

蛋白质的生物合成 Protein Biosynthesis (Translation)



刘贇
yliu39@fudan.edu.cn
<https://liulab.fudan.edu.cn/>

C ONTENTS

01 第一节 蛋白质生物合成体系

02 第二节 蛋白质生物合成过程

03 第三节 蛋白质的成熟

04 第四节 蛋白质生物合成的干扰与抑制

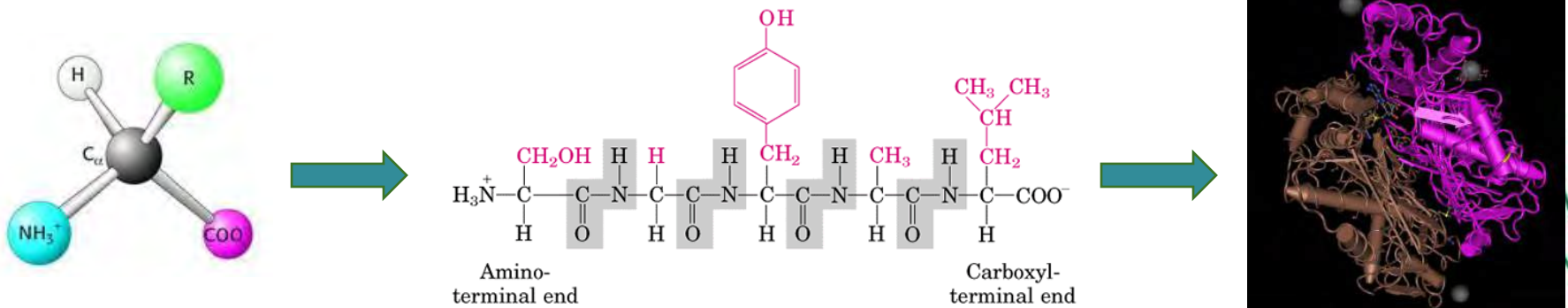


蛋白质生物合成的概念

蛋白质生物合成(**protein biosynthesis**)也称**翻译(translation)**，是生物细胞以mRNA为模板，按照mRNA分子中核苷酸的排列顺序所组成的密码信息合成蛋白质的过程。

反应过程

- 氨基酸的活化
- 肽链的生物合成
- 肽链形成后的加工和靶向输送



第一节

蛋白质生物合成体系

Protein Biosynthesis System



蛋白质生物合成体系

三种RNA

- 基本原料：20种编码氨基酸

- 模板：mRNA

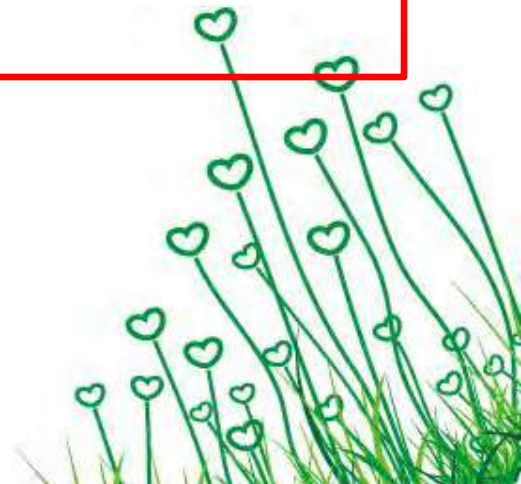
- 适配器：tRNA——携带氨基酸，按照模板装配

- 装配机：核蛋白体，rRNA

- 主要酶和蛋白质因子：氨基酰-tRNA合成酶、转肽酶、起始因子、延长因子、释放因子等

- 能源物质：ATP、GTP

- 无机离子： Mg^{2+} 、 K^{+}



一、遗传密码的“携带者”——mRNA

○mRNA的基本结构



从mRNA 5'-端起始密码子AUG到3'-端终止密码子之间的核苷酸序列，称为开放阅读框架(open reading frame, ORF)。

(一) 模板

- 以DNA为模板，按碱基互补规律合成mRNA，从而转录了DNA分子中的遗传信息。
- 以这些mRNA为模板，合成的蛋白质的结构和功能多种多样。
- 遗传信息从mRNA到蛋白质，需要遗传密码。

(二) 遗传密码

密码子 (codon)

在mRNA的开放阅读框架区，以每3个相邻的核苷酸为一组，代表一种氨基酸(或其它信息)，这种三联体形式的核苷酸序列称为密码子。

起始密码子和终止密码子：

- 起始密码子(initiation codon)： **AUG**
- 终止密码子(termination codon)： **UAA、UAG、UGA**

遗传密码表

第 1 位碱基 (5'-端)	第 2 位碱基				第 3 位碱基 (3'-端)
	U	C	A	G	
U	UUU } 苯丙氨酸	UCU } 丝氨酸	UAU } 酪氨酸	UGU } 半胱氨酸	U
	UUC }	UCC }	UAC }	UGC }	C
	UUA } 亮氨酸	UCA }	UAA } 终止	UGA } 终止	A
	UUG }	UCG }	UAG }	UGG } 色氨酸	G
C	CUU } 亮氨酸	CCU } 脯氨酸	CAU } 组氨酸	CGU } 精氨酸	U
	CUC }	CCC }	CAC }	CGC }	C
	CUA }	CCA }	CAA } 谷氨酸	CGA }	A
	CUG }	CCG }	CAG }	CGG }	G
A	AUU } 异亮氨酸	ACU } 苏氨酸	AAU } 天冬酰胺	AGU } 丝氨酸	U
	AUC }	ACC }	AAC }	AGC }	C
	AUA }	ACA }	AAA } 赖氨酸	AGA } 精氨酸	A
	AUG } 甲硫氨酸*	ACG }	AAG }	AGG }	G
G	GUU } 缬氨酸	GCU } 丙氨酸	GAU } 天冬氨酸	GGU } 甘氨酸	U
	GUC }	GCC }	GAC }	GGC }	C
	GUA }	GCA }	GAA } 谷氨酸	GGA }	A
	GUG }	GCG }	GAG }	GGG }	G

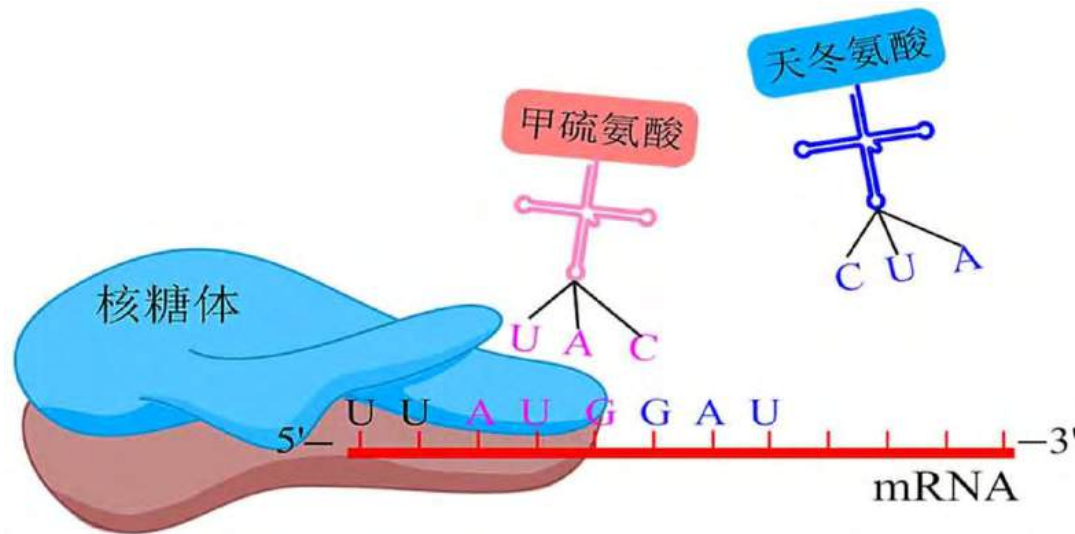
* 位于 mRNA 起始部位的 AUG 又为肽链合成的起始密码子



遗传密码的特点

1、密码的方向性

翻译时遗传密码的阅读方向是5'→3'，即读码从mRNA的起始密码子AUG开始，按5'→3'的方向逐一阅读，直至终止密码子。



mRNA的阅读框架



2、密码的连续性

编码蛋白质氨基酸序列的各个三联体密码连续阅读，密码子及密码子的各碱基之间既无间隔也无交叉。

5'.....AUGGCAGUACAU.....UAA 3'

Met

Ala

Val

His

终止密码



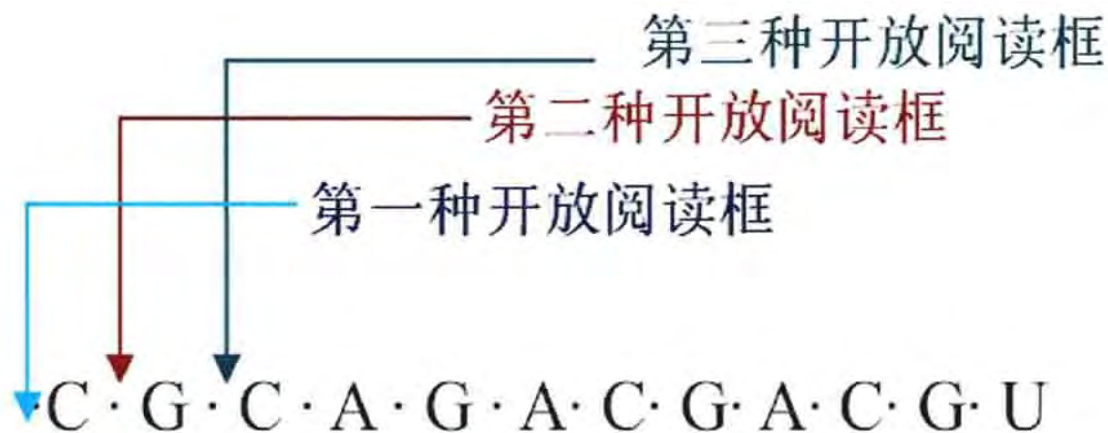
由于密码子的连续性，在开放阅读框中插入或缺失1个或2个碱基的基因突变，都会引起这一点以后的读码发生错误，这种错误称为**阅读框移位(frame shift)**。

基因损伤引起mRNA阅读框架内的碱基发生插入或缺失，可能导致**框移突变(frameshift mutation)**。

5'.....AUG **↓** GCA GUACAU UAA 3'
Met Ala Val His 终止密码

5'.....AUG CAG UAC AU UAA 3'
Met Glu Ser





Arg — Arg — Arg — ... 第一种开放阅读框

Val — Asp — Asp — ... 第二种开放阅读框

Glu — Thr — Thr — ... 第三种开放阅读框

不同的开放阅读框会产生完全不同的多肽链



3、密码的简并性与摆动性

一种氨基酸可由2个或2个以上的密码子编码。这一特性称为遗传密码的**简并性 (degeneracy)**。

除色氨酸和甲硫氨酸仅有1个密码子外，其余氨基酸有2、3、4个或多至6个三联体为其编码。为同一种氨基酸编码的各密码子称为**简并性密码子**，也称**同义密码子**。

各种氨基酸的密码子数目

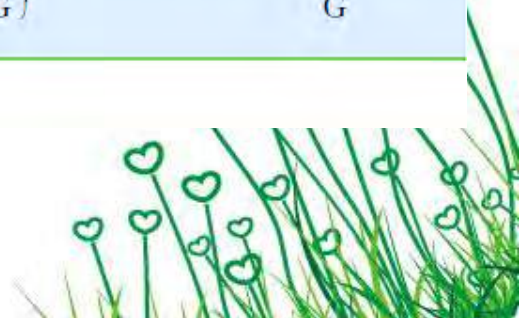
氨基酸	密码子数目	氨基酸	密码子数目
Ala	4	Leu	6
Arg	6	Lys	2
Asn	2	Met	1
Asp	2	Phe	2
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Ser	6
Glu	2	Thr	4
Gly	4	Trp	1
His	2	Tyr	2
Ile	3	Val	4



遗传密码表

第 1 位碱基 (5'-端)	第 2 位碱基				第 3 位碱基 (3'-端)
	U	C	A	G	
U	UUU } 苯丙氨酸	UCU } 丝氨酸 ▲	UAU } 酪氨酸	UGU } 半胱氨酸	U
	UUC } 亮氨酸 ▲	UCC } 丝氨酸 ▲	UAC } 酪氨酸	UGC } 半胱氨酸	C
	UUA } 亮氨酸 ▲	UCA } 丝氨酸 ▲	UAA } 终止	UGA } 终止	A
	UUG } 亮氨酸 ▲	UCG } 丝氨酸 ▲	UAG } 终止	UGG } 色氨酸	G
C	CUU } 亮氨酸 ▲	CCU } 脯氨酸	CAU } 组氨酸	CGU } 精氨酸 ▲	U
	CUC } 亮氨酸 ▲	CCC } 脯氨酸	CAC } 组氨酸	CGC } 精氨酸 ▲	C
	CUA } 亮氨酸 ▲	CCA } 脯氨酸	CAA } 谷氨酸	CGA } 精氨酸 ▲	A
	CUG } 亮氨酸 ▲	CCG } 脯氨酸	CAG } 谷氨酸	CGG } 精氨酸 ▲	G
A	AUU } 异亮氨酸	ACU } 苏氨酸	AAU } 天冬酰胺	AGU } 丝氨酸 ▲	U
	AUC } 异亮氨酸	ACC } 苏氨酸	AAC } 天冬酰胺	AGC } 丝氨酸 ▲	C
	AUA } 异亮氨酸	ACA } 苏氨酸	AAA } 赖氨酸	AGA } 精氨酸 ▲	A
	AUG } 甲硫氨酸*	ACG } 苏氨酸	AAG } 赖氨酸	AGG } 精氨酸 ▲	G
G	GUU } 缬氨酸	GCU } 丙氨酸	GAU } 天冬氨酸	GGU } 甘氨酸	U
	GUC } 缬氨酸	GCC } 丙氨酸	GAC } 天冬氨酸	GGC } 甘氨酸	C
	GUA } 缬氨酸	GCA } 丙氨酸	GAA } 谷氨酸	GGA } 甘氨酸	A
	GUG } 缬氨酸	GCG } 丙氨酸	GAG } 谷氨酸	GGG } 甘氨酸	G

* 位于 mRNA 起始部位的 AUG 又为肽链合成的起始密码子



- 简并性主要是由于密码的第3位碱基呈摆动。
- 密码子的专一性主要由前2个碱基决定。
- 同义的密码子越多，生物遗传的稳定性越大。
- 简并现象对生物遗传的稳定性具有重要意义。

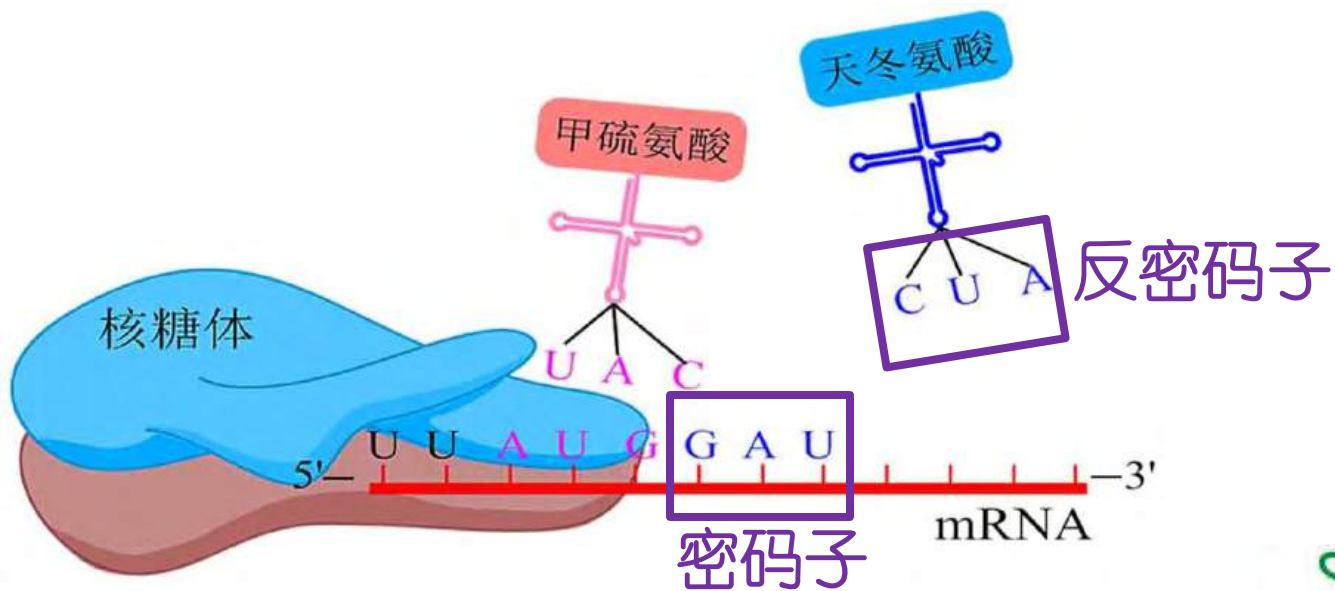
遗传密码表

第 1 位碱基 (5'-端)	第 2 位碱基				第 3 位碱基 (3'-端)
	U	C	A	G	
U	UUU } 苯丙氨酸	UCU } 丝氨酸 ▲	UAU } 酪氨酸	UGU } 半胱氨酸	U
	UUC } 亮氨酸 ▲	UCC } 丝氨酸 ▲	UAC } 酪氨酸	UGC } 半胱氨酸	C
	UUA } 亮氨酸 ▲	UCA } 丝氨酸 ▲	UAA } 终止	UGA } 终止	A
	UUG } 亮氨酸 ▲	UCG } 丝氨酸 ▲	UAG } 终止	UGG } 色氨酸	G
C	CUU } 亮氨酸 ▲	CCU } 脯氨酸	CAU } 组氨酸	CGU } 精氨酸 ▲	U
	CUC } 亮氨酸 ▲	CCC } 脯氨酸	CAC } 组氨酸	CGC } 精氨酸 ▲	C
	CUA } 亮氨酸 ▲	CCA } 脯氨酸	CAA } 谷氨酰胺	CGA } 精氨酸 ▲	A
	CUG } 亮氨酸 ▲	CCG } 脯氨酸	CAG } 谷氨酰胺	CGG } 精氨酸 ▲	G
A	AUU } 异亮氨酸	ACU } 苏氨酸	AAU } 天冬酰胺	AGU } 丝氨酸 ▲	U
	AUC } 异亮氨酸	ACC } 苏氨酸	AAC } 天冬酰胺	AGC } 丝氨酸 ▲	C
	AUA } 异亮氨酸	ACA } 苏氨酸	AAA } 赖氨酸	AGA } 精氨酸 ▲	A
	AUG } 甲硫氨酸*	ACG } 苏氨酸	AAG } 赖氨酸	AGG } 精氨酸 ▲	G
G	GUU } 缬氨酸	GCU } 丙氨酸	GAU } 天冬氨酸	GGU } 甘氨酸	U
	GUC } 缬氨酸	GCC } 丙氨酸	GAC } 天冬氨酸	GGC } 甘氨酸	C
	GUA } 缬氨酸	GCA } 丙氨酸	GAA } 谷氨酸	GGA } 甘氨酸	A
	GUG } 缬氨酸	GCG } 丙氨酸	GAG } 谷氨酸	GGG } 甘氨酸	G

* 位于 mRNA 起始部位的 AUG 又为肽链合成的起始密码子



- 密码子的翻译通过与tRNA的反密码子配对反应而实现。



- 反密码子与密码子之间的配对有时并不严格遵守常见的碱基配对规律，这种现象称为**摆动配对 (wobble base pairing)**。

表 11-2 第 3 位密码子与第 1 位反密码子的摇摆配对

5' - 反密码子碱基	3' - 密码子碱基
C	G
A	U
U	A 或 G
G	U 或 C
I	U、C 或 A



起始密码和终止密码

方向性

连续性

氨基酸序列的特异性

简并性

摆动性

生物遗传的稳定性



4、密码的通用性

从简单的病毒到高等的人类，几乎使用同一套遗传密码，因此，遗传密码表中的这套“通用密码”基本上适用于生物界的所有物种，具有通用性。

密码的通用性进一步证明各种生物进化自同一祖先。



- 已发现少数例外，如动物细胞的线粒体、植物细胞的叶绿体。

通用密码

AUA

异亮

AGA

精

AGG

精

UGA

终止

线粒体密码

甲硫、起始

终止

终止

色



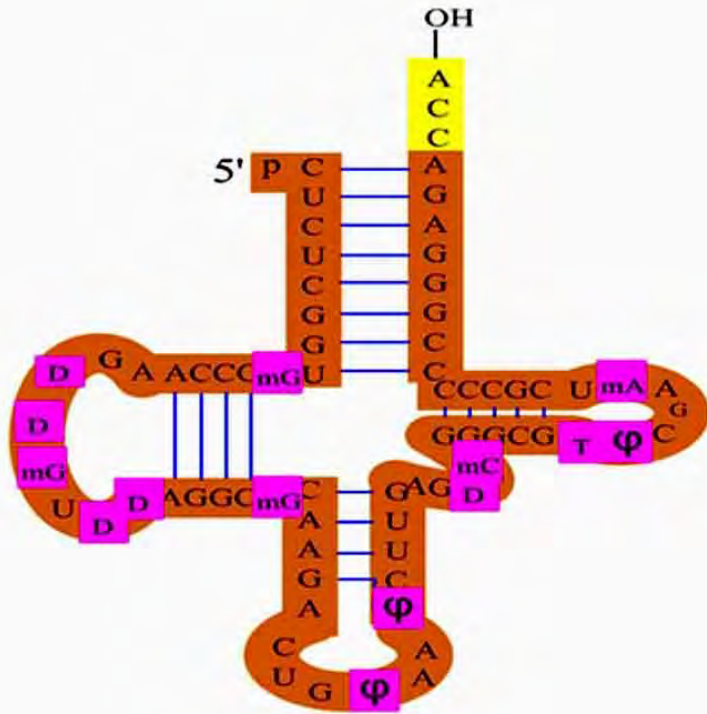
二、氨基酸的“搬运工具”——tRNA

(一) tRNA的种类 60-70种

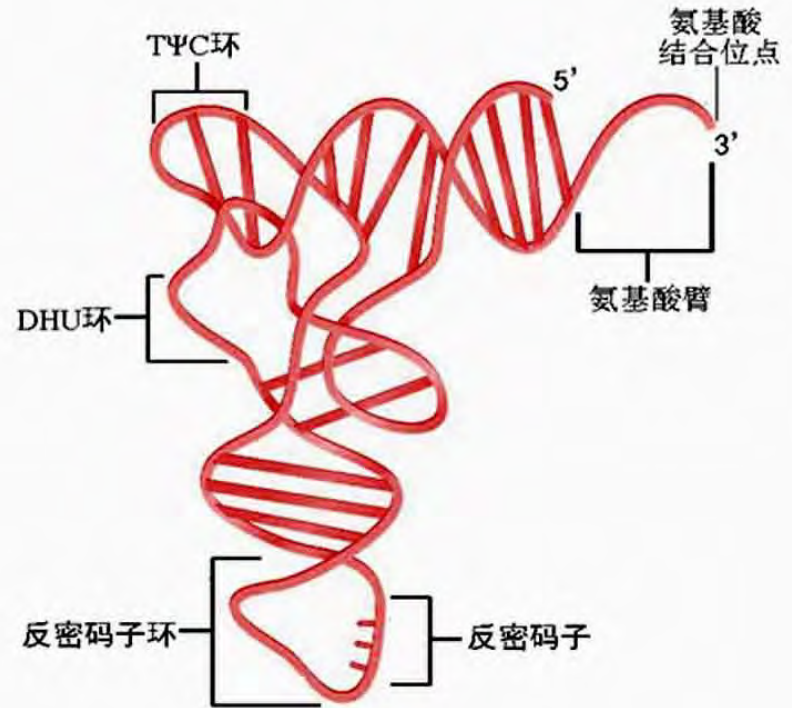
- 运载氨基酸：氨基酸各由其特异的tRNA携带，一种氨基酸可有2-6种对应的tRNA。
- 充当“适配器”：每种tRNA的反密码子决定了所携带的氨基酸能准确地在mRNA上对号入座。
- 不同tRNA的表述方式，采用右上标的不同氨基酸的三字母代号。如 tRNA^{Ser}转运丝氨酸。



(二) tRNA的结构



(a)

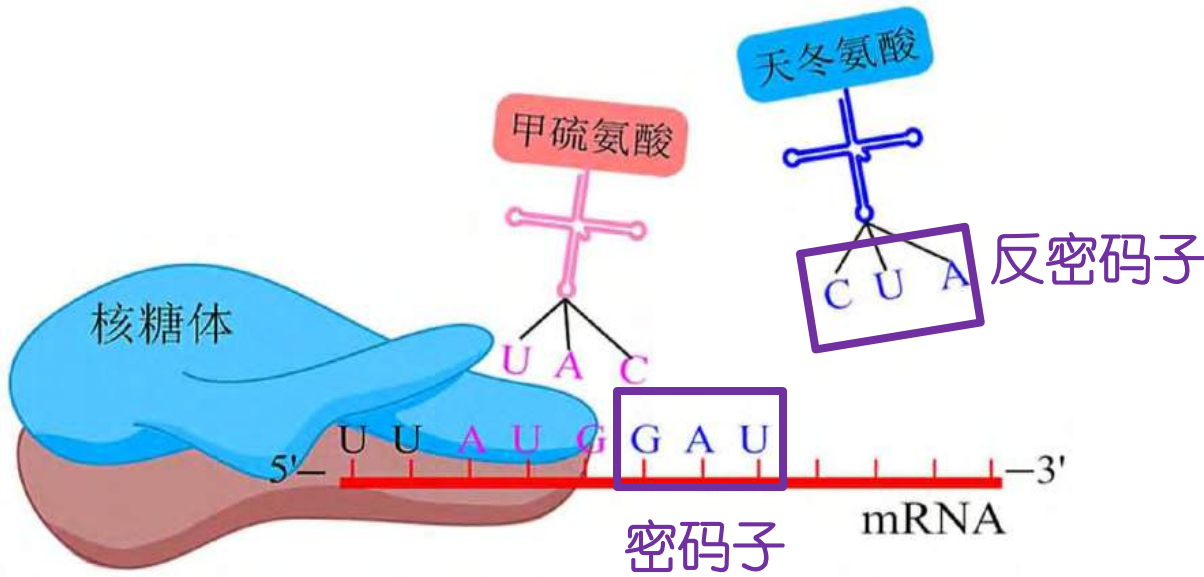


(b)

tRNA的二级结构和三级结构

(a) tRNA分子二级结构 (b) tRNA三级结构

导航



www.pixabay.com/ 1212121212

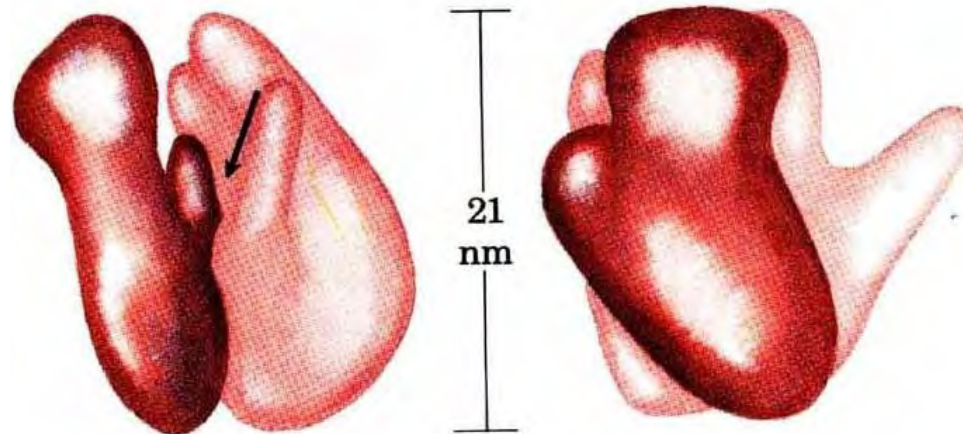


tRNA运载氨基酸至核糖体，通过其反密码子与mRNA相应的密码子互补结合，从而按照mRNA的密码子顺序依次加入氨基酸残基。

三、肽链的装配机——核糖体

○核糖体的组成

核糖体又称核蛋白体，是由rRNA和多种蛋白质结合而成的一种大的核糖核蛋白颗粒，是蛋白质生物合成的场所。

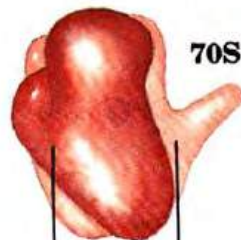


不同细胞核蛋白体的组成

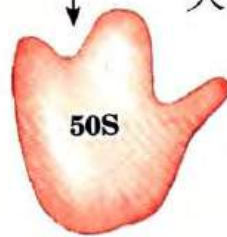
	原核生物			真核生物		
	核蛋白体	小亚基	大亚基	核蛋白体	小亚基	大亚基
S值	70S	30S	50S	80S	40S	60S
rRNA		16S	23S 5S		18S	28S 5.8S 5S
蛋白质		rpS 21种	rpL 36种		rpS 33种	rpL 49种

细菌核蛋白体

$M_r 2.5 \times 10^6$



70S



50S

$M_r 1.6 \times 10^6$
5S rRNA
23S rRNA
36 种蛋白

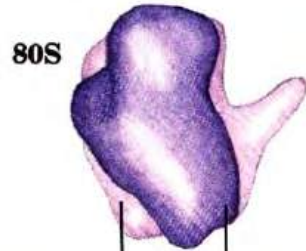


30S

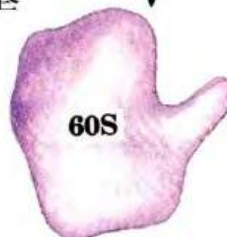
$M_r 0.9 \times 10^6$
16S rRNA
21 种蛋白

真核生物核蛋白体

$M_r 4.2 \times 10^6$



80S



60S

$M_r 2.8 \times 10^6$
5S rRNA
28S rRNA
5.8S rRNA
~ 49 种蛋白



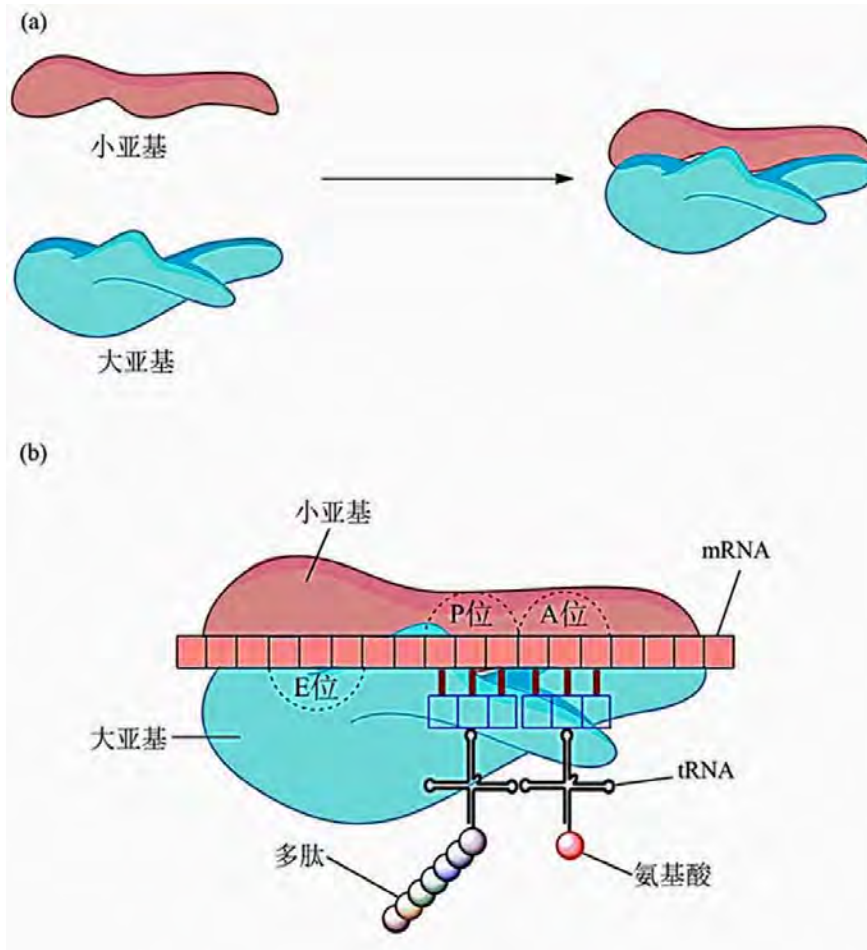
40S

$M_r 1.4 \times 10^6$
18S rRNA
~ 33 种蛋白

大亚基

小亚基

核糖体上的功能部位



A位：氨基酰位
aminoacyl site

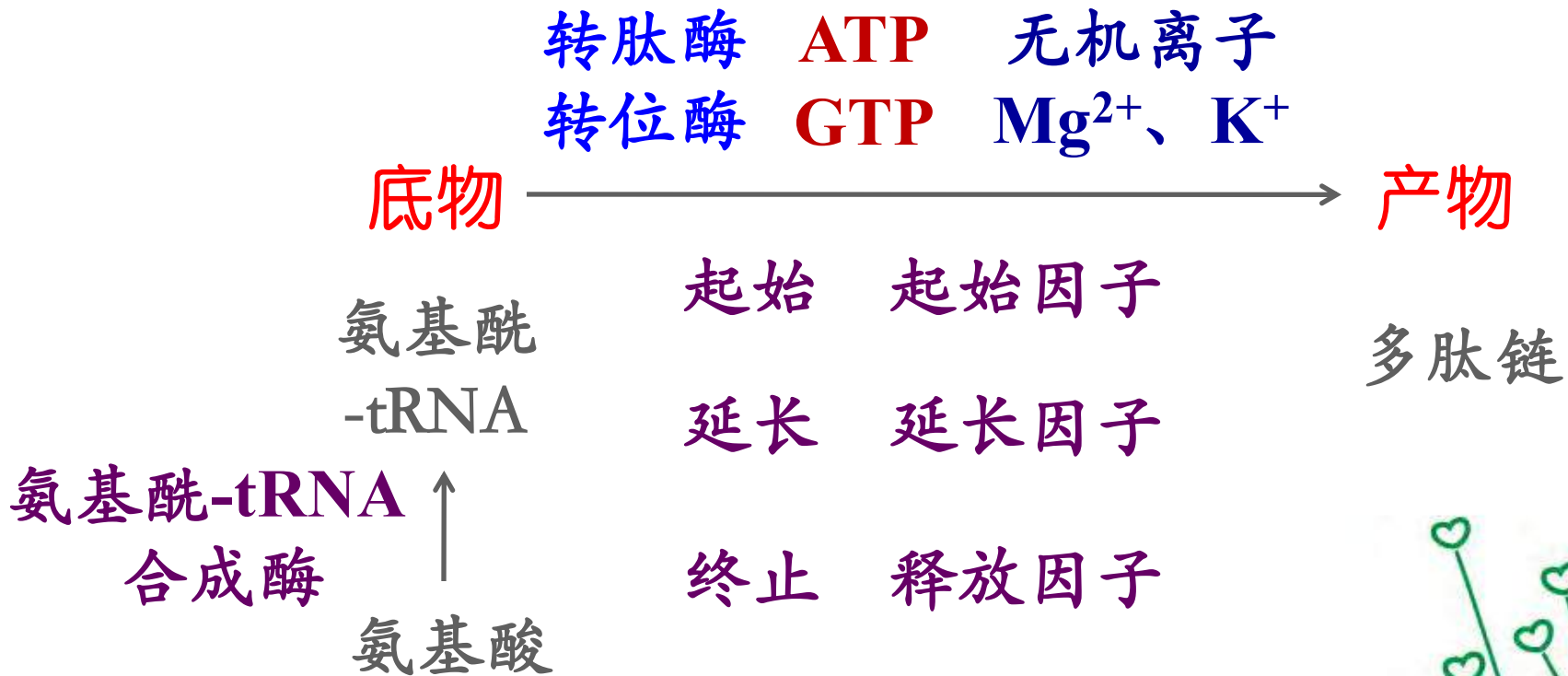
P位：肽酰位
peptidyl site

E位：排出位
exit site

- (a) 核糖体大小亚基结合后形成的间隙为mRNA结合部位；
(b) 翻译过程中的核蛋白体结合模式



四、肽链生物合成需要的酶类和蛋白质因子



第二节

蛋白质的生物合成过程



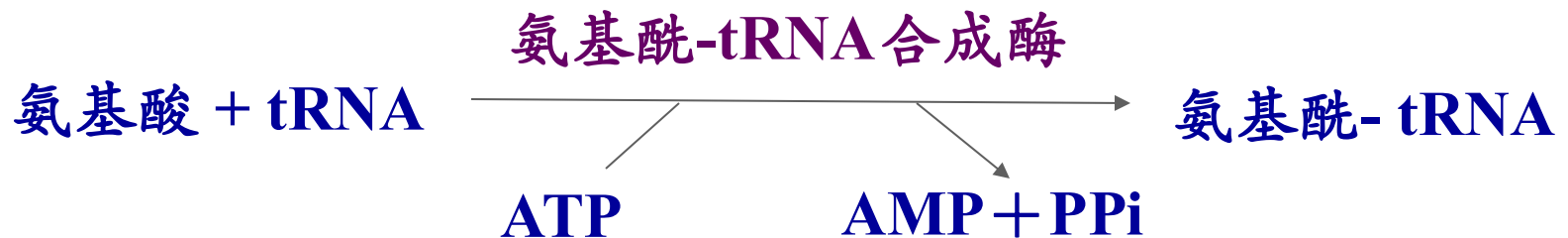
蛋白质的生物合成

- 氨基酸的活化
- 蛋白质合成的起始
- 蛋白质合成的延长
- 蛋白质合成的终止



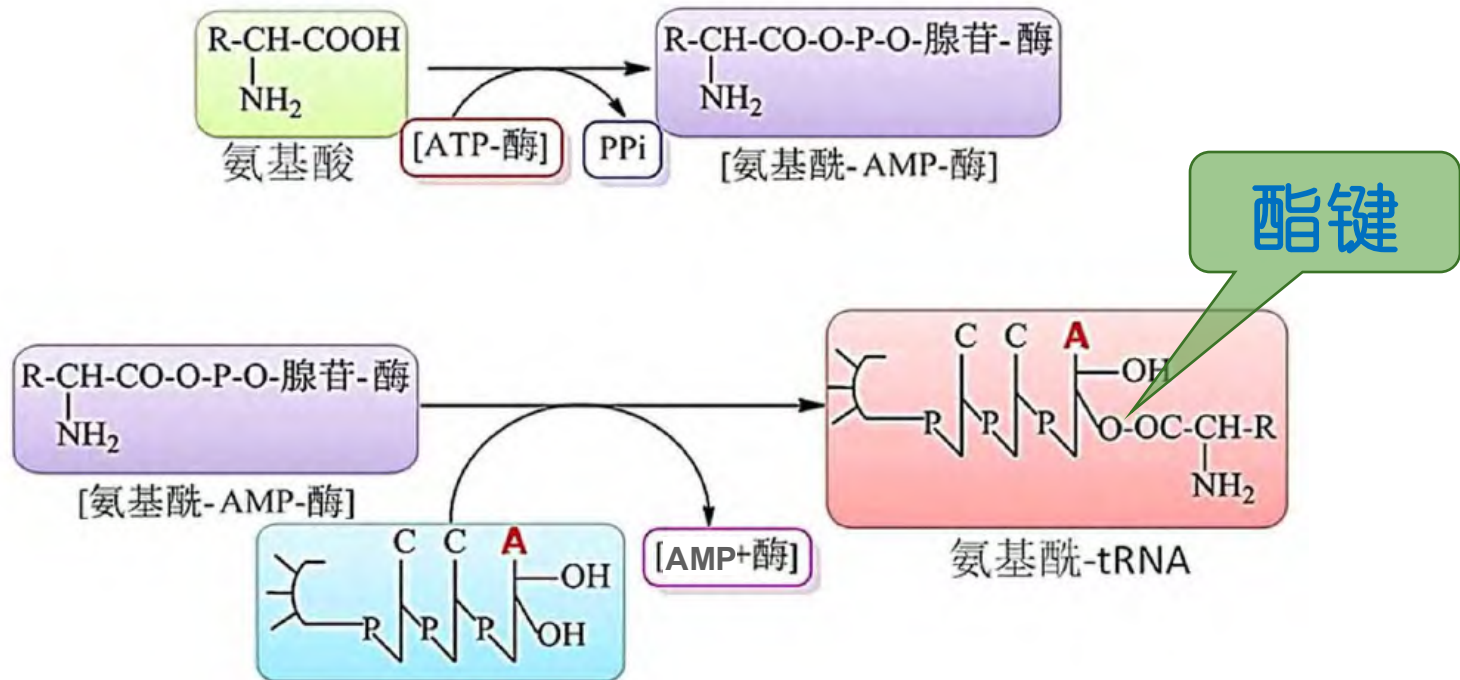
一、氨基酸的活化与搬运

- 氨基酸与特异的tRNA结合形成氨基酰-tRNA的过程称为氨基酸的活化。
- 参与氨基酸的活化的酶：氨基酰-tRNA合成酶。
- 反应过程：



○ 氨基酰-tRNA的形成

1. 氨基酰tRNA合成酶催化ATP分解为焦磷酸与AMP
2. 氨基酸 + AMP-E \longrightarrow 氨基酰-AMP-E
3. 氨基酰-AMP-E + tRNA \longrightarrow 氨基酰-tRNA + AMP + E



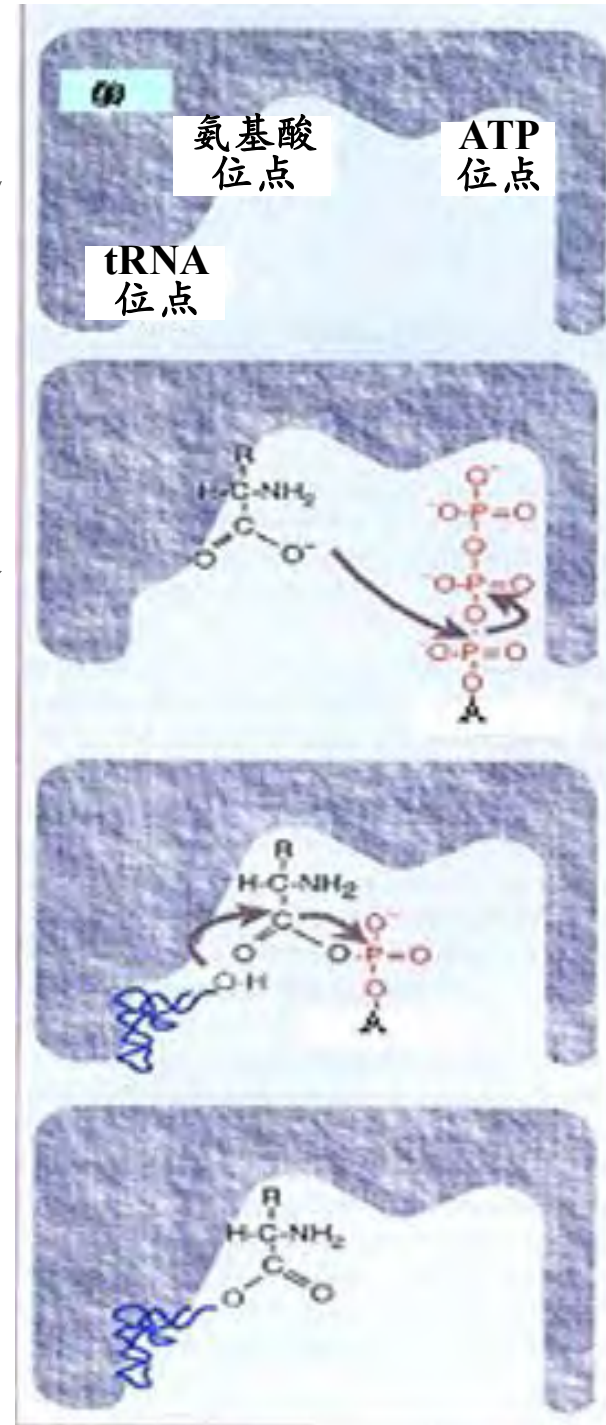
○ 氨基酰-tRNA合成酶

氨基酰-tRNA合成酶的3个结合位点

氨基酸和ATP形成氨基酰腺苷

氨基酰转移到tRNA上

tRNA负载了氨基酸



○ 特性：

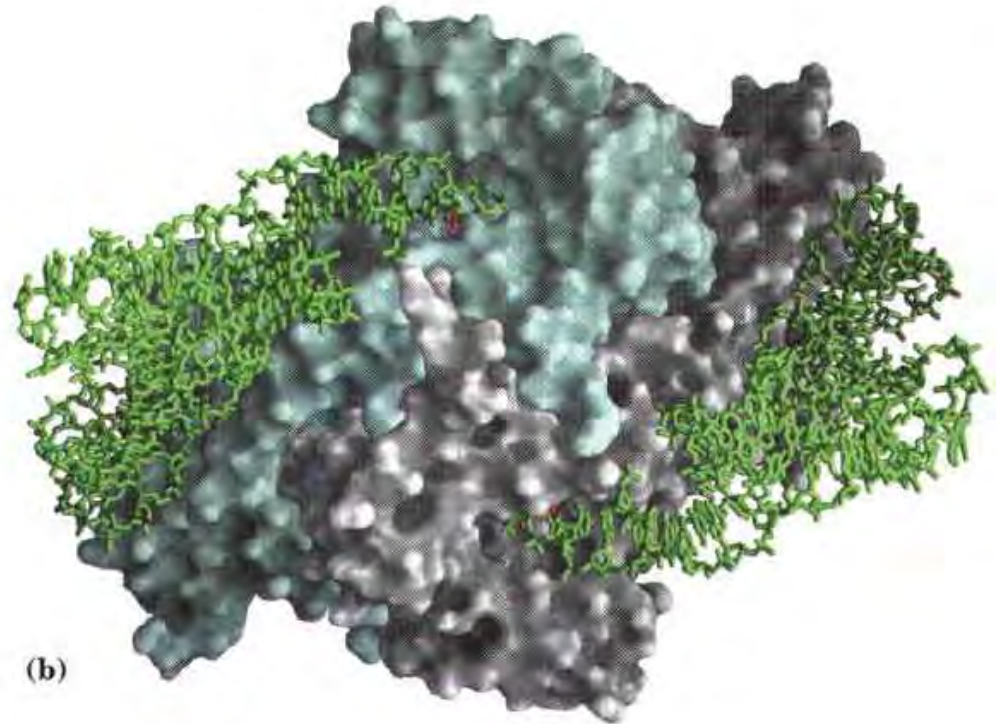
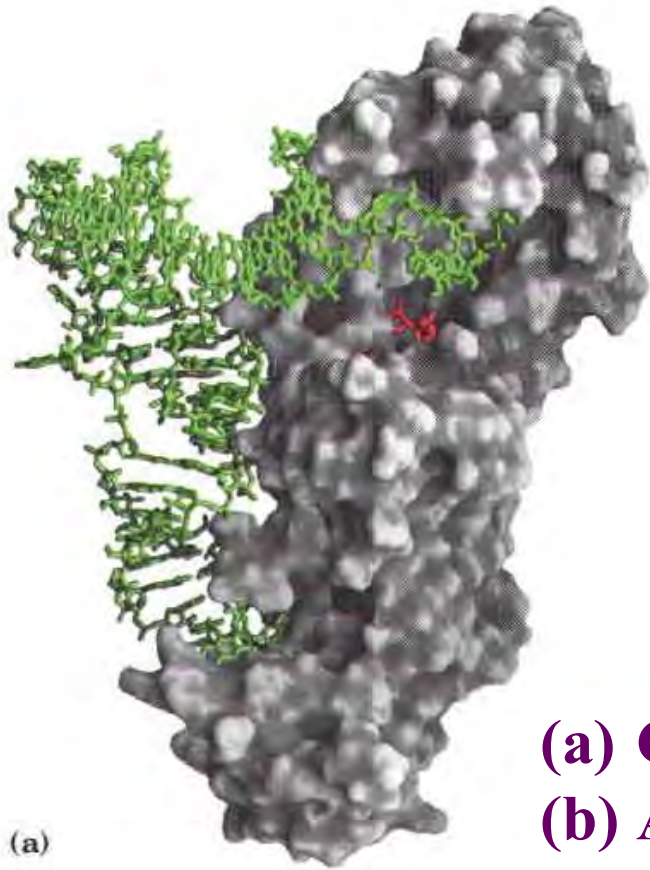
氨基酰-tRNA合成酶对底物氨基酸和tRNA都有高度特异性。



Gln-tRNA synthetase from E. coli



氨基酰-tRNA合成酶

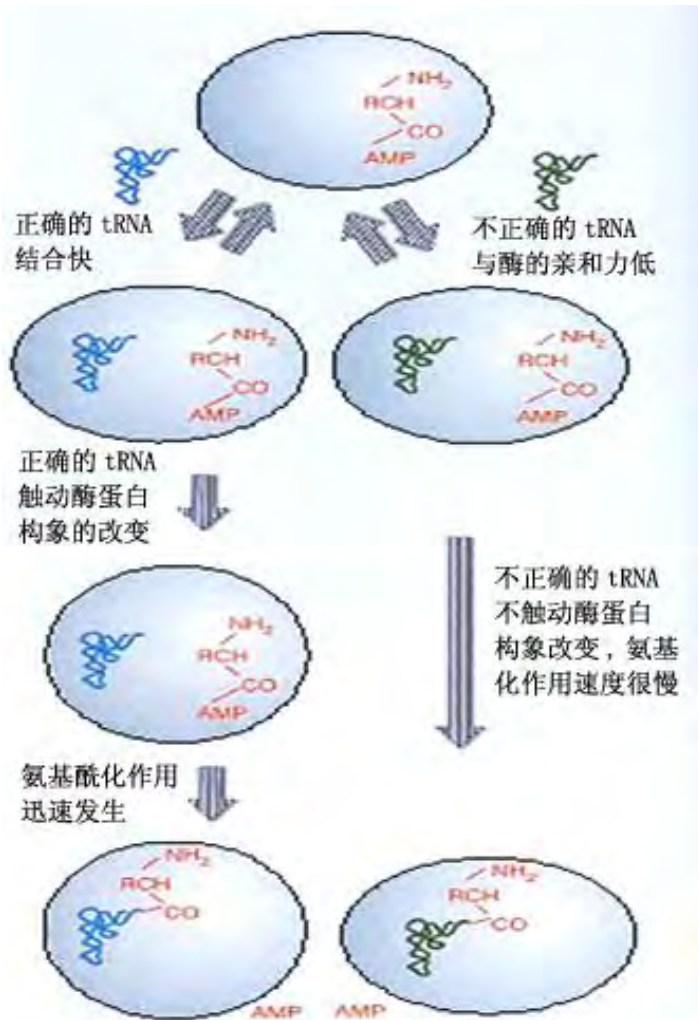


(a) Gln-tRNA synthetase from E. coli
(b) Asp-tRNA synthetase from yeast, a typical dimeric synthetase

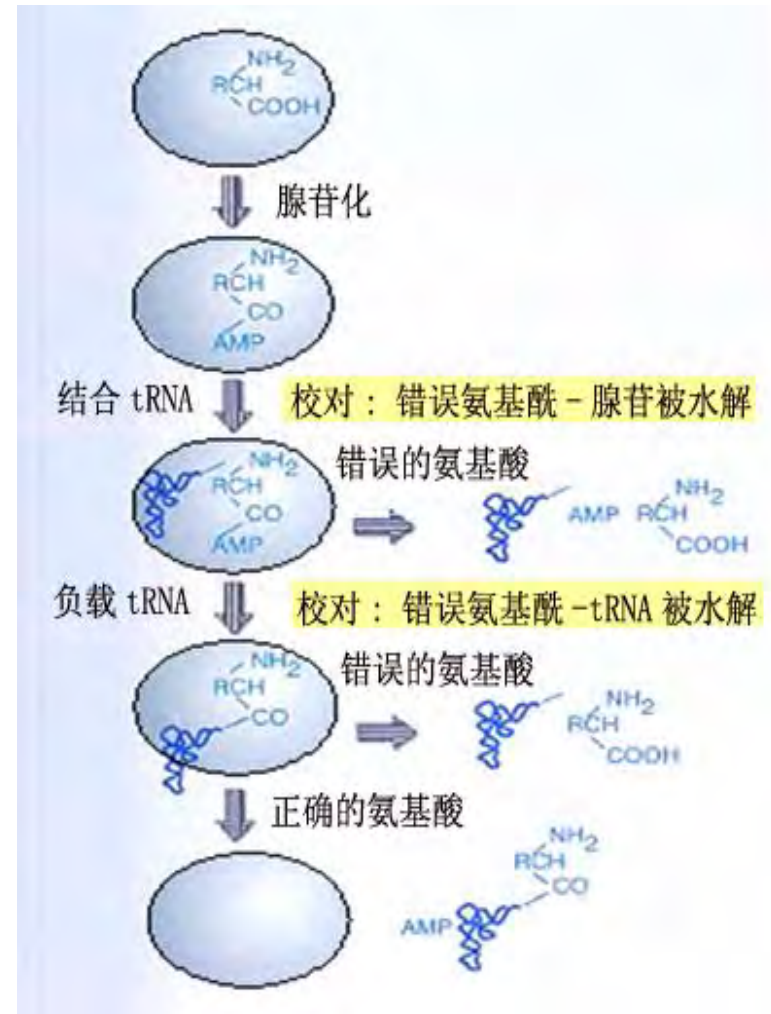


○ 氨基酰-tRNA合成酶具有校正活性。

动力学校对



化学校对



○ 氨基酰-tRNA的表示方法

各种氨基酸和对应的tRNA结合后形成的氨基酰-tRNA表示为：

氨基酸的三字母缩写-tRNA^{氨基酸的三字母缩写}

例如：

丙氨酰-tRNA： **Ala-tRNA**^{Ala}

精氨酰-tRNA： **Arg-tRNA**^{Arg}

甲硫氨酰-tRNA： **Met-tRNA**^{Met}



○ Met密码

起始Met密码

阅读框内部Met密码

结合两种Met密码的Met-tRNA结构不同。

- 在原核细胞中，结合起始Met密码的是 $\text{tRNA}^{\text{fMet}}$ 。起始Met结合 $\text{tRNA}^{\text{fMet}}$ 后，由 N^{10} -甲酰四氢叶酸提供甲酰基，生成甲酰甲硫氨酸- $\text{tRNA}^{\text{fMet}}$ 。
- 在真核生物，具有起始功能的是 $\text{tRNAi}^{\text{Met}}$ (initiator-tRNA)。

二、肽链合成的起始

- 指mRNA和起始氨基酰-tRNA分别与核蛋白体结合而形成翻译起始复合物 (translation initiation complex) 的过程。



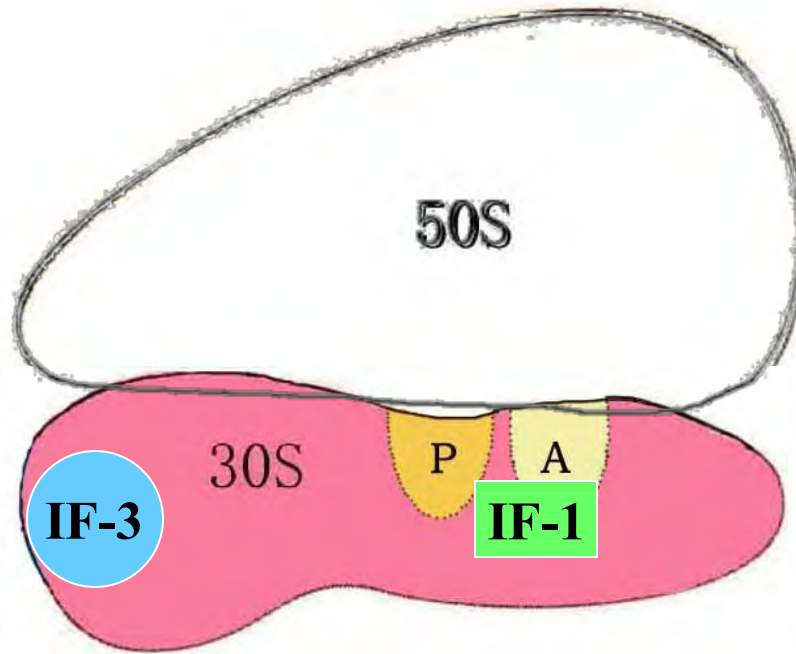
(一) 原核生物蛋白质合成的起始

- 核蛋白体大小亚基分离；
- mRNA在小亚基定位结合；
- 起始氨基酰-tRNA的结合；
- 核蛋白体大亚基结合。

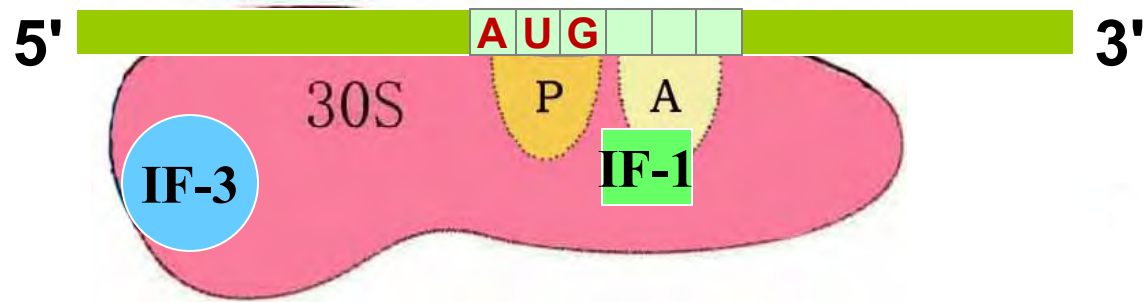
表 11-3 大肠埃希菌中蛋白质合成所需要的蛋白质因子

蛋白质因子	生物学功能
起始因子	
IF-1	起始阶段首先由 IF-1 促使无活性的 70S 核糖体解离形成 30S 和 50S 两个亚基
IF-2	促进 fMet-tRNA ^{fMet} 与小亚基结合
IF-3	IF-3 的作用在于保持大小亚基彼此分离状态,以及有助于 mRNA 结合

1. 70S核糖体在IF-1影响下解离形成30S和50S两个亚基。
2. IF-3结合游离的30S亚基，以阻止30S亚基在与mRNA结合前与大亚基结合，防止无活性核糖体的形成。



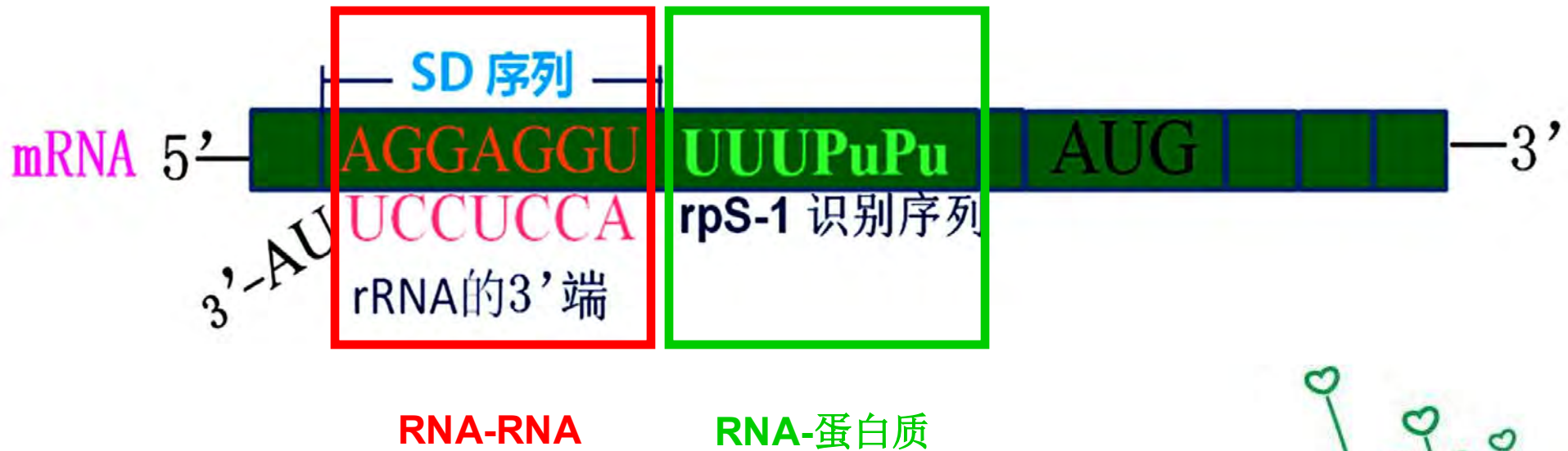
3. 核糖体小亚基结合mRNA的5'端。



原核生物mRNA在核蛋白体小亚基上的准确定位和结合涉及两种机制：

- 在各种mRNA起始AUG上游约8~13核苷酸部位，存在一段由4~9个核苷酸组成的一致序列，富含嘌呤碱基，如-AGGAGG-，称为**Shine-Dalgarno序列(S-D序列)**，又称核蛋白体结合位点(**ribosomal binding site, RBS**)。
- 小亚基中的16S-rRNA 3'-端有一富含嘧啶碱基的短序列，如-CCUCCU-，通过与S-D序列碱基互补而使mRNA与小亚基结合。
- mRNA序列上紧接S-D序列后的小核苷酸序列，可被核蛋白体小亚基蛋白rpS-1识别并结合。

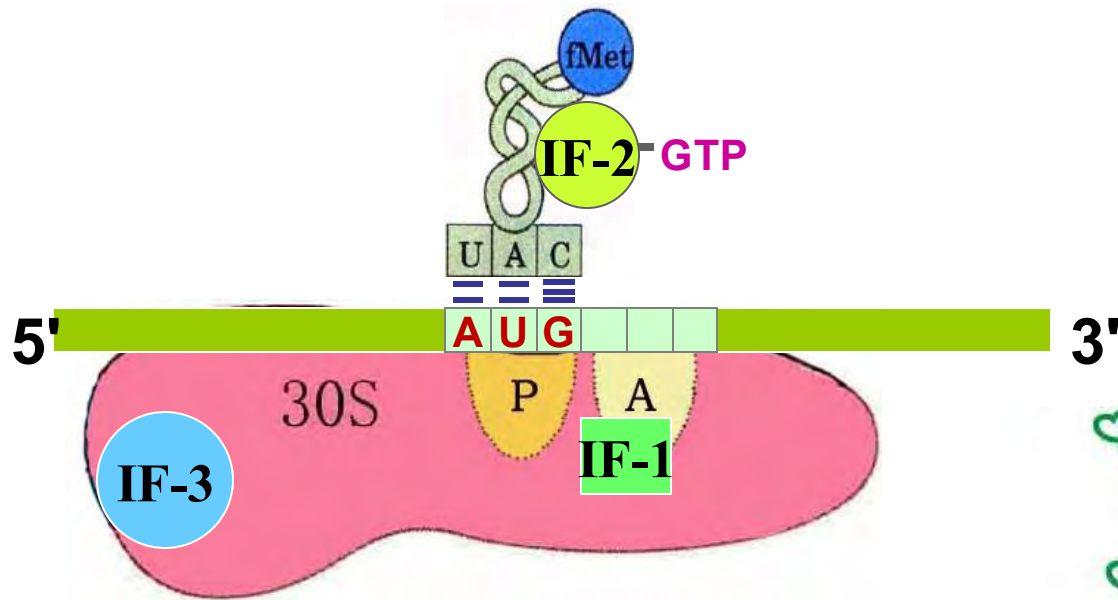
- 通过RNA-RNA, RNA-蛋白质相互作用, 小亚基可以准确定位mRNA上的起始AUG。



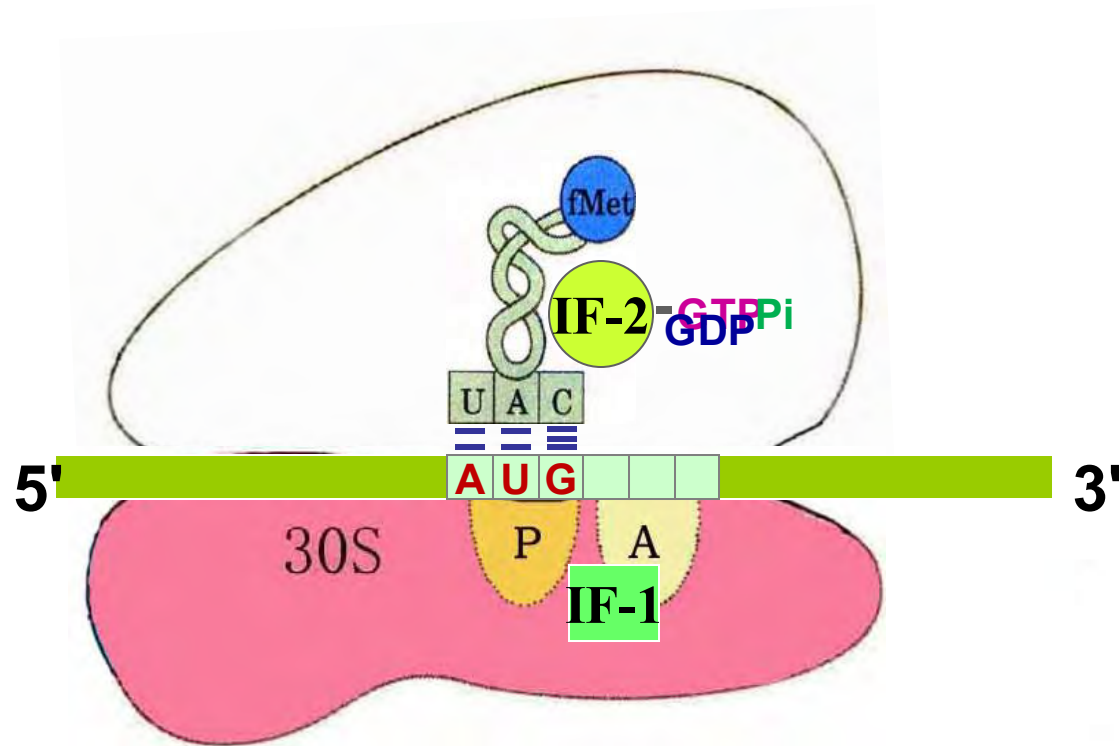
原核生物mRNA的起始AUG上游的S-D序列及rpS-1识别序列

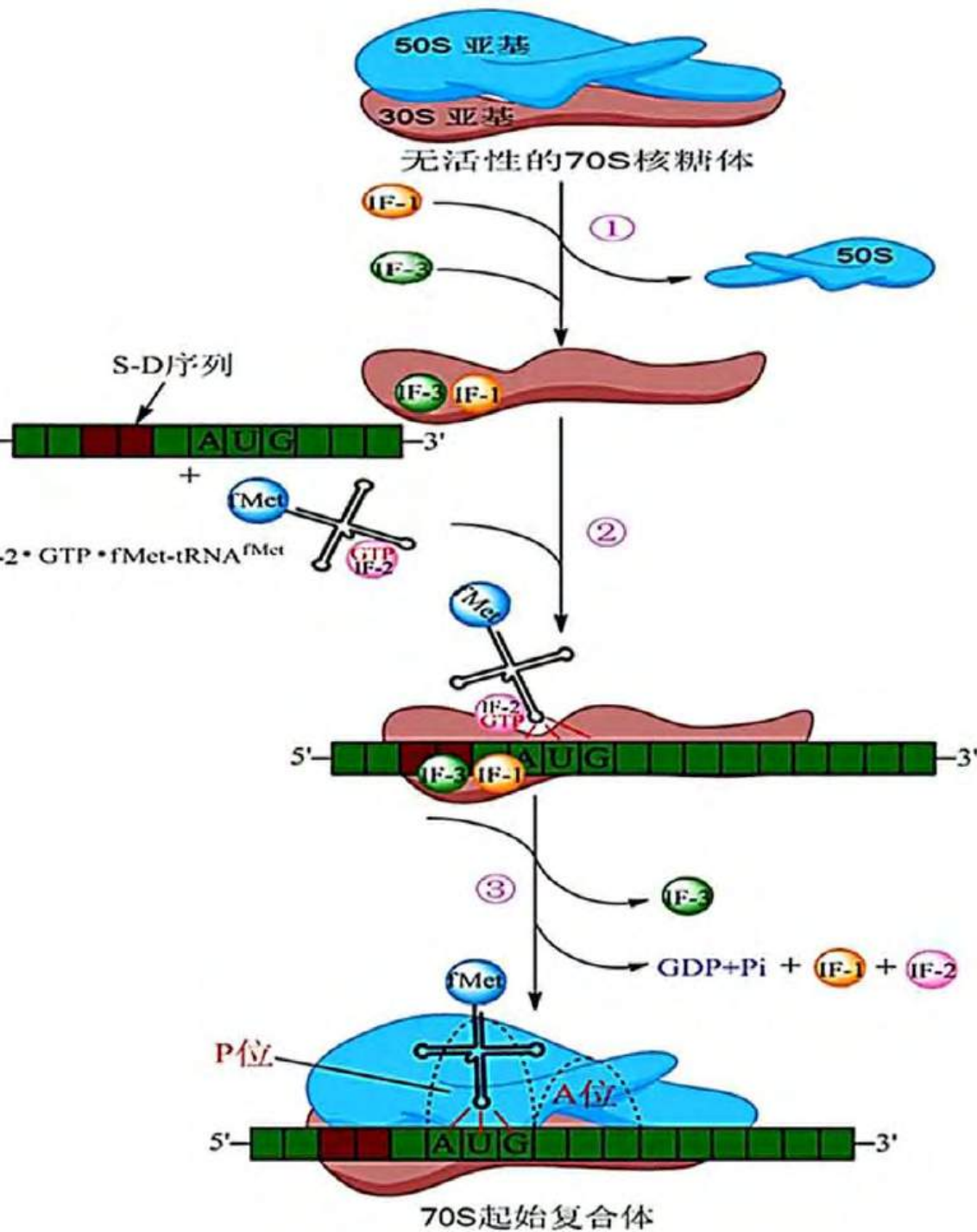


4. 起始tRNA($fMet-tRNA^{fMet}$)、IF-2结合到上述复合体。IF-3 被释放，形成30S起始复合体。



5. 50S亚基与上述复合物结合，形成70S起始复合体。
GTP水解释能。





原核生物蛋白质合成的起始过程

①起始阶段首先由IF-1促使无活性的70S核糖体解离形成30S和50S两个亚基；

②核糖体小亚基结合于mRNA的5'端形成复合物，起始tRNA (fMet-tRNA^{fMet}) 通过其反密码子与mRNA分子上AUG密码子的碱基配对加入复合物；

③50S亚基与②中形成的复合物结合，起始后期完成70S起始复合物的形成。

(二) 真核生物蛋白质合成的起始

- Met-tRNA^{iMet}与GTP结合后，再与带有eIF-3的小亚基(40S)相结合。
- mRNA先与eIF4B和eIF4F发生作用。
- 40S亚基复合体与mRNA复合体结合后，在mRNA链上滑动寻找AUG起始密码子。
- eIF-5替换eIF2和eIF3后，60S亚基与40S亚基结合并水解GTP。
- eIF4C帮助60S亚基结合形成完整的80S起始复合体后被释放。
- 释放后eIF2-GDP复合体在eIF2B的作用下进入下一轮。

三、肽链合成的延长

- 指第二个和以后的密码子编码的氨基酸进入核蛋白体，并形成肽键的过程。
- 肽链延长在核蛋白体上连续循环式进行，又称为核蛋白体循环(ribosomal cycle)，包括以下三步：
 1. 进位反应
 2. 转肽反应
 3. 移位反应
- 每轮循环使多肽链增加一个氨基酸残基。



(一) 原核生物蛋白质合成的延长

表 11-3 大肠埃希菌中蛋白质合成所需要的蛋白质因子

蛋白质因子	生物学功能
起始因子	
IF-1	起始阶段首先由 IF-1 促使无活性的 70S 核糖体解离形成 30S 和 50S 两个亚基
IF-2	促进 $fMet-tRNA^{fMet}$ 与小亚基结合
IF-3	IF-3 的作用在于保持大小亚基彼此分离状态,以及有助于 mRNA 结合
延长因子	
EF-Tu	结合氨基酰-tRNA 和 GTP
EF-Ts	从 EF-Tu 中置换 GDP
EF-G	EF-G 有移位酶的活性,可结合并水解 1 分子 GTP,促进核糖体向 mRNA 的 3'-端移动

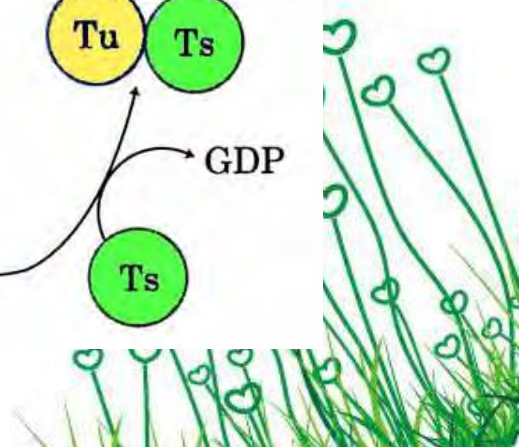
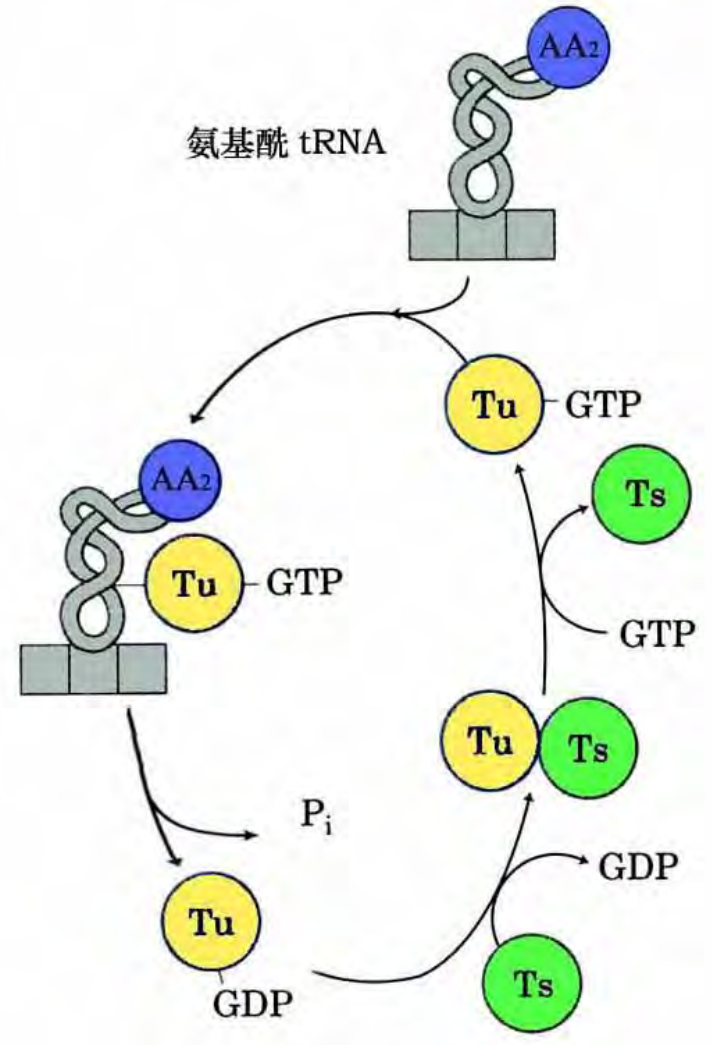


(一) 原核生物蛋白质合成的延长

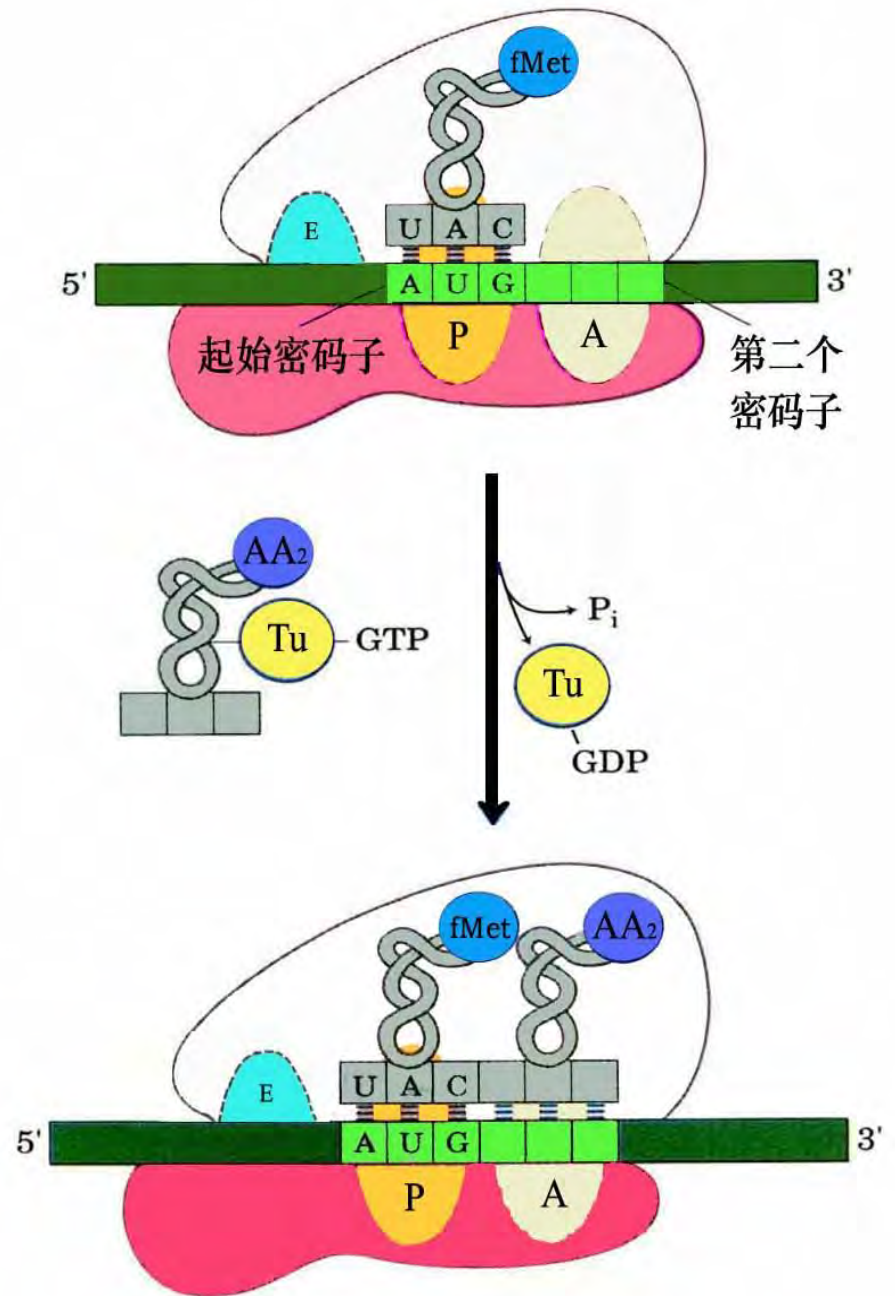
1. 进位

进位需要延长因子

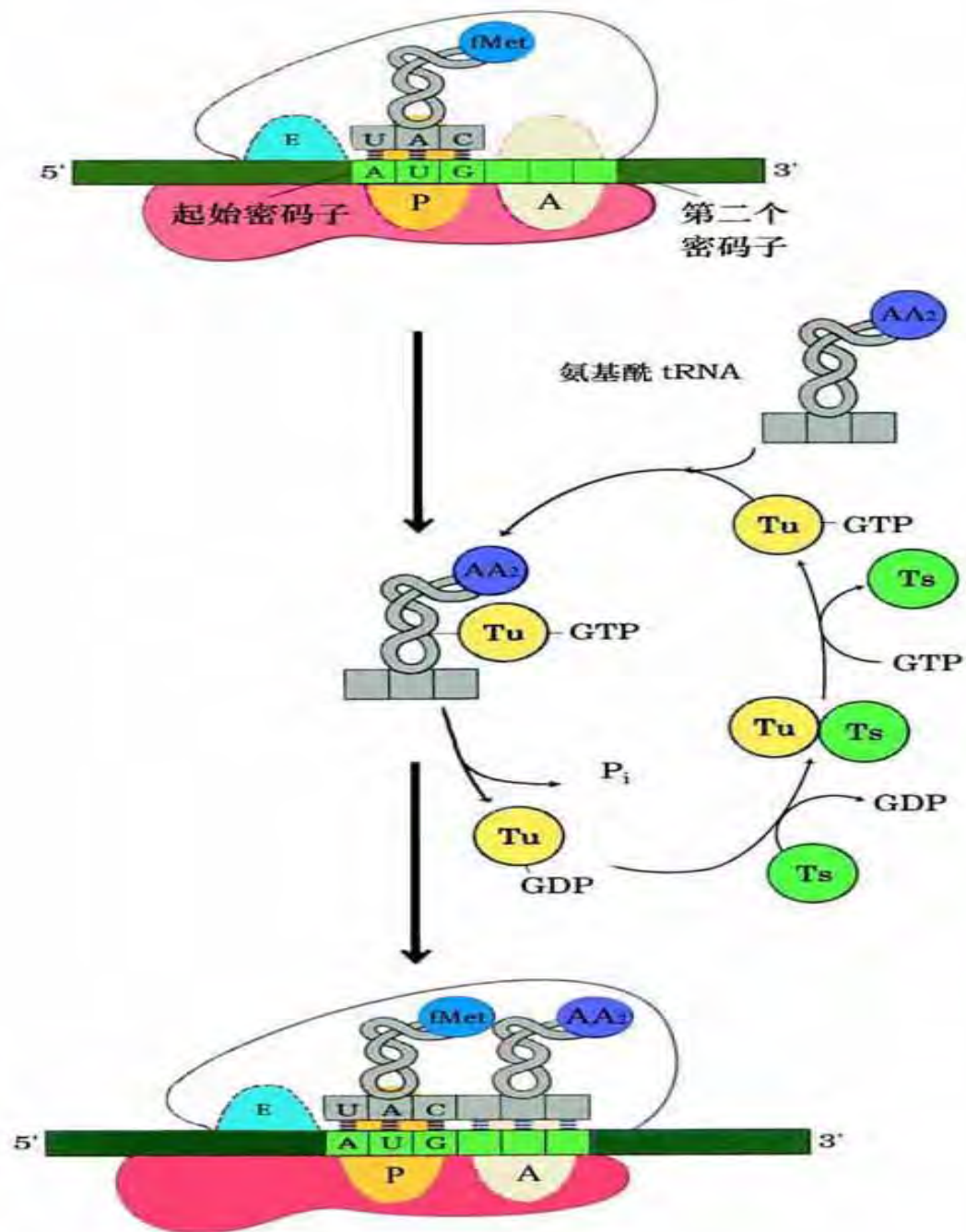
EF-Tu与**EF-Ts**参与。



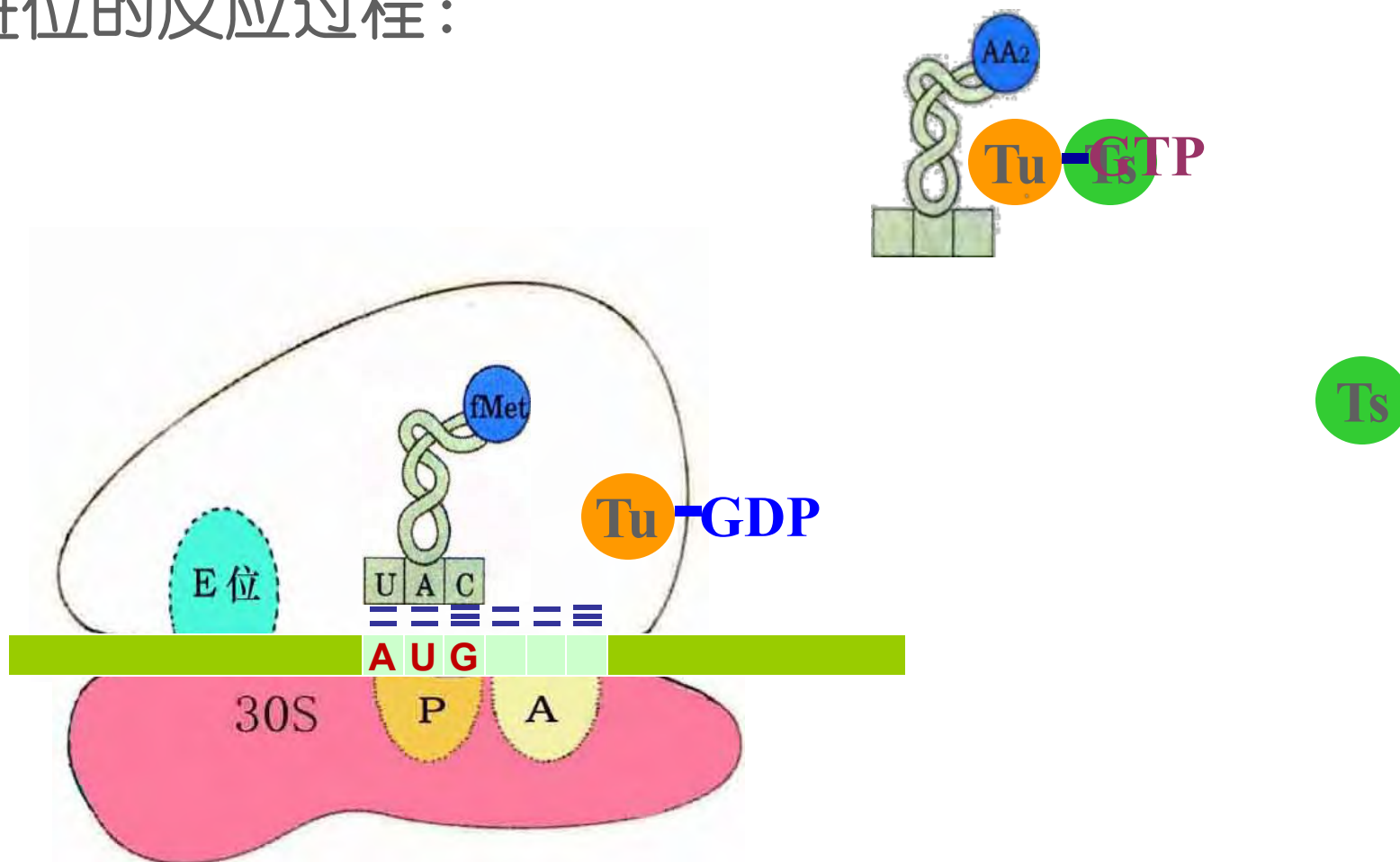
进位又称注册
(**registration**)，是指一个氨基酸-tRNA按照mRNA模板的指令进入并结合到核蛋白体A位的过程。



核蛋白体对氨基酰-tRNA的进位有校正作用，这是维持肽链生物合成的高度保真性的机制之一。



进位的反应过程：

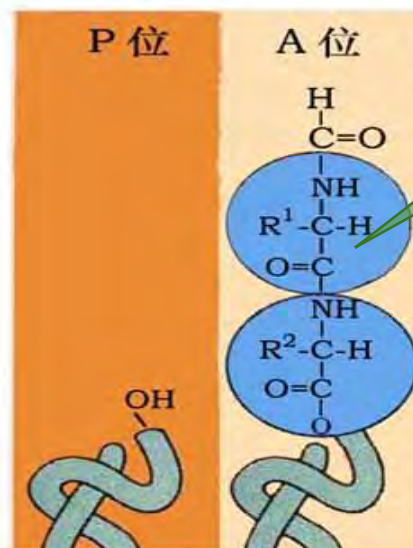
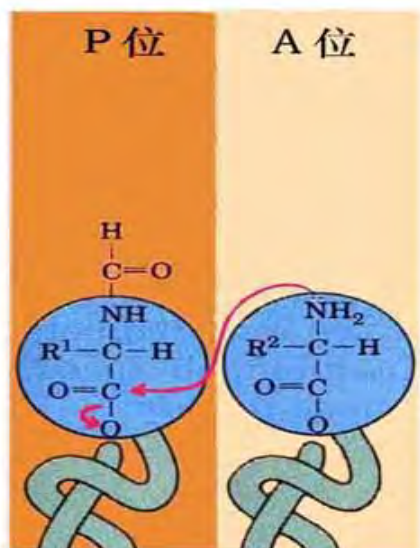
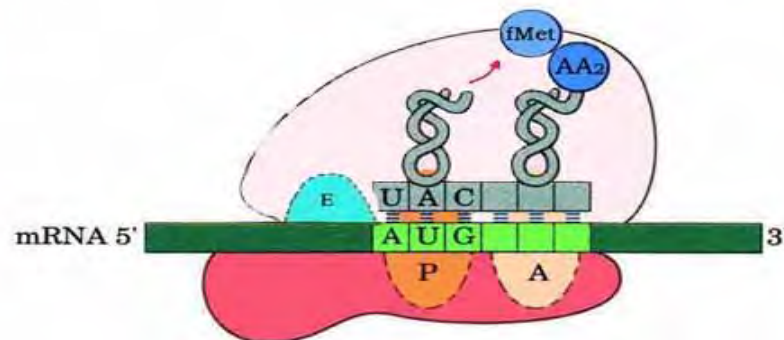
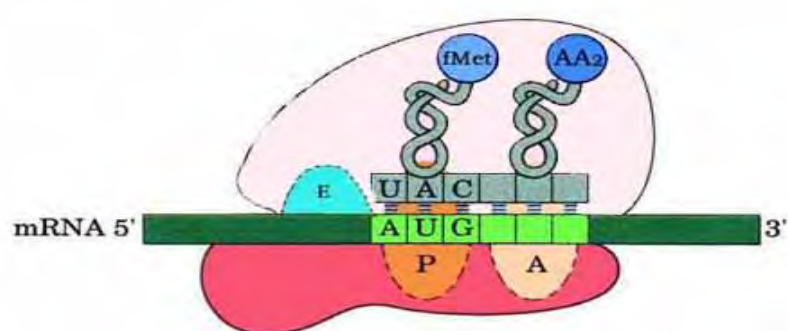


2. 成肽

成肽是在肽酰基转移酶(transpeptidase)的催化下，核蛋白体P位上起始氨基酰-tRNA的N-乙酰甲硫氨酰基或肽酰-tRNA的肽酰基转移到A位并与A位上氨基酰-tRNA的 α -氨基结合形成肽键的过程。

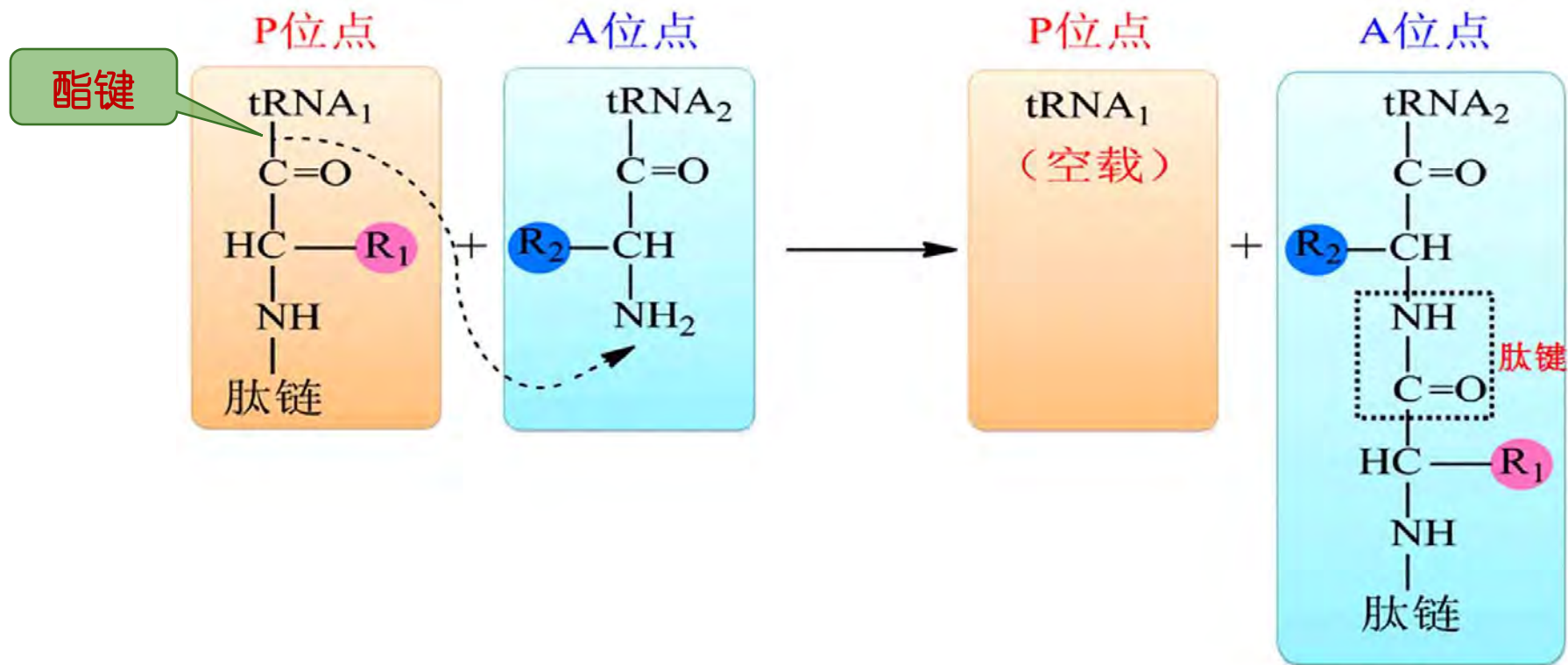


成肽的反应过程：



肽键

酯键 \longrightarrow 肽键



成肽反应: P位肽酰基与A位氨酰基之间形成肽键

肽链的合成方向是从N端到C端

- 肽酰基转移酶的化学本质不是蛋白质，而是RNA，因此属于一种核酶。
- 原核生物核蛋白体大亚基中的23S rRNA具有肽酰基转移酶的活性。在真核生物中，该酶的活性位于大亚基的28S rRNA中。

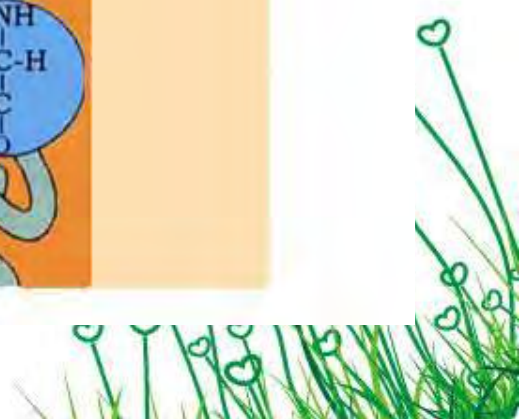
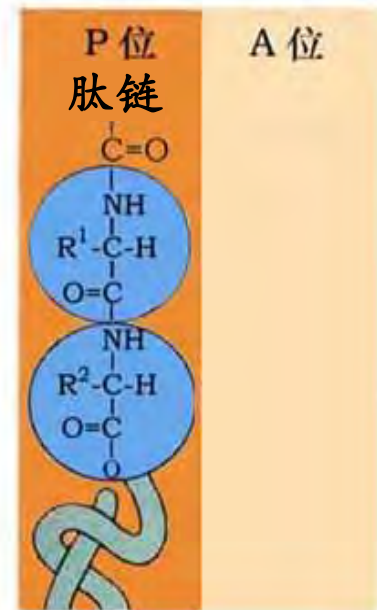
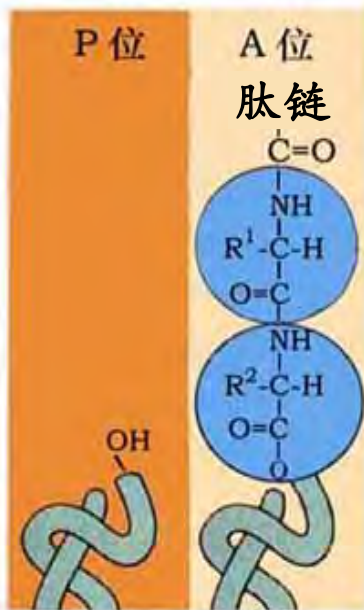
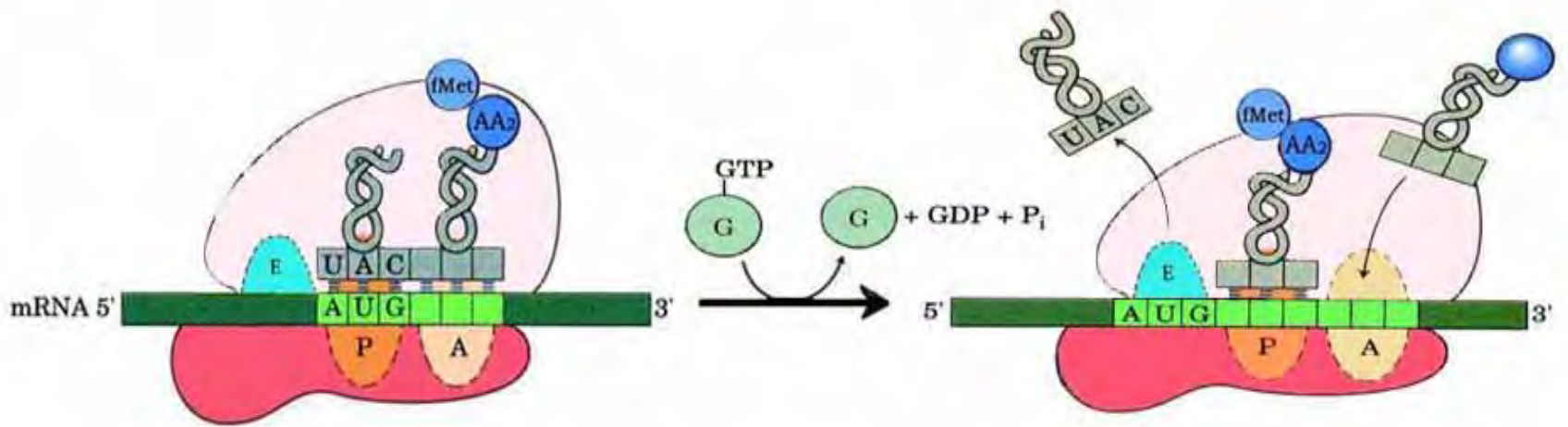


3. 移位

移位是指核蛋白体向mRNA的3'-端移动一个密码子的距离，使mRNA序列上的下一个密码子进入核蛋白体的A位、而占据A位的肽酰-tRNA移入P位的过程。

转位需要延长因子EF-G参与。



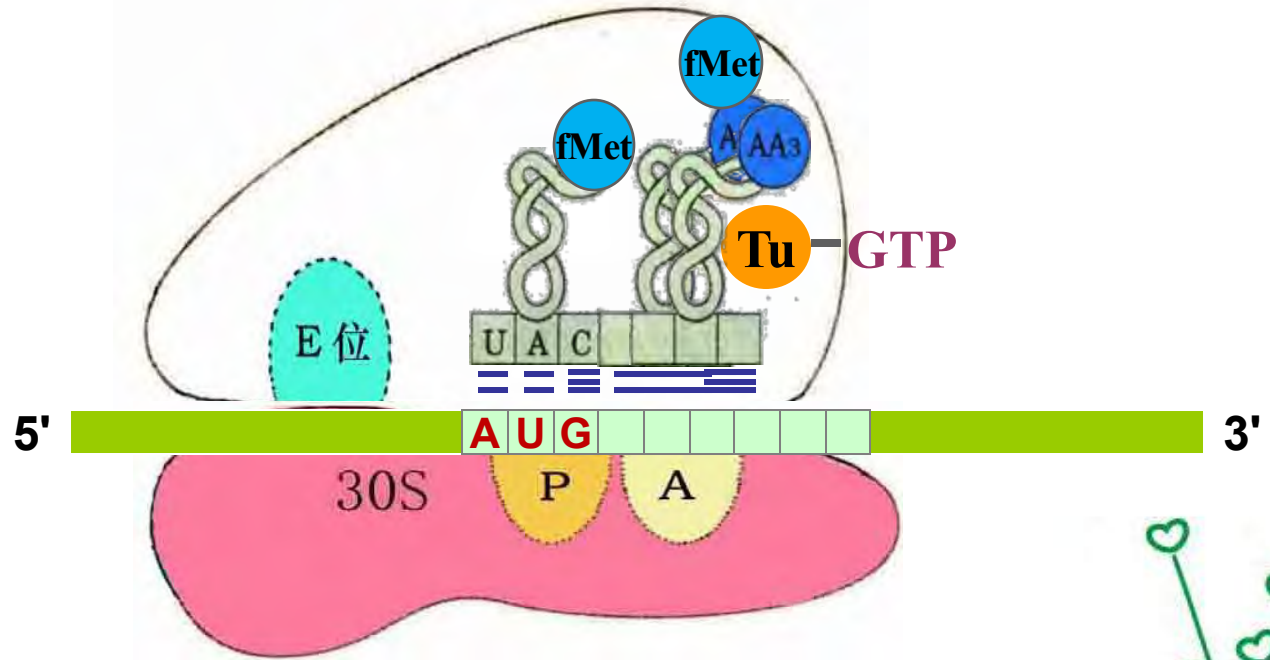


移位

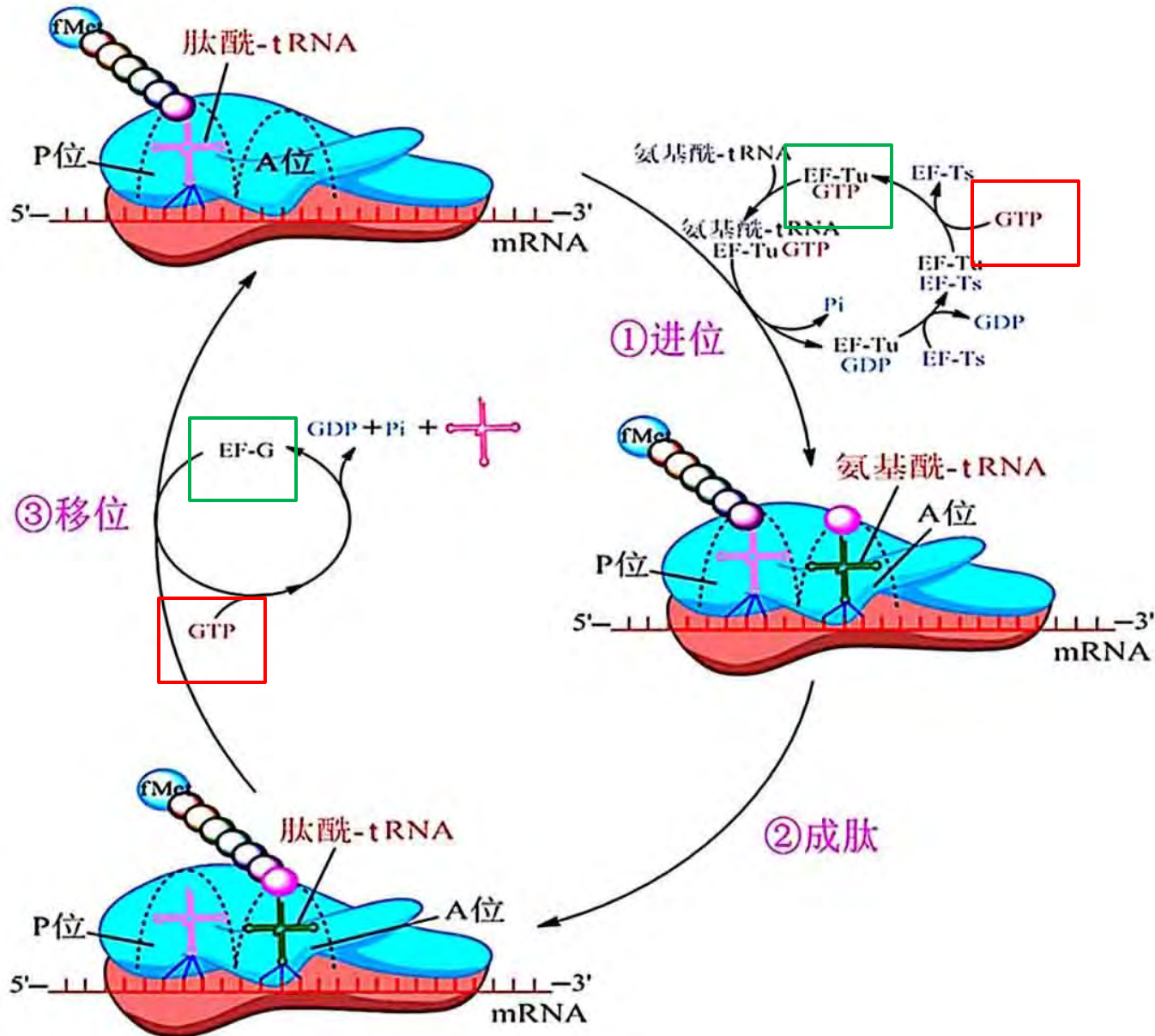
EF-G有移位酶 (translocase) 活性，可结合并水解1分子GTP，释放的能量促进核蛋白体向mRNA的3'侧移动，使起始二肽酰-tRNA-mRNA相对位移进入核蛋白体P位，而卸载的tRNA则移入E位。



成肽→移位→下一轮进位



原核生物蛋白质合成的延伸阶段——核蛋白体循环



(二) 真核生物蛋白质合成的延长

真核生物肽链合成的延长过程与原核生物基本相似，但有不同的反应体系和延长因子。

另外，真核细胞核蛋白体没有E位，转位时卸载的tRNA直接从P位脱落。



四、肽链合成的终止

(一) 原核生物蛋白质合成的终止

- 终止密码子进入核糖体的A位
- 细菌中存在3类释放因子
- RF-3是一种依赖于核糖体的GTPase
- mRNA、tRNA及RF从核糖体脱离



释放因子的功能：

○ 识别终止密码子

结构类似tRNA，竞争结合核糖体。

RF-1特异识别UAA、UAG；

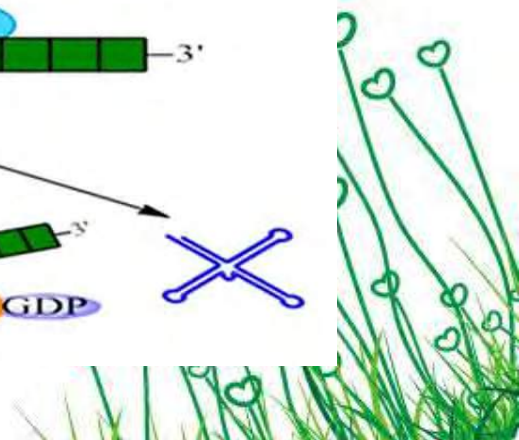
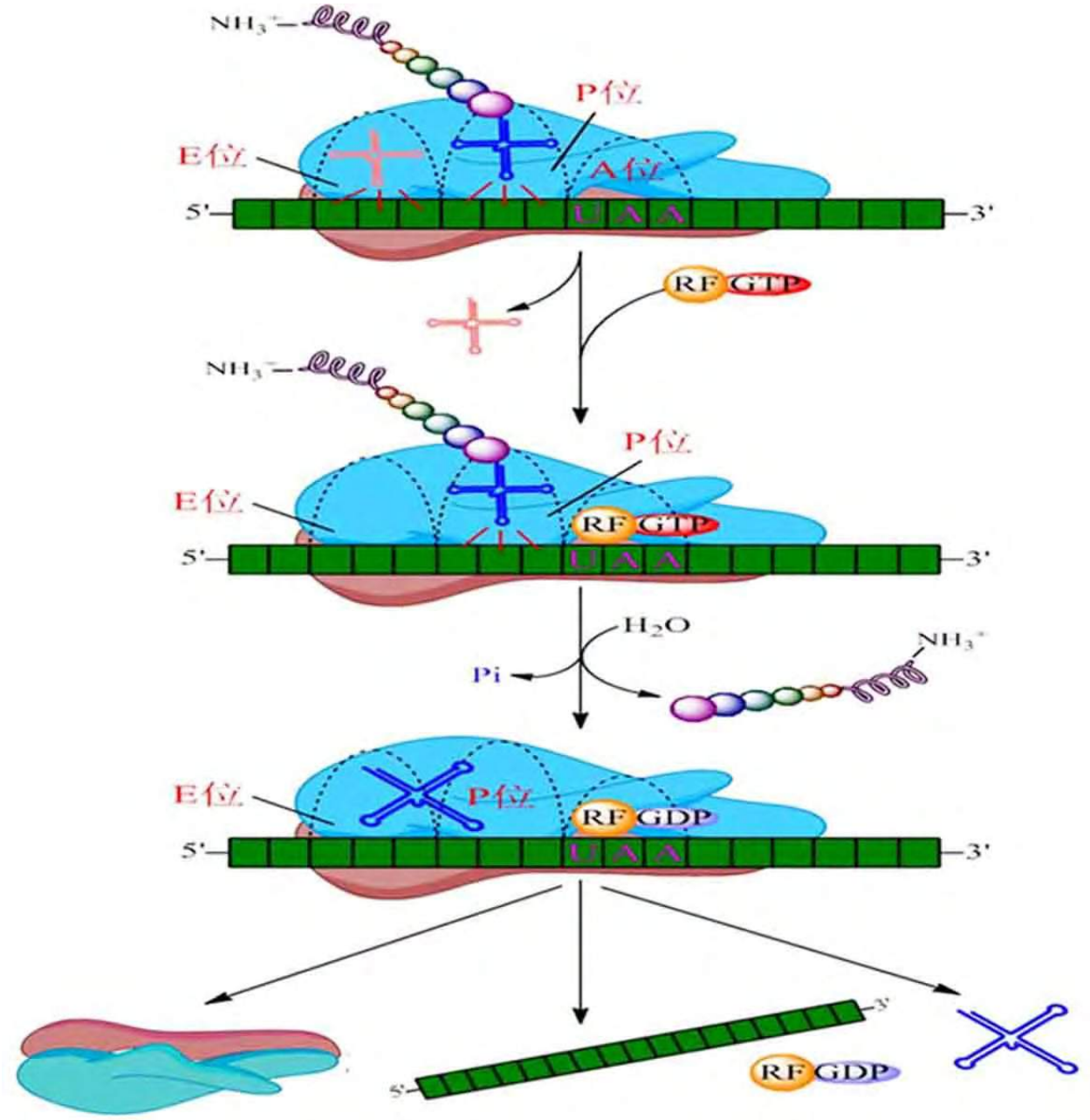
RF-2特异识别UAA、UGA。

○ RF-1、RF-2诱导肽酰基转移酶转变为酯酶活性

催化新生肽链与结合在P位的tRNA之间的酯键水解，使肽链从核蛋白体上释放。

○ RF-3可结合核蛋白体其它部位，有GTP酶活性，能介导RF-1、RF-2与核蛋白体的相互作用。

原核生物蛋白质合成的终止



(二) 真核生物蛋白质合成的终止

真核生物翻译终止过程与原核生物相似，但只有1个释放因子eRF，可识别所有终止密码子，完成原核生物各类RF的功能。



蛋白质生物合成重要的酶类

- 氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl tRNA synthetase), 催化氨基酸的活化。
- 转肽酶(peptidase)或肽酰基转移酶(transpeptidase), 催化核蛋白体P位上的肽酰基转移至A位氨基酰-tRNA的氨基上, 使酰基与氨基结合形成肽键; 并受释放因子的作用后发生变构, 表现出酯酶的水解活性, 使P位上的肽链与tRNA分离。
- 转位酶(translocase)或移位酶, 催化核蛋白体向mRNA 3'-端移动一个密码子的距离, 使下一个密码子定位于A位。



蛋白质因子

- 起始因子 (initiation factor, IF)
- 延长因子 (elongation factor, EF)
- 释放因子 (release factor, RF)

能源物质及离子

- 蛋白质生物合成的能源物质为ATP和GTP;
- 参与蛋白质生物合成的无机离子有 Mg^{2+} 、 K^{+} 等。



原核生物与真核生物蛋白质合成过程的不同点

	原核生物	真核生物
翻译与转录的时空关系	转录和翻译是在同一场所进行的,转录完成后经简单的修饰就立即进入翻译状态,翻译与转录是偶联的	真核生物要将细胞核内转录生成的 mRNA 前体经过加工转运到细胞质,才能进行蛋白质合成
肽链合成的起始	原核生物肽链的合成是从甲酰甲硫氨酰-tRNA 开始的	真核生物的肽链合成是从甲硫氨酰-tRNA 开始的
保证多肽链翻译的准确性	原核生物肽链合成的起始依赖于 S-D 序列-AGGAGG-	真核生物肽链合成的起始依赖于帽子结构 m ⁷ GpppNp
起始复合物的结合顺序	原核生物的 mRNA 与核糖体小亚基的结合先于起始 tRNA 与小亚基的结合	真核生物的起始 tRNA 与核糖体小亚基的结合先于 mRNA 与小亚基的结合
核糖体组成	原核生物由 30S 小亚基和 50S 大亚基组成的 70S 核糖体,含 rRNA 与蛋白质较少	真核生物的 80S 核糖体由 40S 小亚基和 60S 大亚基构成,含 rRNA 与蛋白质较多
起始因子与释放因子	参与原核生物蛋白质合成的起始因子有 3 种,释放因子有 3 种	参与真核生物蛋白质合成的起始因子有 12 种,释放因子只有 1 种
密码子的偏爱性	如原核生物脯氨酸密码子偏爱 CCG	如真核生物脯氨酸密码子偏爱 CCC



思考题

When an antibiotic is added to an in vitro protein synthesis system that is translating the mRNA sequence AUGAUUUUUUAG, the only product is the dipeptide fMet-Ile. What step in protein synthesis is most likely inhibited by this antibiotic?

- A、 Initiation
- B、 Binding of charged transfer RNA to the ribosomal A site
- C、 Peptidyltransferase activity
- D、 Ribosomal translocation
- E、 Termination



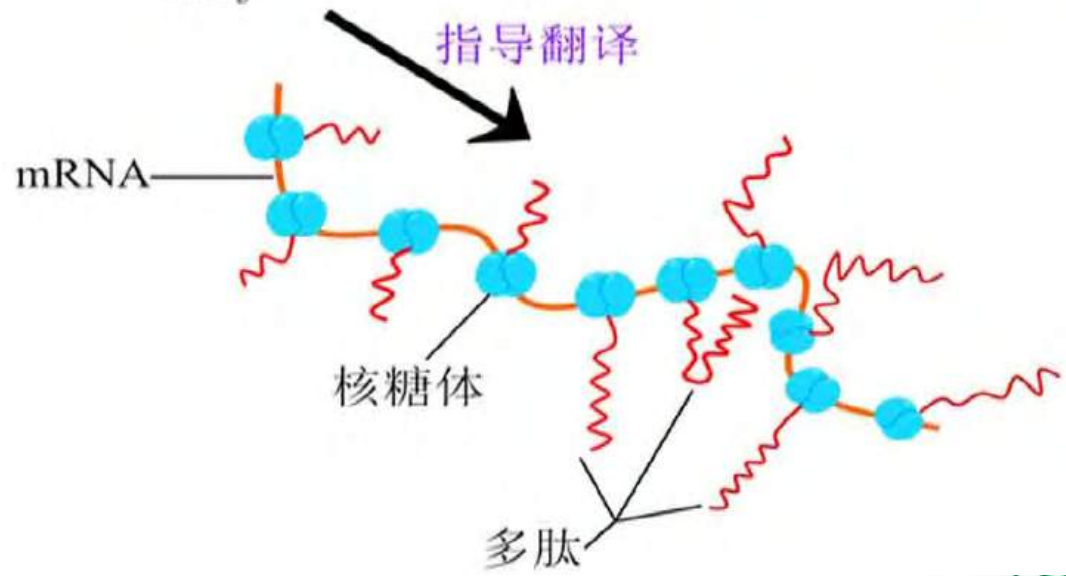
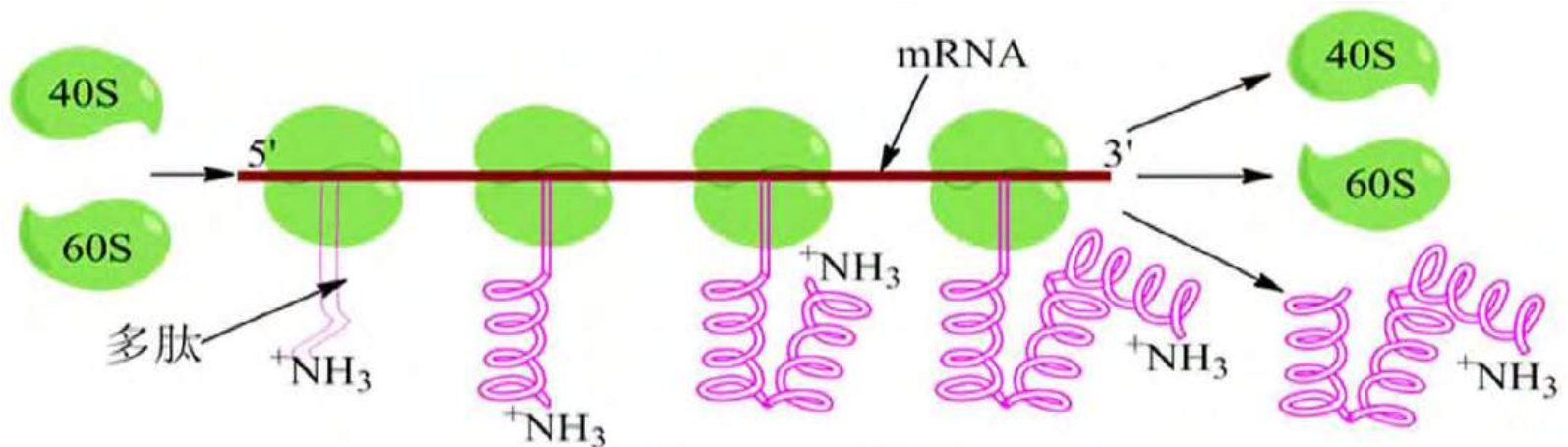
五、多核糖体

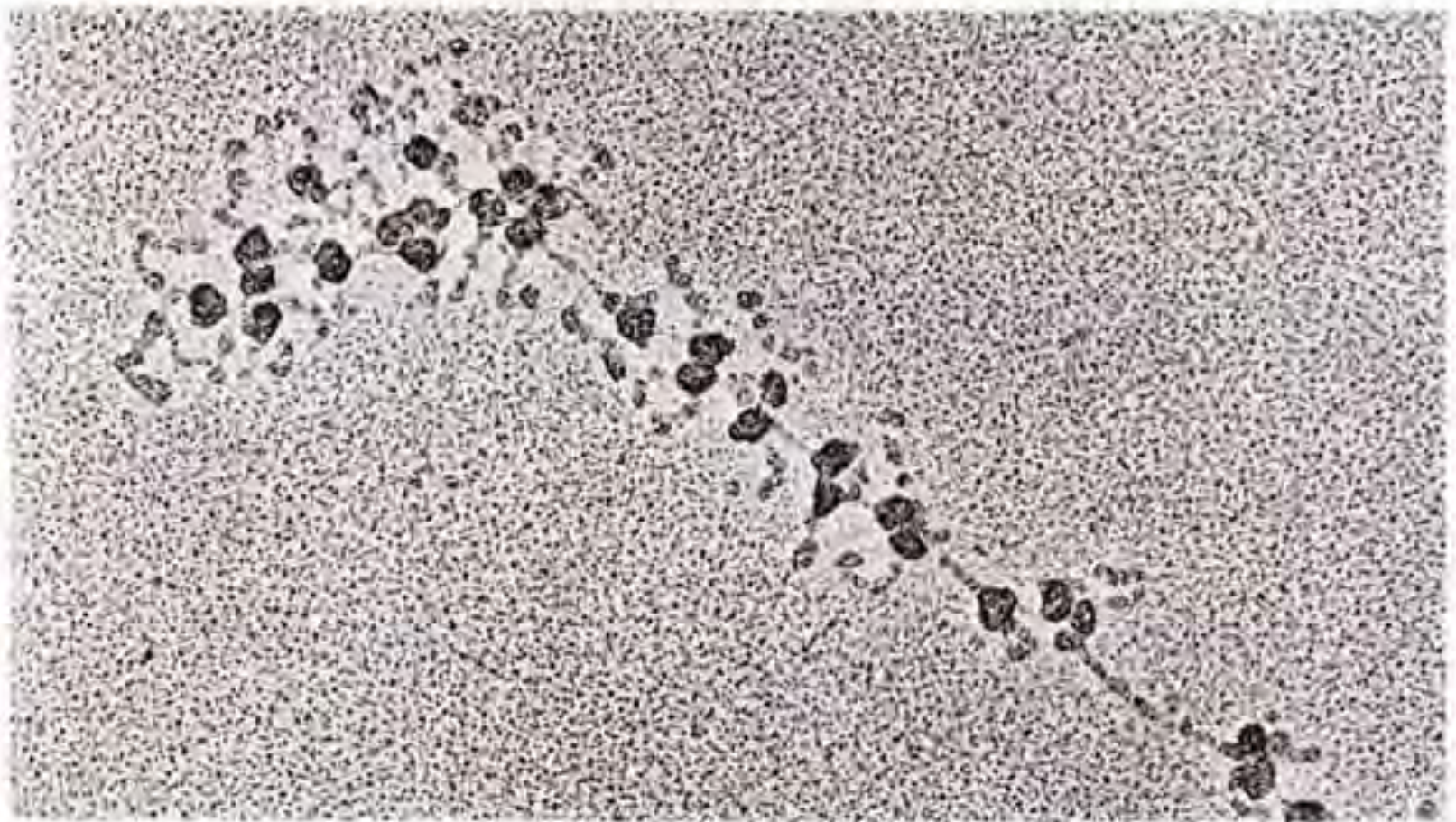
无论原核还是真核生物，1条mRNA模板链都可附着10-100个核糖体，这些核糖体依次结合起始密码子并沿5'→3'方向读码移动，同时进行肽链合成，这种mRNA与多个核糖体形成的聚合物称为多核糖体(polysome)。

多核糖体的形成可以使蛋白质生物合成以高速度、高效率进行。



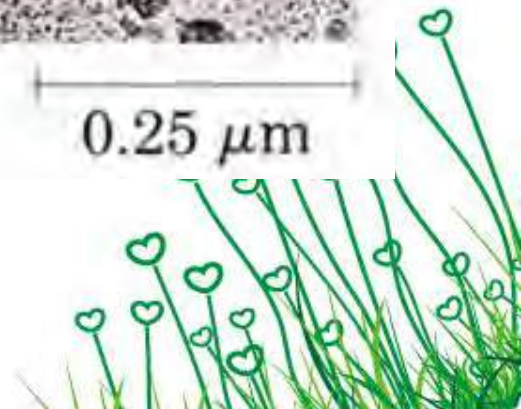
多核糖体





0.25 μm

电镜下的多核糖体



第三节

蛋白质的成熟

多肽链的折叠、翻译后修饰、靶向输送



- 新生多肽链不具备蛋白质的生物学活性，必须经过复杂的加工过程才能转变为具有天然构象的功能蛋白质。
- 翻译后加工包括多肽链折叠为天然的三维构象及对肽链的翻译后修饰等。
- 翻译后修饰(posttranslational modification, PTM)使得蛋白质组成更加多样化，从而使蛋白质结构上呈现更大的复杂性。
- 蛋白质合成后被定向输送到其发挥作用的靶位点的过程称为蛋白质的靶向输送(protein targeting) 或蛋白质分拣(protein sorting)。

一、多肽链的折叠

○分子伴侣:

分子伴侣是细胞内一类可识别肽链的非天然构象、促进各功能域和整体蛋白质的正确折叠的保守蛋白质。广泛存在于原核及真核细胞。

○分子伴侣有以下功能:

- ①封闭待折叠蛋白质的暴露的疏水区段，阻止新生肽链的不正常聚集；
- ②创建一个隔离的环境，可以使蛋白质的折叠互不干扰；
- ③遇到应激刺激，使已折叠的蛋白质去折叠，使不正常聚集的蛋白质解聚。

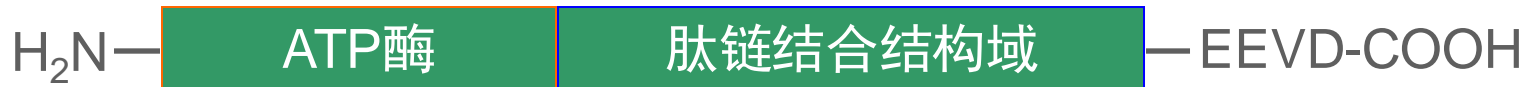
○热休克蛋白(heat shock protein, HSP)

- 热休克蛋白属于应激反应性蛋白质，高温应激可诱导该蛋白质合成。热休克蛋白可促进需要折叠的多肽折叠为有天然空间构象的蛋白质。
- 热休克蛋白分为5类：**HSP100、HSP90、HSP70、HSP60**和**sHSP**。
- 人类细胞中**HSP**蛋白质家族可存在于胞浆、内质网腔、线粒体、胞核等部位，涉及多种细胞保护功能。



○ HSP70是最主要的分子伴侣之一

大肠杆菌的HSP70 (DnaK)



- 它有两个主要功能域：一个是存在于N-端的高度保守的ATP酶结构域，能结合和水解ATP；另一个是存在于C-端的多肽链结合结构域。蛋白质的折叠需要这两个结构域的相互作用。

○ HSP70反应系统

- 在蛋白质的折叠过程中，HSP70还需2个辅助分子HSP40（DnaJ）和HSP20（GrpE），它们一起被称为HSP70反应系统。

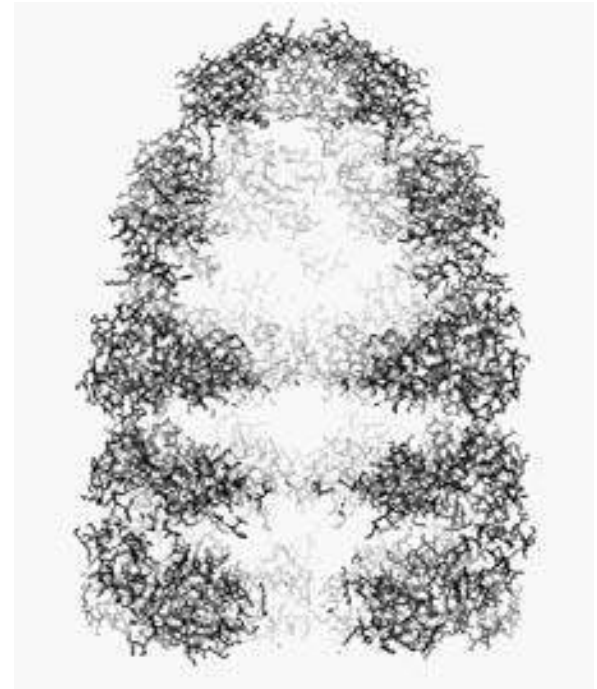
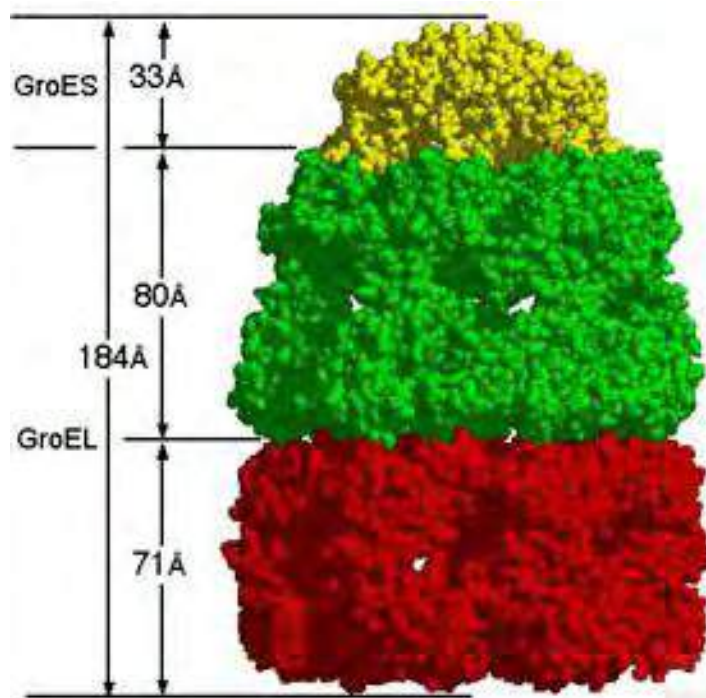


○GroEL-GroES系统

- 真核细胞的HSP60和HSP10（大肠杆菌中同源物为Gro EL和Gro ES）等家族也具有分子伴侣活性。
- 其主要作用是为非自发性折叠蛋白质提供能折叠形成天然空间构象的微环境。



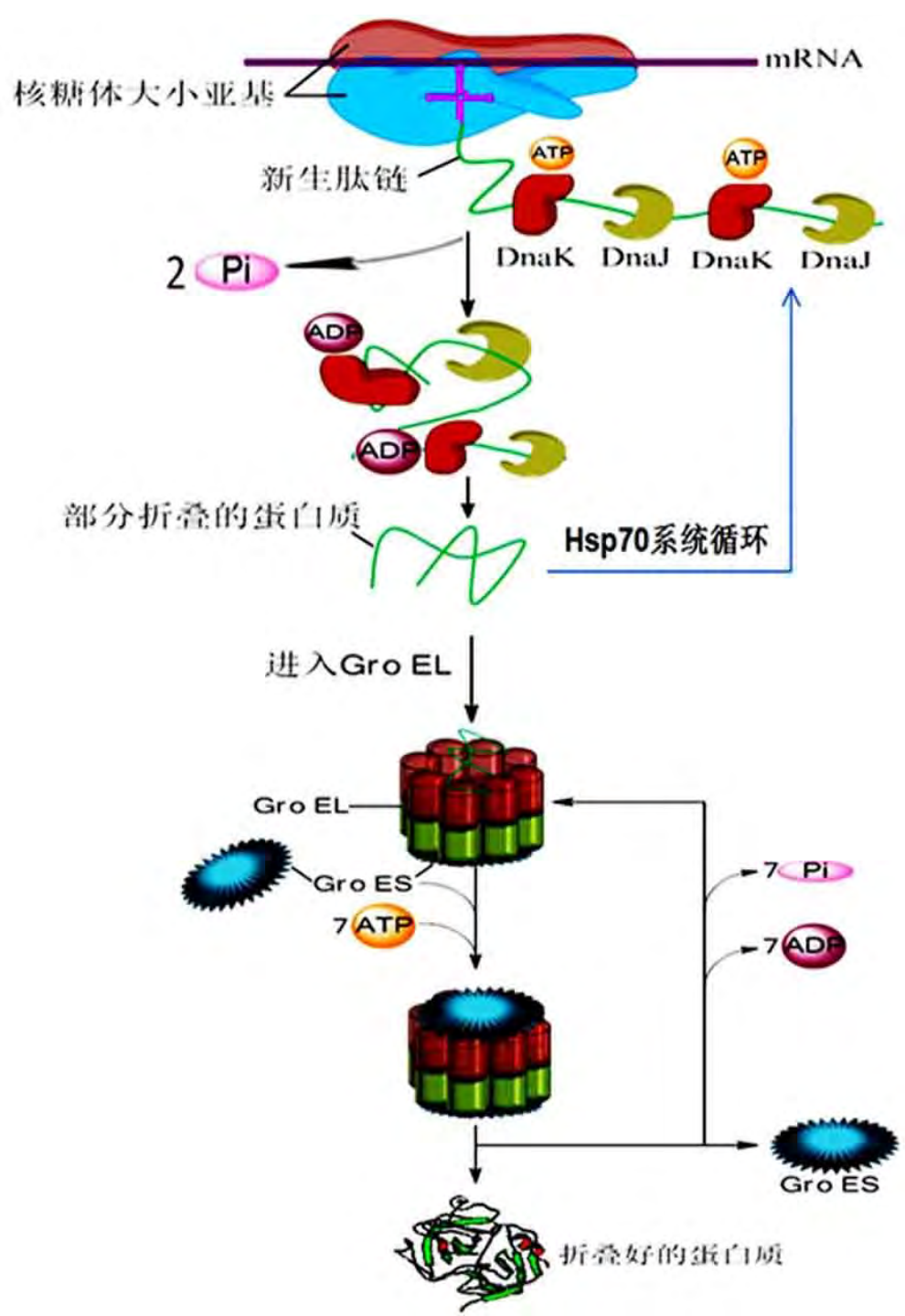
○ GroEL-GroES复合物



当待折叠肽链进入GroEL的桶状空腔后，GroES可作为“盖子”瞬时封闭GroEL空腔出口。封闭后的桶状空腔提供了能完成该肽链折叠的微环境。

○ 分子伴侣帮助肽链折叠

○ **HSP70**系统帮助一个新生蛋白质折叠，经几次循环，随后将部分正确折叠的蛋白质传递到 **GroEL-GroES**系统中继续折叠，直到形成天然空间构象。



二、蛋白质的翻译后修饰

主要包括：

- 多肽链的有限水解
- 氨基酸侧链化学修饰
- 二硫键形成



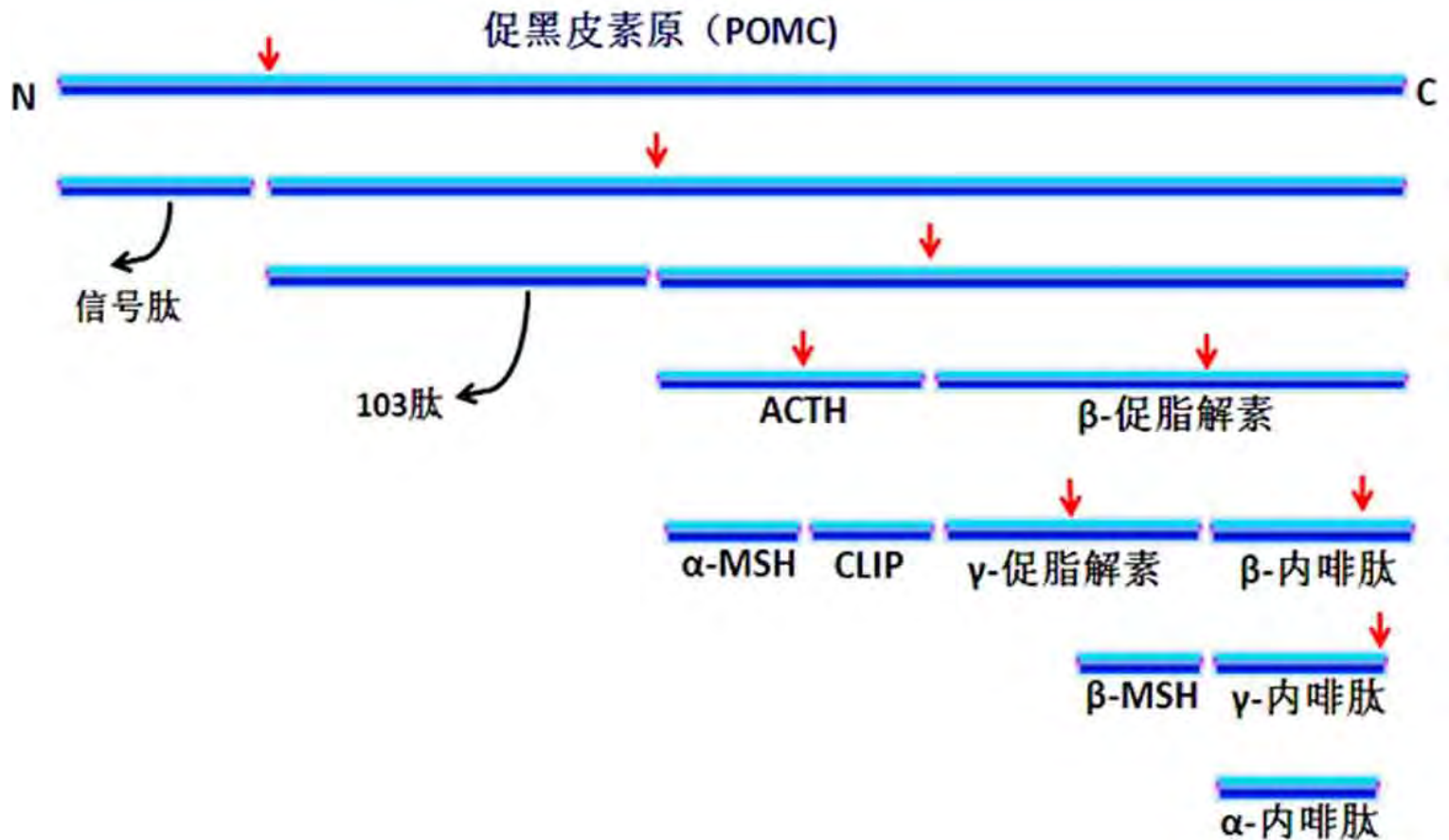
(一) 多肽链的有限水解

1. 切除N-端的甲酰基或甲硫氨酸

- 原核细胞内的脱甲酰基酶或氨基肽酶可以去除N-甲酰基、N-甲酰甲硫氨酸。
- 真核细胞分泌性蛋白和跨膜蛋白前体的N-端都有一段13-36个氨基酸残基（以疏水氨基酸残基为主）的肽段——信号肽(signal peptide)，这些信号肽在蛋白质成熟过程中需要被切除。

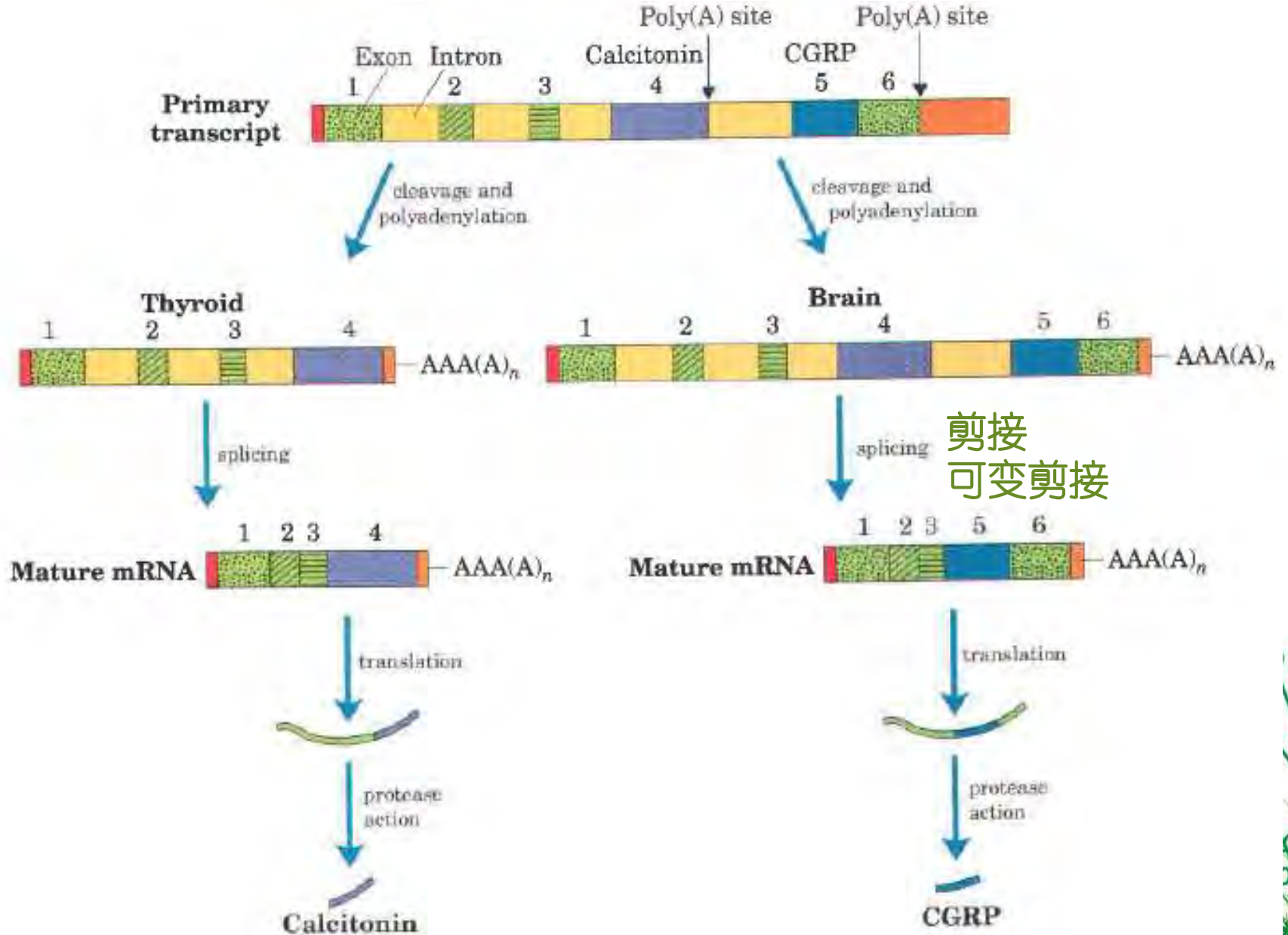
2. 肽链中肽键水解

例：促黑皮素原(POMC)的水解修饰



○ 不同细胞存在不同的水解模式，产生不同的激素。

大鼠降钙素基因hnRNA的剪切和剪接



(二) 氨基酸残基侧链的化学修饰

表 11-5 体内常见的蛋白质翻译后的化学修饰

发生修饰的部位或氨基酸残基

常见的化学修饰种类

多肽链氨基端

甲酰化,乙酰化,氨酰化,豆蔻酰化,糖基化

多肽链羧基端

甲基化,ADP 核糖基化

丝氨酸

磷酸化,糖基化,乙酰化

苏氨酸

磷酸化,糖基化,甲酰化

酪氨酸

磷酸化,碘化,腺苷酸化,磺酰化

精氨酸

N-甲基化,ADP 核糖基化

天冬酰胺

N-糖基化,N-甲基化,脱酰胺基作用

天冬氨酸

甲基化,磷酸化,羟基化作用

谷氨酰胺

脱酰胺基作用,交联

组氨酸

甲基化,ADP 核糖基化,磷酸化

赖氨酸

N-乙酰化,N-甲基化,氧化,羟基化作用,交联,泛素化,生物素化

甲硫氨酸

亚砷化

脯氨酸

羟基化作用,糖基化



1. 蛋白质糖基化

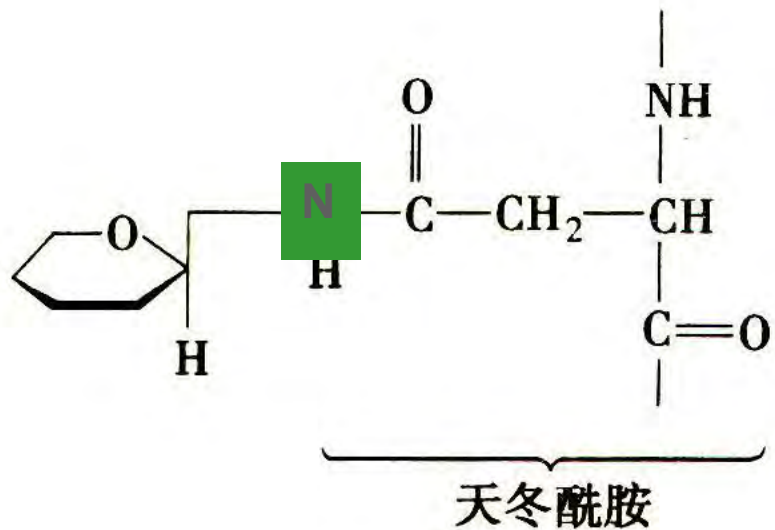
概念：在肽链生物合成的同时或合成后，在酶的催化下糖链被连接到肽链上的特定糖基化位点的过程。

意义：糖链的存在对肽链的折叠、糖蛋白的进一步成熟、亚基聚合、分拣、投送及糖蛋白的降解起着关键作用。

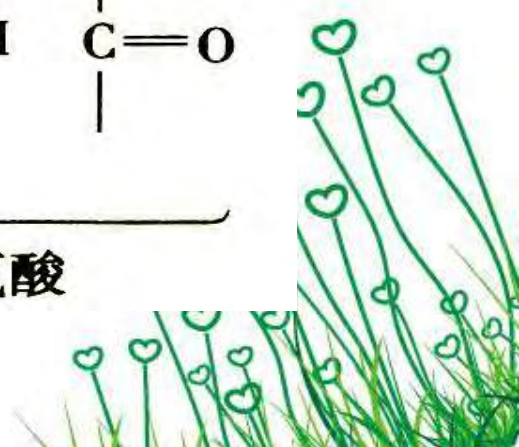
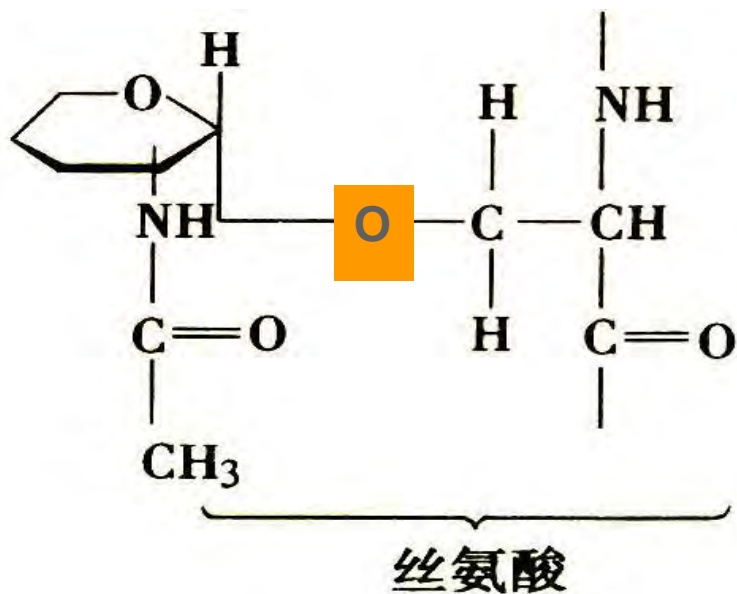


• 连接方式

N-连接:



O-连接:



(1) *N*-连接型糖蛋白

定义：

聚糖的*N*-乙酰葡萄糖胺与多肽链中Asn-X-Ser/Thr (NXS/T) 序列的天冬酰胺残基的酰胺氮以共价键连接称*N*-连接糖蛋白。



共翻译过程

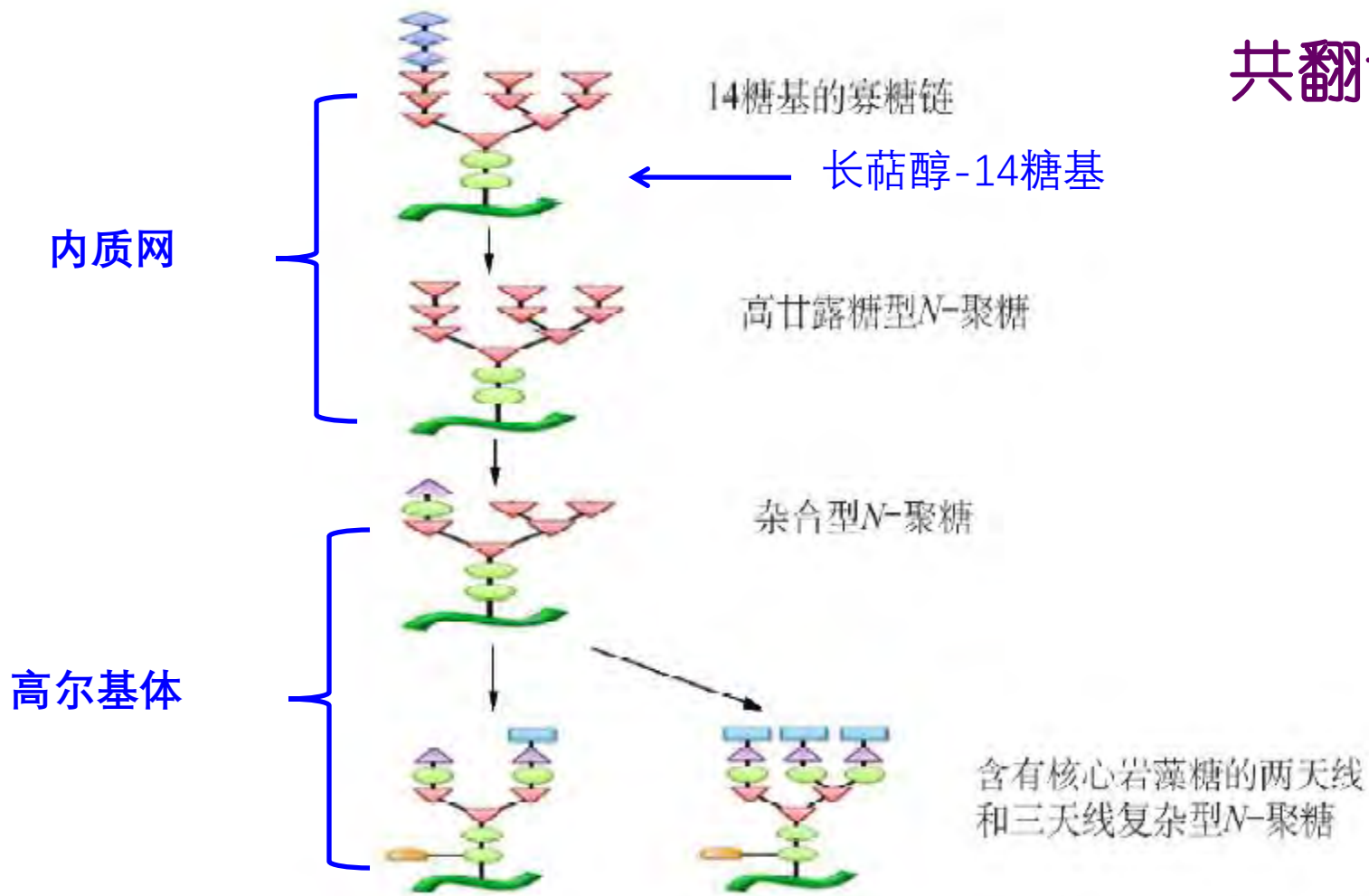
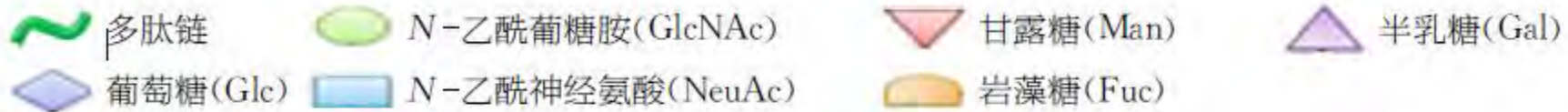


图 11-14 N-聚糖的加工过程



N-聚糖的加工过程



(2) O-连接型糖蛋白

糖基或糖链的还原端与蛋白质肽链中的丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr) 或羟赖氨酸 (Hyl) 羟基中的氧原子以糖苷键相连称为O-连接糖链。

通过N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 和丝氨酸或苏氨酸残基相连的O-糖链 (O-GalNAc) 分布最广，研究最多。

O-GalNAc特点：

- 与丝/苏氨酸侧链的羟基连接的只有单糖基的O-GalNAc。
- 这种糖基化修饰方式存在于细胞质和细胞核中。
- 生物学功能多样。



2. 磷酸化

蛋白质磷酸化是蛋白质翻译后修饰的重要形式。蛋白质磷酸化是调节和控制蛋白质活性和功能的最基本、最普遍、也是最重要的机制。

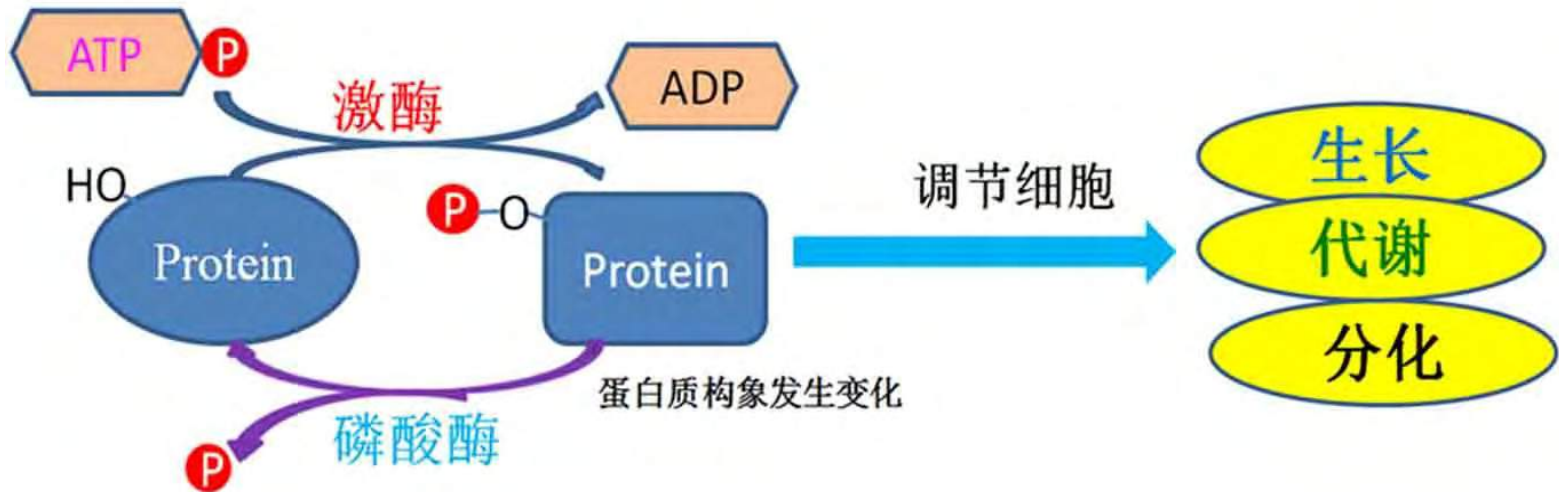
- 重要功能蛋白活性的发挥
- 第二信使传递 信号转导
- 酶的级联作用 糖原合酶、糖原磷酸化酶的调节



- 蛋白质磷酸化主要发生在两类氨基酸上：一类是丝氨酸（包括苏氨酸），另一类是酪氨酸。
- 催化这两类磷酸化反应的酶不一样，功能也不一样。
- 少数双功能酶可同时作用于这两类氨基酸，如促丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）。



蛋白质磷酸化与去磷酸化是细胞生理活动的分子开关



蛋白质的磷酸化与去磷酸化修饰



3. 乙酰化

乙酰化是指将乙酰基转移到氨基酸侧链基团的氮、氧、碳原子上的过程。

4. 甲基化

将活性甲基化合物（如S-腺苷甲硫氨酸）的甲基催化转移到其它化合物的过程。



三、蛋白质合成后的靶向输送

蛋白质在核蛋白体上合成后，必须分选出来，定向输送到一个合适的部位才能行使各自的生物学功能，这个过程称为**靶向输送**。

两个途径：共翻译易位输送和蛋白质翻译后的靶向输送。



(一) 共翻译易位输送

- 在核糖体合成的新生多肽的N-端含一段保守性很强的序列，有13-36个氨基酸残基，称为**信号肽 (signal peptide)**。
- 信号肽是决定蛋白质靶向输送特性的最重要元件，提示指导蛋白质靶向输送的信息存在于蛋白质自身的一级结构中。



信号肽有以下共性：

- ① N-端含1个或几个带正电荷的碱性氨基酸残基，如赖氨酸、精氨酸；
- ② 中段为疏水核心区，主要含疏水的中性氨基酸，如亮氨酸、异亮氨酸等；
- ③ C-端加工区由一些极性相对较大、侧链较短的氨基酸（如甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸）组成，紧接着是被信号肽酶(signal peptidase)裂解的位点。

信号肽酶
裂解位点

人生长激素
人胰岛素原
牛血清蛋白原
果蝇胶蛋白

MATGS	<u>RTS</u>	<u>LLAFGLLCLPWL</u>	QEGSA		FPT
MALWM	<u>R</u>	<u>LLPLLALLALW</u>	GPDAAA		FVN
	<u>M</u>	<u>WVTFISLL</u>	FSSAYS		RGV
<u>M</u>	<u>LLVVA</u>	<u>VIACMLIGFAD</u>	PASG		CKD

信号识别颗粒 (signal recognition particle, SRP)

- SRP是由7S-RNA和6种不同的多肽链组成的RNA-蛋白质复合体。
- SRP与携带新生多肽链的核糖体相互作用，使翻译暂时停止。

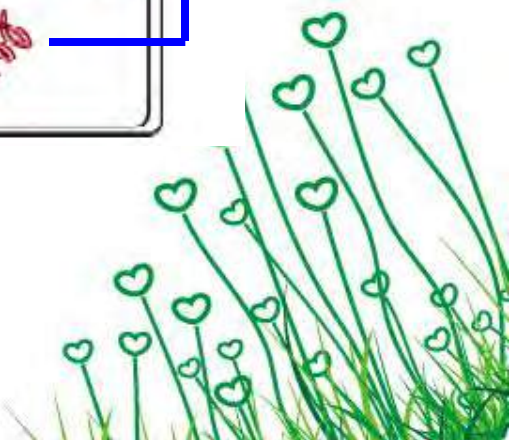
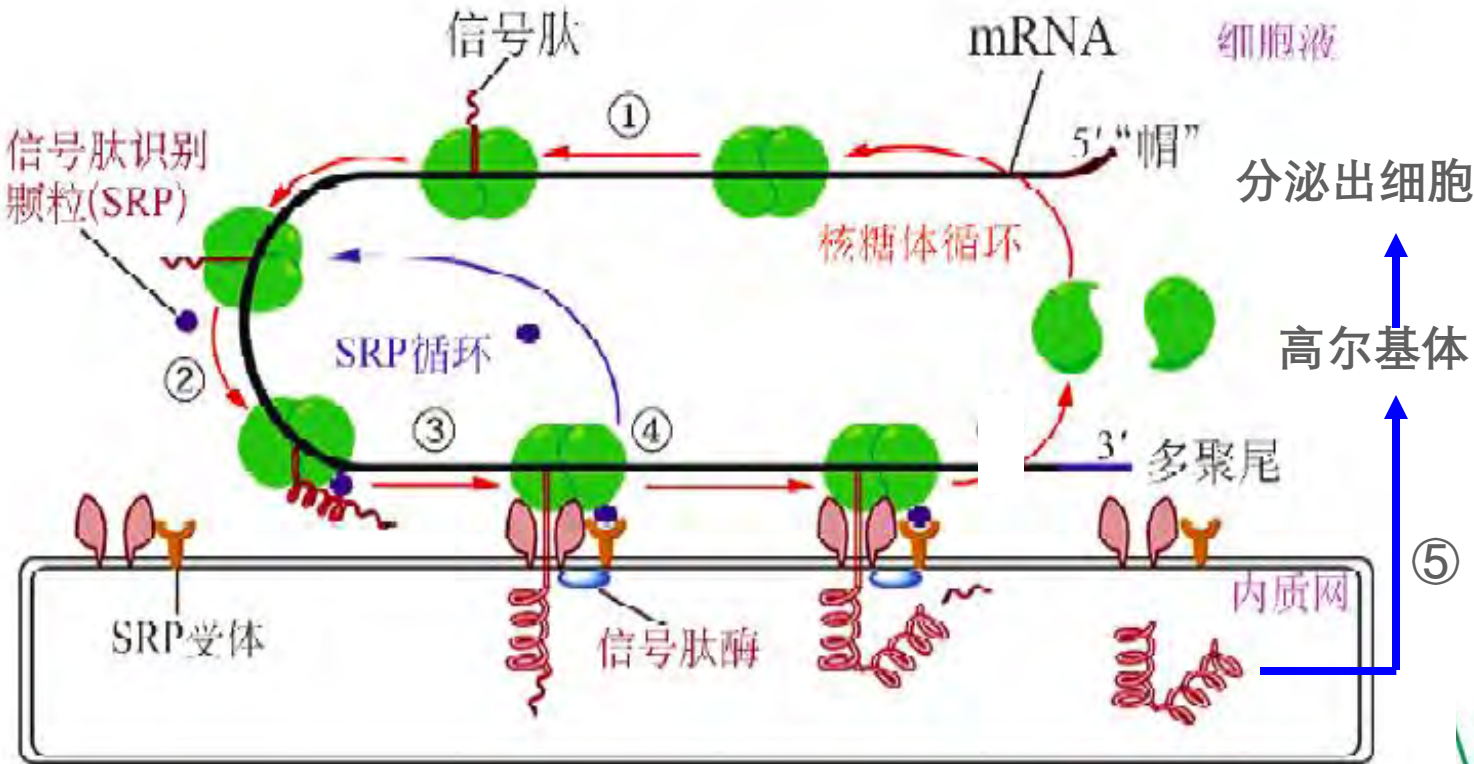


共翻译易位输送

- 新生肽链在合成过程中插入到与核糖体结合的内质网膜上的特殊通道，然后转移入其内腔。
- 信号肽由内质网内的信号肽酶切除。
- 蛋白质在内质网内进行有效的加工与修饰后，进入高尔基复合体，然后被分别运送至不同的目的地，如溶酶体、质膜或分泌出细胞外。



1. 分泌型蛋白质的加工



2. 质膜蛋白质的靶向输送

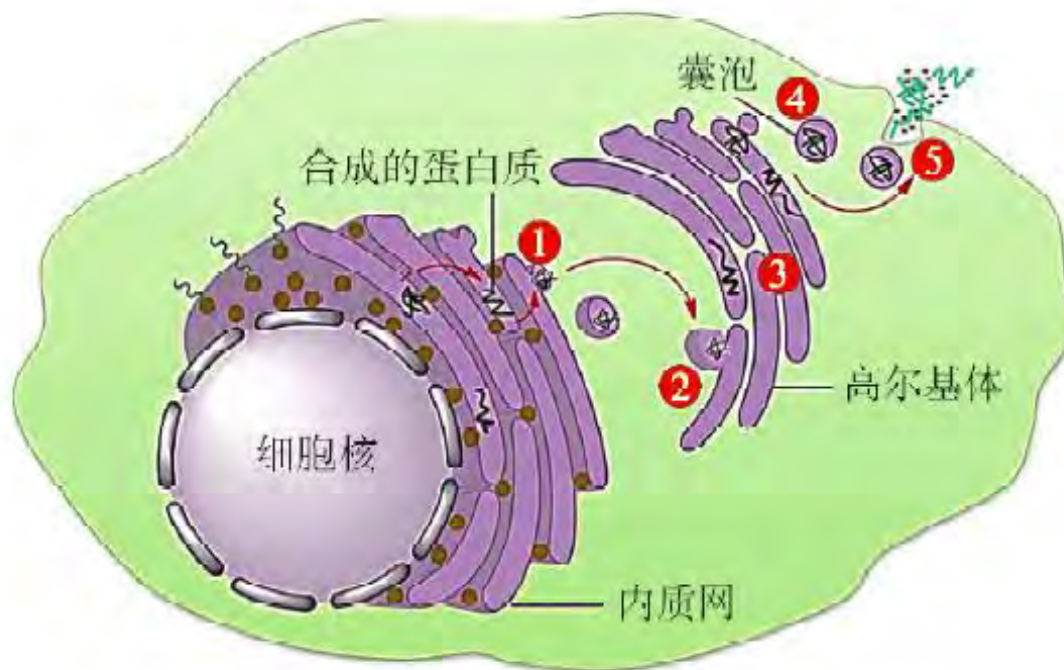


图 11-18 质膜蛋白质由囊泡靶向转运至细胞膜

①锚定在内质网膜上的质膜蛋白质形成粗面内质网出芽的小泡成分；②从穿梭小泡把质膜蛋白质运输到高尔基复合体；③囊泡在高尔基复合体中间膜囊加工和运输；④质膜蛋白质随高尔基复合体外侧膜囊形成的分泌小泡离开高尔基复合体；⑤随囊泡转运至细胞膜并与细胞膜融合而构成新的质膜



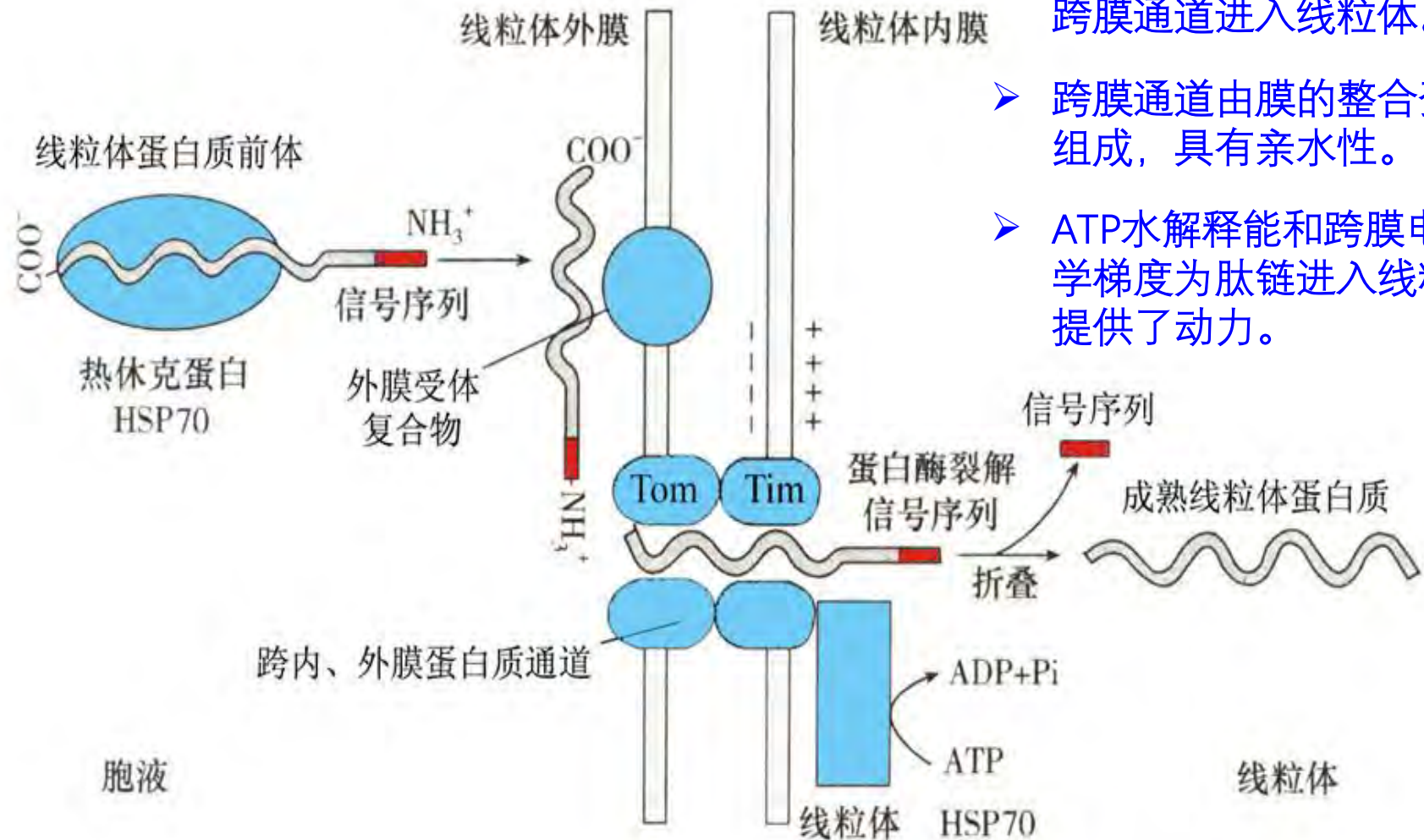
(二) 蛋白质翻译后的靶向输送

- 细胞器（线粒体、叶绿体、细胞核、过氧化物酶体）的许多组成蛋白质由游离核糖体合成。
- 蛋白质前体释放到细胞质中，随后为细胞器接受。
- 跨细胞器膜的蛋白质是在肽链合成后转运的，因此称为翻译后转运。

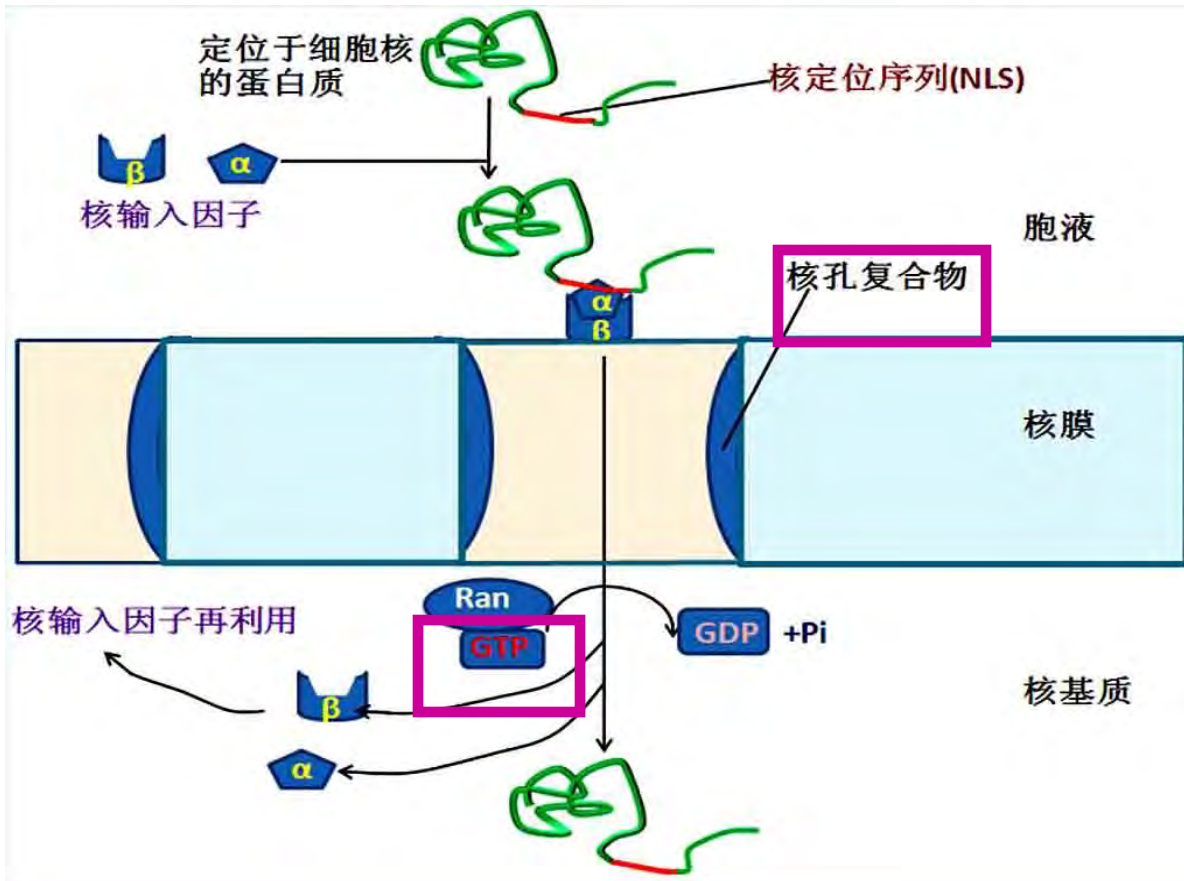


1. 线粒体蛋白质的靶向输送

- 蛋白质前体在线粒体外膜上与受体蛋白结合，通过跨膜通道进入线粒体。
- 跨膜通道由膜的整合蛋白组成，具有亲水性。
- ATP水解释能和跨膜电化学梯度为肽链进入线粒体提供了动力。



2. 细胞核蛋白质的靶向输送



核定位序列：

- ▶ 靶向输送到细胞核的蛋白质其多肽链内含有特异信号序列，称为核定位序列 (nuclear localization sequence, NLS)。
- ▶ NLS为含4~8个氨基酸残基的短序列，富含带正电荷的赖氨酸、精氨酸和脯氨酸，可位于肽链的不同部位，而不只在N末端。
- ▶ 不同的NLS间未发现共有序列；在蛋白质进核定位后，NLS不被切除。

第四节

蛋白质生物合成的干扰与抑制



- 蛋白质生物合成是很多天然抗生素和某些毒素的作用靶点。抗生素等通过阻断真核、原核生物蛋白质翻译体系某组分功能，干扰和抑制蛋白质生物合成过程而起作用。
- 蛋白质生物合成必需的关键组分可作为研究新抗菌药物的作用靶点。同时尽量利用真核、原核生物蛋白质合成体系的任何差异，以设计、筛选仅对病原微生物特效而不损害人体的药物。



一、抗生素类阻断剂

抗生素(antibiotics)是一类由某些真菌、细菌等微生物产生的药物，有抑制其它微生物生长或杀死其它微生物的能力。对宿主无毒性的抗生素可用于预防和治疗人、动物和植物的感染性疾病。



○ 影响翻译起始的抗生素

○ 影响翻译延长的抗生素

干扰进位的抗生素

引起读码错误的抗生素

影响肽键形成的抗生素

影响移位的抗生素



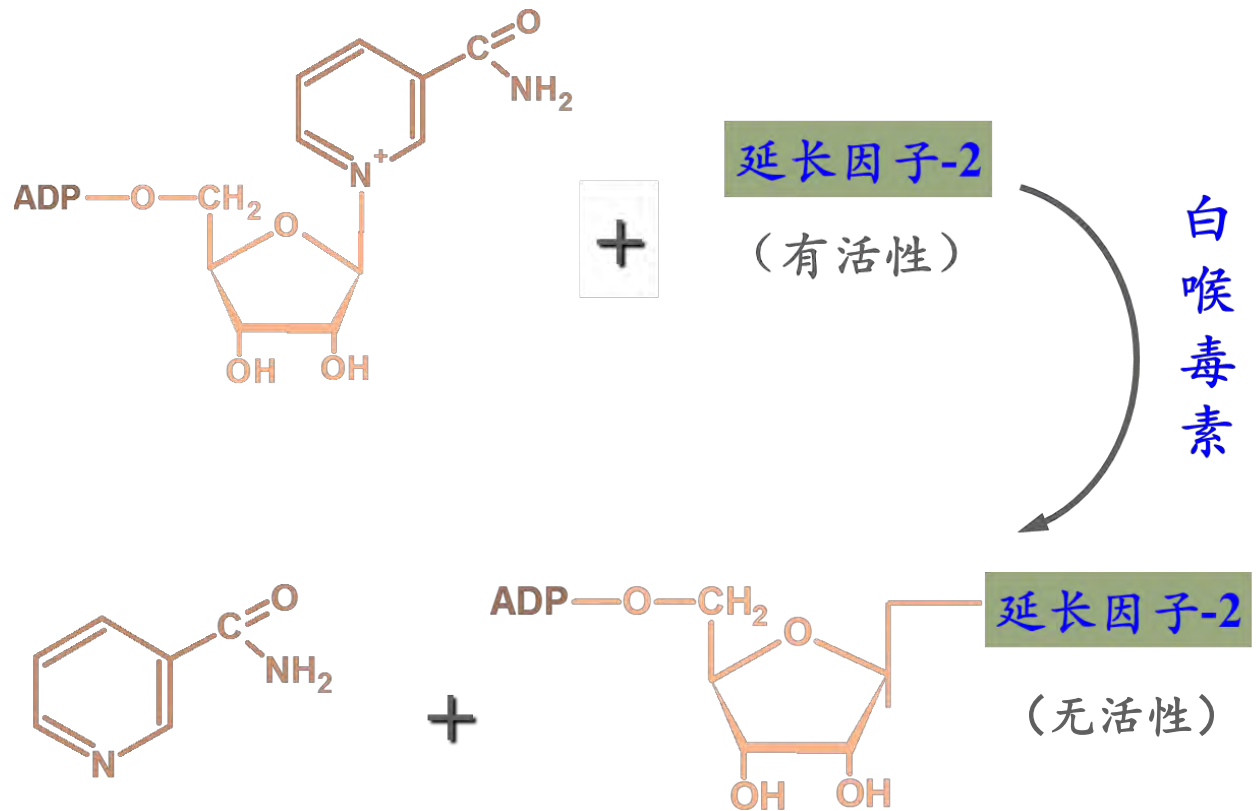
名称	作用对象	阻断过程	影响效果	作用的细胞类型
氯霉素	50S	延伸	肽键形成	原核生物
放线菌酮	60S	起始,延伸	结合起始 tRNA 转位(tRNA 从 P 位释放)	真核生物
白喉毒素	eEF - 2	延伸	转位	真核生物
红霉素	50S	起始	起始复合物形成	原核生物
梭链孢酸	EF - G/eFE - 2	延伸	转位	原核/真核生物
嘌呤霉素	50S/60S	延伸	肽键形成	原核/真核生物
壮观霉素	30S	延伸	转位	原核生物
链霉素	30S	起始,延伸	起始 tRNA 结合氨酰 tRNA 结合(诱发错读)	原核生物
四环素	30S	延伸,终止	氨酰 tRNA 的结合 RF - 1 和 RF - 2 的结合	原核生物



二、干扰蛋白质生物合成的生物活性物质

1. 白喉毒素(diphtheria toxin)

某些毒素能阻断蛋白质合成而呈现毒性，如白喉毒素是真核细胞蛋白质合成**肽链延长阶段**的抑制剂。它作为一种修饰酶，可使**eEF-2**发生共价修饰，生成eEF-2腺苷二磷酸核糖衍生物，使eEF-2失活。



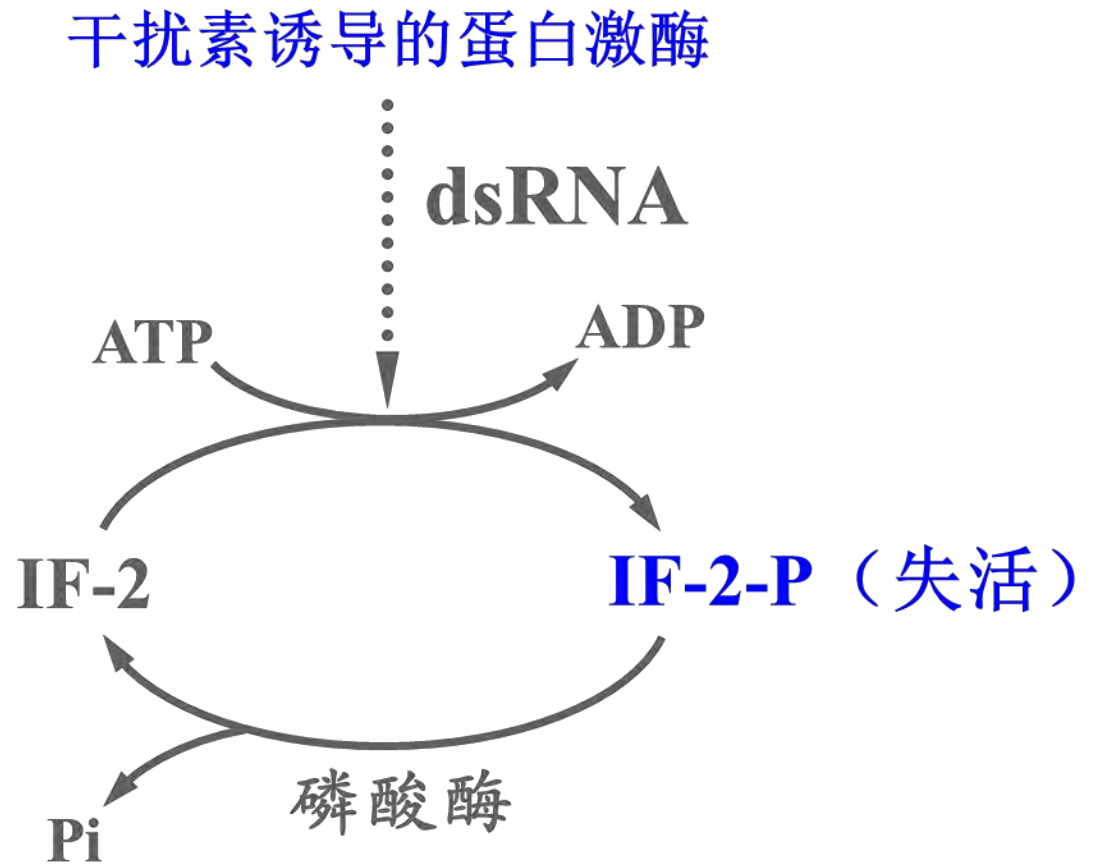
2. 干扰素

- 干扰素（interferon, IFN）是真核细胞被病毒感染后分泌的一类具有抗病毒作用的小分子糖蛋白，可抑制病毒的繁殖。
- 干扰素分为 α -型（白细胞）、 β -型（成纤维细胞）和 γ -型（淋巴细胞）三大类，每类各有亚型，分别具有其特异作用。



○ 干扰素抑制病毒的作用机制有两方面：

○ 干扰素在某些病毒双链RNA存在时，能诱导特异的蛋白激酶活化，该活化的蛋白激酶使IF-2磷酸化而失活，从而抑制病毒蛋白质合成。



- 干扰素能与双链RNA共同活化特殊的2'-5'寡聚腺苷酸 (2'-5'A) 合成酶，催化ATP聚合，生成单核苷酸间以2'-5'磷酸二酯键连接的2'-5'A，经2'-5'A活化核酸内切酶RNase L，后者可降解病毒mRNA，从而阻断病毒蛋白质合成。

