

教学

DNA/RNA分子中的3',5'-磷酸二酯键之刍议

杜秀红^{1*}, 刘 隽¹, 崔节虎², 蒋 君¹, 李敏霞¹⁽¹⁾河南医学高等专科学校检验学院, 郑州 451191; ⁽²⁾郑州航空工业管理学院材料学院, 郑州 450015)

摘要: 3',5'-磷酸二酯键是生物学、生物化学及有机化学等相关学科中一个重要名词和考点, 然而对其释义及内涵的理解在国内外各教材、文献及网络平台上却不同, 长期以来是一个争论热点。现利用基团和化学键的基本概念、酯化反应机理及影响因素、磷酸的结构等知识, 结合3',5'-磷酸二酯键的形成机制即核苷酸从头合成途径和核酸合成的相关过程, 对3',5'-磷酸二酯键进行系统剖析和探讨, 明确其本质及内涵, 体现教学要注重多学科知识的交融和思维的培养。

关键词: 3',5'-磷酸二酯键; 酯化反应; 磷酸; 戊糖; 连接方式

Discussion on 3',5'-phosphodiester bonds in DNA/RNA

DU Xiuhong^{1*}, LIU Jun¹, CUI Jiehu², JIANG Jun¹, LI Minxia¹⁽¹⁾Department of Laboratory Medicine, He'nan Medical College, Zhengzhou 451191, China;⁽²⁾School of Materials Science and Engineering, Zhengzhou University of Aeronautics, Zhengzhou 450015, China)

Abstract: 3',5'-phosphodiester bond is an important term and topic in biology, biochemistry, organic chemistry and other related subjects. However, the understanding of its interpretation and connotation are different in various textbooks, literatures and online platforms at home and abroad, which has been a hot topic of debate for a long time. Based on the basic concepts of groups and chemical bonds, esterification reaction mechanism and influencing factors, structure of phosphoric acid, combined the formation mechanism of 3',5'-phosphate diester bonds, videlicet, the *de novo* synthesis pathway of nucleotides and the related processes of nucleic acid synthesis, this paper systematically analyzes and explores 3',5'-phosphate diester bonds, clarifies their essence and connotation, and reflects the need for teaching to attach importance to the integration of interdisciplinary knowledge and the cultivation of thinking.

Key Words: 3',5'-phosphodiester bond; esterification reaction; pentose; phosphate; link mode

“DNA是脱氧核糖核苷酸通过3',5'-磷酸二酯键聚合形成的线性大分子; RNA是核糖核苷酸通过3',5'-磷酸二酯键聚合形成的线性/环状大分子; 核酸分子中核苷酸的连接方式是3',5'-磷酸二酯键”等类似内容, 对于生物学、生物化学及有机化学等相关生命科学学科的教学者来说, 早已耳熟能详。然而, 这种说法却有待商榷。Watson、

Crick^[1]和Pauling^[2]在研究核酸结构时提出, 核酸分子内每条链由磷酸二酯基团和β-D-脱氧呋喃核糖或β-D-呋喃核糖残基以3',5'连接而成。本课题组曾就核酸分子中核苷酸残基的连接方式为3'-磷酸酯键进行了探讨, 明确标注了3',5'-磷酸二酯键在多聚核苷酸链中的具体键位(磷酸-戊糖骨架上2个P-O之间的共价键)^[3,4]。李品艾等^[5]亦认为, 核酸分子中

收稿日期: 2023-07-02

基金项目: 2022年河南省职业教育教学改革研究与实践项目(豫教〔2023〕03038); 河南省医学教育研究项目(Wjlx2018153)

*通信作者: E-mail: dxh2008laurel@163.com

核苷酸的连接方式为3'-磷酸酯键。杨荣武教授^[6]指出了在一些旧版的高中生物教材以及一些大学生物化学教材中3',5'-磷酸二酯键的错误标注。许多学者及网络平台等也针对3',5'-磷酸二酯键的内涵进行了探讨、辨析及阐释^[5-12]。甚至针对键内涵的不同又衍生出一系列相关酶的异议阐述,如:按磷酸二酯键断裂的方式可将核酸酶分成3'-磷酸二酯酶和5'-磷酸二酯酶;5'-磷酸二酯酶是一种能将单链DNA和RNA水解为5'-核苷酸的磷酸二酯酶^[15]等说法。针对众多媒介对3',5'-磷酸二酯键内涵经久不息的热议,基于科学性是自然科学最基本的属性,亟需系统探讨3',5'-磷酸二酯键的化学本质、标注具体键位以明确其内涵,使教学者对其有一个科学的认识。本文结合相关化学概念、酯化反应机理和3',5'-磷酸二酯键形成的生化过程等知识,通过对常见释义的辨析、探讨,梳理出3',5'-磷酸二酯键的真正内涵。

1 多种媒介对3',5'-磷酸二酯键内涵的阐述

综合多种媒介对3',5'-磷酸二酯键内涵的阐述,

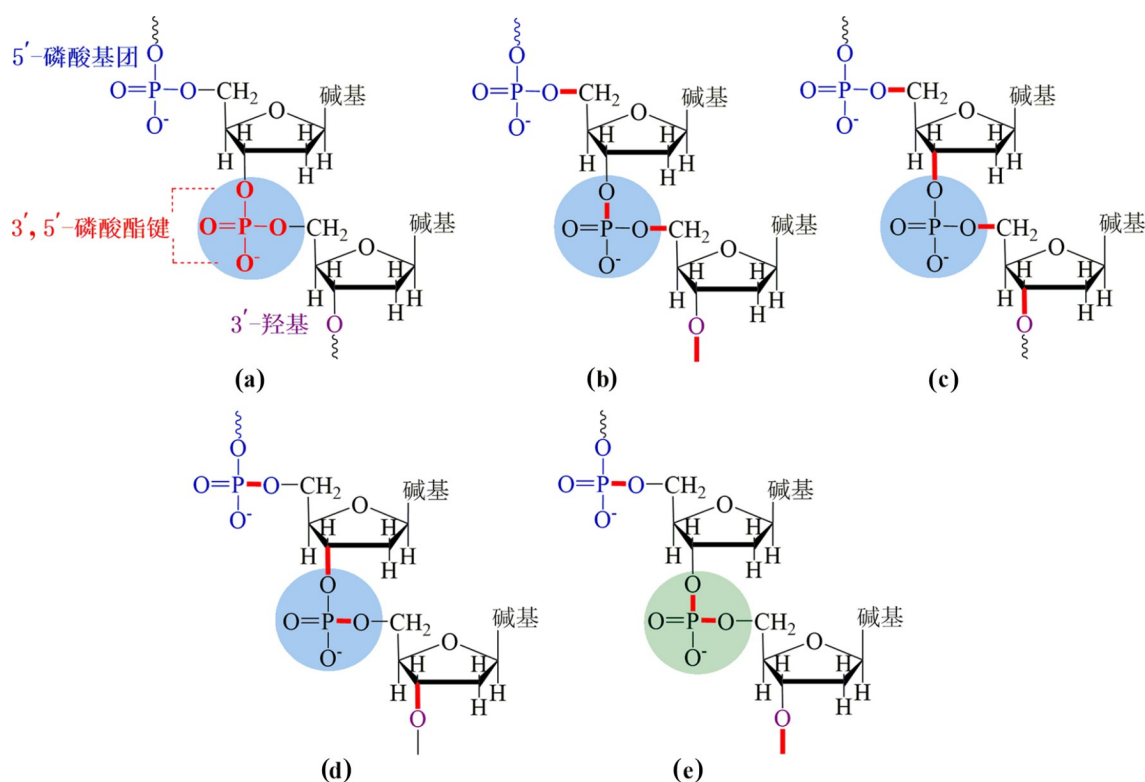
结合多聚核苷酸链中3',5'-磷酸二酯键的可能形式,得到以下5种有待商榷形式(图1)。

1.1 3',5'-磷酸二酯键是一个化学基团

一些文献^[5,7,9,11]、生物化学教材^[15,16]和网络平台等将3',5'-磷酸二酯键在分子结构中标注或阐释为一种化学基团。百度百科词条中3',5'-磷酸二酯键的解释为:磷酸和两个五碳糖的羟基(3'-OH、5'-OH)发生酯化反应形成的化学基团为磷酸二酯键。需要注意的是,磷酸二酯键是一种化学基团,而不是通常化学意义上所说的共价键或离子键,如图1(a)所示。

1.2 3',5'-磷酸二酯键中的“二”具有多重含义

黄建华^[13]认为,3',5'-磷酸二酯键中的“二”意指包含了两个磷酸酯键,一个是五碳糖3'-OH与磷酸形成的酯键,另一个是五碳糖5'-OH与磷酸形成的酯键,两个酯键在一起合称为磷酸二酯键。五碳糖5'-OH与磷酸形成的酯键存在于单个核苷酸内部,而两个核苷酸之间,一个核苷酸的五碳糖的第3号碳上的羟基与下一个核苷酸上第5号位的磷酸又脱水缩合形成了第二个酯键,磷酸二酯键就



红色加粗标注为酯化反应连接键

图1 多聚核苷酸链中3',5'-磷酸二酯键的可能形式

是指这个键, 这里的“二”就是指第二的意思。黄永海^[11]认为, 磷酸二酯键中的“二”既不是“两个酯键”, 也不是“第二酯键”的意思, 而是磷酸的两个“-OH”酯化了的意思, 类似的名词还有“单磷酸酯”“磷酸三酯”。

1.3 3',5'-磷酸二酯键分别为C-O(5'位酯键)与P-O(3'位酯键)之间的共价键

网络平台上有人认为, 3',5'-磷酸二酯键通过戊糖上5'-OH脱-OH、3'-OH脱-H的形式与磷酸基团作用形成, 即5'位酯键在C-O之间, 3'位酯键在P-O之间, 如图1(b)所示。

1.4 3',5'-磷酸二酯键均为C-O之间的共价键

3',5'-磷酸二酯键分别由戊糖上3'-OH和5'-OH均脱-OH与同一磷酸均脱-H在C与O之间形成。刘冲等^[14]认为, 磷酸二酯键常表示为3',5'-磷酸二酯键, 该名称既表明磷酸酯键的数量, 也表明酯键的位置, 但其在相邻两个核苷酸之间形成磷酸二酯键图中的标示为图1(c)所示。

1.5 3',5'-磷酸二酯键分别为C-O(3'位酯键)与P-O(3'位酯键)之间的共价键

3',5'-磷酸二酯键亦可以戊糖5'-OH脱-H、3'-OH脱-OH的形式与磷酸基团作用形成, 即5'位酯键在P-O之间, 3'位酯键在C-O之间, 如图1(d)所示。

1.6 3',5'-磷酸二酯键均为P-O之间的共价键

本课题组^[3,4]认为, 3',5'-磷酸二酯键以戊糖5'-OH、3'-OH均脱-H的形式与磷酸基团作用形成, 即5'位酯键、3'位酯键均在P-O之间, 如图1(e)所示。

针对1.1-1.6六种有待商榷形式, 接下来根据相关化学概念、酯化反应机理、生物体内3',5'-磷酸二酯键产生方式等进行一一探讨。

2 化学键、化学基团、酯基、酯键和磷酸酯键

针对1.1的观点, 首先需要明晰化学键和化学基团两个化学术语, 其次再确认酯键和酯基的化

学内涵。

2.1 化学键

根据化学上对共价键的描述^[19], 价键理论从“形成共价键的电子只处于形成共价键的两原子之间”的定域观点出发, 而分子轨道理论则以“形成共价键的电子是分布在整个分子之中”的离域观点为基础; 虽然离域的描述更为确切, 但定域描述比较直观形象, 易于理解。因此, 现在仍较多地使用价键理论, 而分子轨道理论通常用来描述离域体系。在离域分子中, 参与共轭体系的所有 π 电子的游动并不局限在两个原子附近, 而是扩展到组成共轭体系的所有原子间, 这样的共轭 π 键也叫大 π 键、离域 π 键或非定域键。再结合化学上对化学键概念及分类的阐述, 化学键属于一种作用力, 一般的共价键如 σ 键为仅存于两个原子之间的作用力, 离域 π 键则为存在于多个原子之间的作用力^[20]。因此, 如果分子内存在离域键, 便易与包括此离域键的基团混淆。

2.2 化学基团

根据化学关于化学基团和官能团的定义, 化学基团(官能团/自由基)由原子或/及原子间的化学键组成^[21], 和化学键内涵不同, 是两个不同的概念, 不能混为一谈。

2.3 有机羧酸酯键及酯基

有机羧酸和醇反应生成酯, 酯基为 $R_1\text{-COO-}R_2$ 中的 $\text{-COO-}R_2$, 如图2(a)所示。有机羧酸酯分子内的羰基、 $-R_1$ 和 -OR_2 三个基团在同一平面上, 且键角都接近 120° , 羰基中的C为 sp^2 杂化, 形成的三个杂化轨道分别与相邻原子形成3个 σ 键, 3个 σ 键处于同一平面, 羰基C上未参与杂化的P轨道与羰基O的P轨道侧面重叠形成 π 键, 烷氧基O的孤对电子与 π 键形成p- π 共轭的 π_3^4 离域键^[22], 如图2(b)所示。因此, 有机羧酸和醇反应形成的酯键, 不仅是酯基中C与O之间的 σ 键, 还包括存在于O-C-O之间的1个 π_3^4 离域键, 而伴随 σ 键形成的离域键因存在于整个O-C-O基团之间, 酯键极易与酯基混淆。但

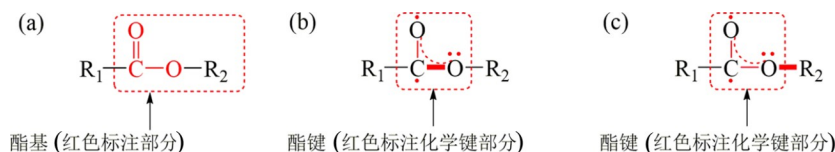


图2 有机羧酸酯基和酯键示意图

若有机羧酸酯以烷氧键断裂的方式形成, 则有机羧酸和叔醇反应生成的酯键为叔烷基和氧之间的 σ 键, 如图2(c)所示(较为少见)。

2.4 磷酸酯键及磷酸酯基

H_3PO_4 分子为含有(p-d) π 配键的含氧酸^[23]: 中心P的3s、3p轨道上成对电子中的1个被激发, 同时进行 sp^3 杂化, 4个 sp^3 杂化轨道与4个O形成4个 σ 键, 其中未与H相连的O还可与P的3d电子形成(p-d) π 键(过去认为P与非羟基O间的化学键是双键 $\text{P}=\text{O}$ 或一般配位键 $\text{P}\rightarrow\text{O}$)。这个O与P之间的键可近似地看作双键[1个 σ 键、1个(p-d) π 键], 如图3(a)所示。由此可知, 无论磷酸酯键的形成是以何种断裂方式(见4.4酯化反应及其机制), 磷酸二酯键都仅为2个单纯 σ 键, 都未形成离域大 π 键, 其成键方式应如图3(b)及图3(c)中红色标示键所示。磷酸二酯键是存在于磷酸二酯基中的2个化学键, 磷酸酯键与磷酸酯基是两个不同的化学术语。

综上所述, 关于1.1中3',5'-磷酸二酯键是一个化学基团, 这种说法是有待商榷的。

3 有机化合物命名规则中“二”的内涵

根据有机化合物的命名规则: 中文数字一、二、三、四、五……用于表示所命名化合物中相同原子、取代基或特征性基团的个数, 通常“一”字省略^[24], “单”字通常亦省略, 仅用于多特性基团的化合物中, 表达仅有某一基团被修饰。因此, 3',5'-磷酸二酯键中的“二”仅为两个酯键的意义。3'-磷酸酯键、5'-磷酸酯键即为3'-磷酸单酯键和5'-磷酸单酯键。

因此, 关于1.2中3',5'-磷酸二酯键中的“二”

的多重理解有待商榷。

4 酯化反应及其机制

通常所说的酯化反应是指醇和酸作用生成酯和水的反应。羧酸和醇反应脱水形成酯时, 随着羧酸和醇结构及反应条件不同, 酯键形成的方式也不同^[21,25]。运用氧同位素标记的醇($\text{R}'^{18}\text{OH}$)在酸催化下与羧酸进行酯化反应研究, 根据反应生成的 H_2O 中是否含 ^{18}O , 发现醇和羧酸反应有酰氧键断裂(由于它是在醇或酚羟基的氧原子上引入酰基的过程, 故又称为O-酰化反应)和烷氧键断裂两种方式(图4)。伯醇或仲醇的酯化反应属于方式(I), 而叔醇的酯化属于方式(II), 反应机理分别为 $\text{S}_{\text{N}}2$ 亲核取代反应(图5)和 $\text{S}_{\text{N}}1$ 亲核取代反应(图6)。

由上述反应机理可知, 酯化反应的两种断裂方式, 尽管产物都是 RCOOR' , 但酯分子内烷氧基的“O”来源却不同, 致使新键形成于不同部位。在这两种形式中酰氧键断裂方式较为常见, 为人所熟知, 而烷氧键断裂方式易被忽略, 甚少为人所知。

3',5'-磷酸二酯键存在于核酸链中戊糖(文中皆指 β -D-核糖或 β -D-2-脱氧核糖)和无机含氧酸磷酸基团之间, 由戊糖3'-OH、5'-OH与磷酸基团作用形成。根据脱去 H_2O 中H和OH或磷酸二酯基团内P-O中O来源不同, 3',5'-磷酸二酯键中新键形成部位就可能有4种形式, 如图1(b)-(e)所示。

如果3',5'-磷酸二酯键由磷酸和戊糖通过酯化反应直接形成, 戊糖上3'-OH属于仲醇-OH, 5'-OH属于伯醇-OH, 结合醇的分子结构对酯化反应的影响

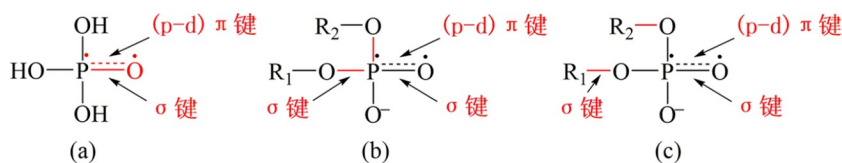
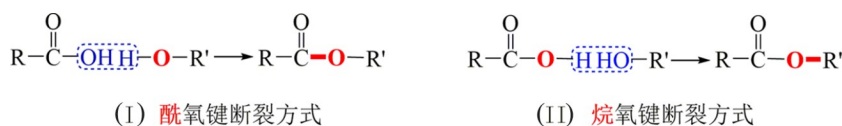


图3 磷酸分子与磷酸二酯分子内P与O的成键类型

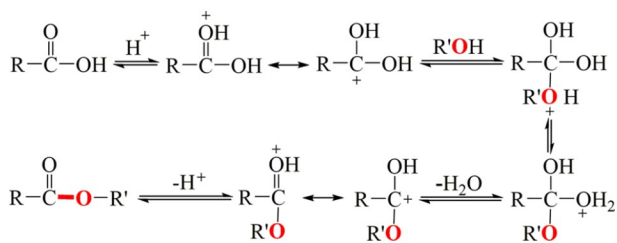


(I) 酰氧键断裂方式

(II) 烷氧键断裂方式

酯化反应形成键用红色标注

图4 酯/酯键的形成方式



酯化反应形成键用红色标注

图5 酯化反应酰氧键断裂方式机理

响, 酯化反应时都应该属于酰氧键断裂方式, 且由于戊糖环空间位阻的影响, 5'-OH应更易与磷酸反应, 则不会出现戊糖上5'-OH脱-OH、3'-OH脱H反应形式, 如图1(b)所示。磷酸二酯键形成时, 并非由戊糖和磷酸直接形成, 不同于常见的酯化反应。因此, 1.3 3',5'-磷酸二酯键分别为C-O与P-O之间的共价键论述亦有待考证。

5 生物体内多聚核苷酸链中3',5'-磷酸二酯键的形成机制

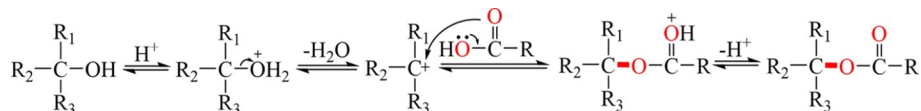
5.1 生物体内多聚核苷酸链中3'-磷酸酯键的形成机理

核苷酸/多聚核苷酸链中3'-磷酸酯键不是由戊糖上3'-OH与磷酸基团直接形成, 而是在DNA或RNA进行生物合成时, 以一股DNA单链为模板, 在相应聚合酶催化下, 由引物或者延伸链末端提供3'-OH, 亲核进攻dNTP或NTP中 α -磷酸基团的P, 脱去焦磷酸基团, 形成3'-磷酸酯键, 为酰氧键

断裂方式, 故酯键在P-O之间。复制过程中多聚脱氧核糖核苷酸链延伸如图7所示。邓嫻^[27]详细阐述了DNA合成的起始、延伸及终止阶段, 在形成磷酸二酯键时脱下的是焦磷酸或烟酰胺单核苷酸及AMP, 而没有水分子的生成。因此, 3'-磷酸酯键的形成机制不同于普通的酯化反应, 但仍属于 S_N2 亲核取代反应, 所形成的酯键即为图7中粉色标注键。

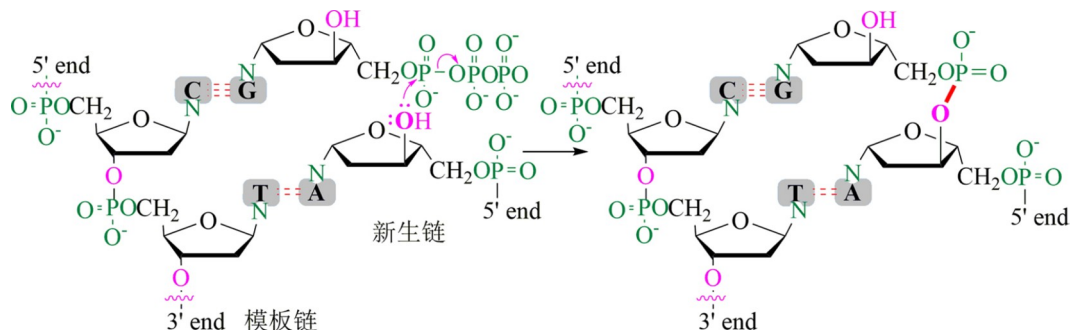
5.2 生物体内核苷酸/多聚核苷酸链中5'-磷酸酯键的形成机理

核苷酸/多聚核苷酸链中5'-磷酸酯键也不是由戊糖上5'-OH与磷酸基团直接形成的。由于DNA/RNA的生物合成路径为G-6-P $\rightarrow$ 磷酸戊糖 $\rightarrow$ PRPP $\rightarrow$ NDP $\rightarrow$ (dNDP) $\rightarrow$ dNTP/NTP $\rightarrow$ DNA/RNA, 又知由G-6-P至DNA最终合成形成的多聚核苷酸链的整个过程中, 磷酸基团和葡萄糖分子中6-C之间磷酸酯键未参与反应。因此, G-6-P中磷酸酯键的位置即为DNA或RNA中磷酸戊糖间酯键的位置, 即5'-磷酸酯键的位置。G-6-P源于葡萄糖和ATP作用的磷酸基转移反应, 葡萄糖(多羟基醛)分子6-OH亲核进攻ATP分子 γ -磷酸基, 使其 γ -磷酸与 β -磷酸间的磷酸酐键断裂, 形成6-磷酸酯键, 该反应属于 S_N2 亲核取代, 属于酰氧键断裂方式, 故酯键在P-O之间, 见图8中粉色标注键。G-6-P不能由葡萄糖和磷酸直接合成, 因为磷酸的OH⁻较ATP中的-ADP基团难以离去^[18,28]。



酯化反应形成键用红色标注

图6 酯化反应烷氧键断裂方式机理

图7 复制过程中多聚脱氧核糖核苷酸链延伸机理示意图^[26]

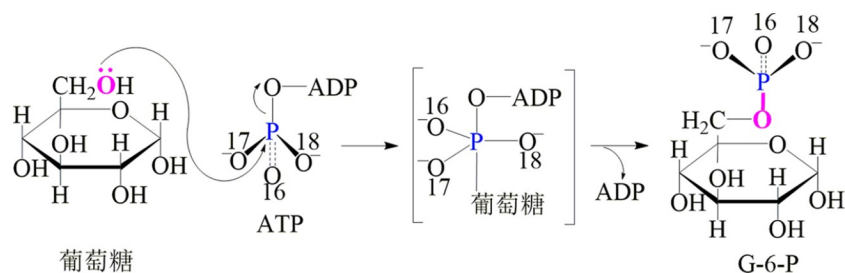


图8 G-6-P生成反应机理

综合3',5'-磷酸二酯键中3'-磷酸酯键和5'-磷酸酯键的形成机制可知, 3',5'-磷酸二酯键的具体键位应如图1(c)所示, 图1(b)-(d)中的标示都是有待商酌的。

6 结束语

针对各种媒介对3',5'-磷酸二酯键内涵的多种认识, 综合运用各相关化学概念、酯化反应机理和生物体内磷酸酯键形成机制等相关知识进行逐一辨析, 得出3',5'-磷酸二酯键是磷酸基团上两个-OH均脱去-H, 邻近戊糖基团的3'-OH、5'-OH均脱去-H所形成的两个酯键——3'-磷酸酯键和5'-磷酸酯键。核酸分子中核苷酸残基的连接方式为3'-磷酸酯键。

如果要科学掌握3',5'-磷酸二酯键的内涵, 就需要精于生物学、化学及生物化学等多门学科知识。教学时如果囿于学科壁垒, 交叉学科的知识体系将难以有效融合, 而封闭式单一学科的教学, 将使专业知识传授之深度、宽度和准确度等三维受限; 同时, 思维是教学活动的灵魂, 失去思维的教学活动将成为无根之木、无源之水, 知识的传播亦成为全盘复制。因此, 教学需要教师拓宽知识边缘, 增强交叉学科间的知识交融, 编著科学严谨的教材, 探索有利于思维能力培养的教法, 方可使教学成为真正有意义的教学。另外, 期望相关学科权威专家学者针对学科中颇具争议的知识点, 进行集体探讨、达成合理共识, 并在教材、考试大纲等资料上做相应修改, 共同捍卫教学的科学性!

参考文献

[1] Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*,

1953, 171(4356): 737-738
 [2] Pauling L, Corey RB. Structure of the nucleic acids. *Nature*, 1953, 171(4347): 346
 [3] 杜秀红, 崔节虎, 刘隽, 等. 高等院校生物化学教材某些概念科学性探讨. *医学争鸣*, 2017, 8(4): 66-69
 [4] 杜秀红, 崔节虎, 刘隽, 等. 探讨生物化学教材中的某些化学问题. *化工时刊*, 2012, 26(12): 56-59
 [5] 李品艾, 杨艳杰, 张玲. 生物化学教材中几个值得商榷的化学问题探讨. *中国继续医学教育*, 2016, 8(29): 26-27
 [6] 杨荣武. 生物化学典型错误释疑. *生命的化学*, 2021, 41(7): 1321-1328
 [7] 解黎明. 浅谈磷酸二酯键的生成与断裂. *生物学教学*, 2018, 43(7): 79-80
 [8] 贺新义. 高中生物学教材中涉及的4种化学键辨析. *生物学教学*, 2013, 38(11): 68-69
 [9] 梁长余. 关于氢键和磷酸二酯键. *生物学教学*, 2011, 36(6): 69
 [10] 郭丽丽. 人教版高中生物教材的内容问题探讨[D]. 济南: 山东师范大学, 2015
 [11] 黄永海. 浅析磷酸二酯键. *中学生物教学*, 2011(3): 27-28
 [12] 徐乐, 李胜杰. 关于磷酸二酯键、磷酸键和高能磷酸键的辨析. *生物学教学*, 2017, 42(1): 70-71
 [13] 黄建华. 如何理解磷酸二酯键中的“二”. *中学生物教学*, 2010(Z1): 48
 [14] 刘冲, 申屠英辉. 浅谈高中生物学教材中的“酯”. *生物学教学*, 2016, 41(4): 78-80
 [15] 邵帅, 田延军, 赵祥颖, 等. 5'-磷酸二酯酶的应用与研究进展. *中国酿造*, 2010, 218(5): 26-30
 [16] 查锡良, 药立波, 周春燕, 等. 生物化学与分子生物学(第9版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 35
 [17] 吕士杰, 王志刚, 罗洪斌, 等. 生物化学(第8版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 123
 [18] 朱圣庚, 徐长法, 王镜岩, 等. 生物化学(第4版, 下册)[M]. 北京: 高等教育出版社. 2002: 4-5, 40-41, 128-129
 [19] 天津大学有机化学教研室, 张文勤, 郑艳, 等. 有机化学(第5版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2014: 3-9
 [20] 天津大学无机化学教研室. 无机化学(第5版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2018: 135-139
 [21] 高鸿宾. 有机化学(第4版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 20, 437

- [22] 姚天扬, 孙尔康, 曹健, 等. 有机化学(下)[M]. 南京: 南京大学出版社, 2014: 117
- [23] 天津大学无机化学教研室. 无机化学(第5版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2018: 280-281, 432-433
- [24] 中国化学会有机化合物命名审定委员会. 有机化合物命名原则[M]. 北京: 科学出版社, 2018: 14
- [25] 天津大学有机化学教研室, 张文勤, 郑艳, 等. 有机化学(第5版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2014: 427-428
- [26] John MM. Organic Chemistry (9th Ed) [M]. Boston: Cengage Learning, 2015: 948
- [27] 邓姗. 简析高中生物教学中的问题“DNA的复制过程中有水分子的产生吗”. 考试周刊, 2014(90): 137
- [28] Paula YB. Organic Chemistry (7th Ed) [M]. Boston: Pearson Education, Inc. 2014: 1172

勘误

本刊2023年第8期第1252页英文单位中的“²Affiliated Hospital of Wanfang Medical University”有误, 现更正为“²Affiliated Hospital of Weifang Medical University”。特此更正。

《生命的化学》编辑部