因此,整个会议充满了青春活力,充满了勇于创新、勇于进取、坦诚探讨的科学气息,也充满了老科学家和社会各方对青年学者的理解、支持和期望。大会还特邀了我国著名的中青年化学家赵玉芬院士、王如松研究员分别就“磷化学与生命化学过程”、“持续发展的人类生态学原理”作了精采的学术报告,交流了他们突破性、创造性科学思维的发展历程,受到欢迎。

会中,近百名青年学者分别从“遗传与进化”、“生理与生化”、“生物与环境”、“疾病机制”四个领域宣讲。交流了近 70 项带有新学说、新观点的研究成果。内容涉及了当前生命科学的几乎所有前沿领域和热点问题,其中确实不乏具有重要发现和重要潜在价值的新学说、新观点。

这次会议,是继中国科协 1992 年鼎力举办的

“全国青年学术年会”(大型“卫星”系列学术讨论会)之后,举办的又一次以青年学者为主体的全国性大型学术会议。同时,这次会议也是在国家科委最近推出“跨世纪人才工程计划”、中国科学院准备实施“百人工程”学科带头人计划和有些省、市开展“明星计划”以及国家自然科学基金委进一步扩大“青年科学基金”,专立“优秀中青年奖励基金”的背景下召开的。综观这些以青年为重点,以未来科学创新和突破为着眼点的一系列全国性科学计划的接连出台,可以说,这表明我国科技工作人才开发的重心正出现逐步向中青年一代转移的重大历史态势。这是中国科学事业的希望所在,也是中国光明未来的希望所在。应该说,这是一种本来就具有的历史的必然,也是人们早已企盼的历史进程。让我们共同关心、理解、支持这一重大的变化态势,共同努力加速促进这一历史性的伟大进程。如是,青年幸甚!未来幸甚!国家幸甚! (蔡德诚)

生物体内存在着大量磷酸蛋白。各种不同类型的磷酸蛋白在细胞中起着不同的作用,根据其不同的功能可以将其分为两大类:一类是具有酶活性的磷酸蛋白,另一类不具有酶活性。其中最令人感兴趣的是具酶活性的,即催化性磷酸蛋白,它包括各种不同类型的酶,其活性可以被其中关键的丝氨酸等残基的磷酸化和去磷酸化所调节,而这种磷酸化和去磷酸化往往又被某一种酶所催化。磷酸酶、糖元合成酶以及丙酮酸激酶等都是催化性磷酸蛋白的典型例子。

细胞有丝分裂过程也是磷酸化对酶活性调节的事例之一。真核细胞由间期进入有丝分裂期时,伴随着一系列细胞事件的发生,包括细胞形状改变、细胞骨架重排、核膜崩解、核仁分解消失、染色体凝集,以及基因转录和翻译暂时抑制等。与此同时,细胞内蛋白质磷酸化的水平显著上升。进一步的研究表明,上述各种事件可能是由某些特定的蛋白质磷酸化引起的。导致这些蛋白质磷酸化的是一些特定的蛋白激酶。如 $P34^{cdc2}$ 激酶,这种激酶是 M 期特异的蛋白激酶,在即将进入 M 期时被活化并维持在高活性水平,于 M 期后阶段失活。已有研究发现,在 G_2/M 期交界处,活化的 $P34^{cdc2}$ 激酶导致一系列特定的蛋白质,如 X-MAP、 $P60^{src}$ 及 $pk-CaM$ 等的磷酸化,由此引起一系列细胞事件的发生,从而引起调控细胞事件的发生和调控细胞的有丝分裂。

生命物质的新陈代谢有赖于酶的调节。没有酶,新陈代谢无法进行,生命活动也宣告终止。而已有越来越多的实验事实表明,许多酶的活性是以其磷酸化和去磷酸化来调控的。

二、磷与核酸

1. 磷酸基作为 DNA、RNA 的桥连基团

物种的存在与延续有赖于遗传物质的存在,而作为遗传物质的 DNA 和 RNA 是磷酸二酯,磷酸基团是连接核酸的桥连基因,它之所以被大自然选为核酸的桥连基团,是因为它既能桥连两个核苷,又能保证电离。电离产生的负电性不仅能防止水解以保证二酯键的稳定性,还可使该分子保留在磷脂膜所限定的范围内。

早在 1958 年戴维斯(Davis)就认为:生命物质为了能保留在细胞内,就必须发生电离,否则电中性的分子能与细胞膜发生互溶,从而导致电中性分子从细胞膜中泄漏出而被无限稀释。尽管近年来的理论认为戴维斯的说明并非绝对正确,然而有一点是肯定的,即电离了的分子更容易保留在细胞膜内。磷酸以及磷酸单酯或二酯的 pK_1 值均约为 2,在生理 pH 条件下能发生电离,从而能够使其保留在细胞膜所限定的区域内。

磷酸基的特殊功能也导致了它被选为 DNA 和 RNA 的桥连基团。在讨论这个问题之前需要有两点假设:首先核苷必须相互连接以形成可携带基因密码的长链;其次长链可发生断裂以保证核苷的重新利用。若要长链发生断裂,最好的化学方法就是水解,这意味着最好的键连方式是酯化反应。要将小分子连成长链,其键连基团至少必须是二价的,以保证一端连接一个核苷。此外,考虑到保证最终形成的分子能够电离,键连基团至少必须是三价的。此时最容易想到的是磷酸,而不是硫酸,因为后者只是二元酸。同时,磷酸二酯的水解速度远低于电中性的羧酸酯类,磷酸二酯的带电性起了独特的作用。其带电性不仅使其能存在于细胞膜内,而且所带的负电荷能有效地减少亲核试剂的进攻。正是由于 DNA 中磷酸基带有负电荷,使得 DNA 不易水解,保证了磷酸基成功地扮演基因长链中的桥连基团角色。

除了磷酸基外,是否还有其它替代基团呢?柠檬酸的三级电离很弱,不足以稳定遗传物质;砷酸可能有毒,且其二酯很易水解;硅酸酯也极易水解,且在中性 pH 条件下不发生电离。这些基团都不适用于生物体。

2. 磷酸基与 RNA 自剪切

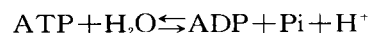
本世纪 80 年代初,美国科罗拉多大学化学与生物化学系教授切赫(T. R. Cech, 1989 年诺贝尔化学奖获得者)及其合作者对从原生动物四膜虫中提取出的 RNA 进行了研究。这种被提取出的 RNA 能自发地催化其切割和剪接过程,从而导致自身长度的缩短。如果忽略它不是蛋白质这一事实,这种 RNA 的诸多行为完全符合酶的定义。切赫将这种 RNA 定义为 Ribozyme,即 RNA 酶或 RNA 催化剂。研究发现,Ribozyme 的催化机理正是一种在磷酸基作用下发生的自发反应。磷酸基团的特殊功能与磷原子的原子结构有密切关系。磷位于元素周期表近中心位置,属第三周期第五主族,其原子外层有 3 个未成对的 p 电子和 5 个 3d 空轨道。由于磷原子中的 3s 轨道、3p 轨道以及 3d 轨道的能量较为相近,易相互杂化形成多种杂化轨道,如 sp^3 、 sp^3d 、 sp^3d^2 等,具有形成 4、5、6 条化学键的能力。核酸中的磷酸基团具有五配位结构,由于磷原子具有较多可利用的空电子轨道,配位数较多,各化合价态间在一定条件下较易相互转化,使得该磷酸基团上的磷极易受亲核试剂的进攻,从而导致一系列亲核反应。Ribozyme 的催化过程就是发生在磷原子上的一系列亲核反应,其中最重要的亲核基团是羟基——OH。RNA 分子催化作用的发现完全出于人们的意料。长期以来,人们都认为只有蛋白质能起催化作用。当然,Ribozyme 的发现并没有动摇蛋白质酶在生物催化过程中所处的主导地位,但它却为生

命起源的认识点亮了又一盏明灯。的确,长期以来人们常常感到困惑。没有核酸进行编码,蛋白质酶是怎么来的,而没有蛋白质酶的辅助,核酸又怎么能复制呢?这正如那个著名的永无休止的问题:鸡与鸡蛋,孰先孰后?现在这个问题可以解释为,最先的催化性物质可能是 RNA 分子而不是蛋白质;与此同时, RNA 还起到遗传物质的作用。随着越来越多的蛋白质经过可令人信服的前生物方法被合成出后,由于蛋白质酶的催化能力远强于 RNA,因此 RNA 的催化作用逐渐被蛋白质酶所替代。

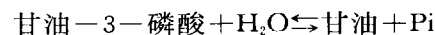
3. ATP 的作用实质

作为储能物质的 ATP 一直被认为存在着随时可供利用的“高能磷酸键”。由于“高能磷酸键”的断裂,放出了大量的能量,并将能量传给特定的分子,导致一系列生化过程因具有足够的能量而发生反应。然而,在磷化学家眼中,ATP 与其说是“生命活动的能量源泉”,不如称之为“生化过程的磷酸基源泉”。当 ATP 释放一个磷酸基变为 ADP 时,就有一个生物分子接受了这个磷酸基,在磷酸基的参与下,一些通常在温和条件下本不发生反应的生物分子却发生了一系列反应。究其原因,与其说是该生物分子获得了能量,足以跃过能垒而发生反应,不如说是因磷酸基的参与而改变了反应的途径,降低了反应的活化能,使众多生化过程“平心静气”地完成了。从这个角度而言,磷酸基可称为生化反应的催化剂。

ATP 为什么具有如此特异的功能呢?不妨比较一个 ATP 水解的标准自由能与普通磷酸酯(如甘油-3-磷酸)水解标准自由能:



$$\Delta G^\circ = -30.5 \text{ 千焦/摩}$$



$$\Delta G^\circ = -9.2 \text{ 千焦/摩}$$

甘油-3-磷酸水解的 ΔG° 的绝对值要比 ATP 水解的小得多,这意味着与甘油-3-磷酸相比,ATP 具有较强的趋势将其末端磷酸基转移给水,亦即,ATP 具有较高的磷酸基团转移潜势。

在生物体系中还有各种其它的化合物也有很高转移磷酸基的潜势,如:磷酸烯醇式丙酮酸、磷酸肌酸及葡萄糖-1-磷酸等,许多还具有比 ATP 更高的基团转移潜势。这意味着磷酸烯醇式丙酮酸等能将其磷酸基转移给 ADP 而形成 ATP。具有深远意义的是 ATP 的基团转移潜势与其它生物学上重要的磷酸化分子相比处于居中位置,而生物体内所

发生的很大部分生化过程都涉及到磷酸基的获得或失去,亦即涉及到磷酸基的转移,而磷酸基转移潜势居中的 ATP 恰好能够有效地起着磷酸基载体的作用。这就是 ATP 在生化过程中具有极其重要作用的根本原因。

三、磷与新陈代谢过程

磷酸及其酸酐统治着生命界,这在生命体的新陈代谢过程中也不例外,磷酸是代谢过程的中间物以及生物体活动的能源,带有多个负电荷的磷酸基可以通过 PO_3^{2-} 单体形式进行反应。

磷酸基在生物体内发生的化学反应中具有如此重要的作用,然而长期以来并未受到有机化学家足够的重视。例如:实验室中常用“好”的离去基,如: $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$ 及 $-\text{Tos}$ 等,却从未用过磷酸基。但是,在代谢过程中,最普遍的离去基却是磷酸基或焦磷酸基;在有机化学反应中需要各种基团参与反应,而在生物体系中,磷酸基却担负着多重使用。正是由于磷酸能与许多有机物结合成酯,可使生物体内有机物的新陈代谢由温和、高效的生化过程来完成。

四、从磷化学角度研究生命化学过程

磷之所以是生命化学过程中的重要元素,不仅因为其含量占 DNA 分子量的 9%,更因为许多事实已证明,绝大多数酶的催化反应是以它们的磷酸化和去磷酸化来调控的。ATP 参与了生命化学过程中的几乎每一个反应,新陈代谢过程常以含磷衍生物为中间体而进行。生命现象从低等到高等,从植物到动物,无不或多或少地有赖于蛋白质的磷酸化机制,甚至癌症也与某些蛋白质被不正常地磷酸化而改变了它的物理、化学和生理性质有关。核酸、蛋白质及多糖这三大类生命物质的新陈代谢、相互转化及调控过程,都是以磷化合物为能量转换及基团置换的媒介。

这些事实给我们以启示,有必要从磷化学角度研究生命化学过程,而且已有越来越多的事实表明,一旦从磷化学角度入手研究,许多在生物化学家眼中被视为捉摸不透的生化过程即可迅速被理解或预言,许多复杂的生命现象也可以较容易地找到其化学依据。

(责任编辑 蔡德诚)