

第十二章 蛋白质的生物合成

Chapter 12

Protein biosynthesis

本章要求

1. 掌握蛋白质生物合成体系在翻译过程中的作用
2. 掌握遗传密码的特点
3. 掌握氨基酰-tRNA合成酶的作用特点
4. 掌握原核、真核生物翻译过程的异同
5. 掌握分子伴侣的作用和翻译后修饰的形式
6. 信号肽及其作用，各类蛋白质靶向输送的特点
7. 抗生素、毒素和干扰素抑制翻译的机制
8. 掌握下列概念
翻译;遗传密码; open reading frame; 摆动性; Shine-Dalgarno sequence; 蛋白质靶向输送; 分子伴侣; 分子病

蛋白质的生物合成，即翻译，是指DNA结构基因中储存的遗传信息通过转录生成mRNA，再指导相应氨基酸序列的多肽链合成的过程。

第一节 蛋白质合成体系

蛋白质合成体系包括：

氨基酸

mRNA

tRNA

核糖体

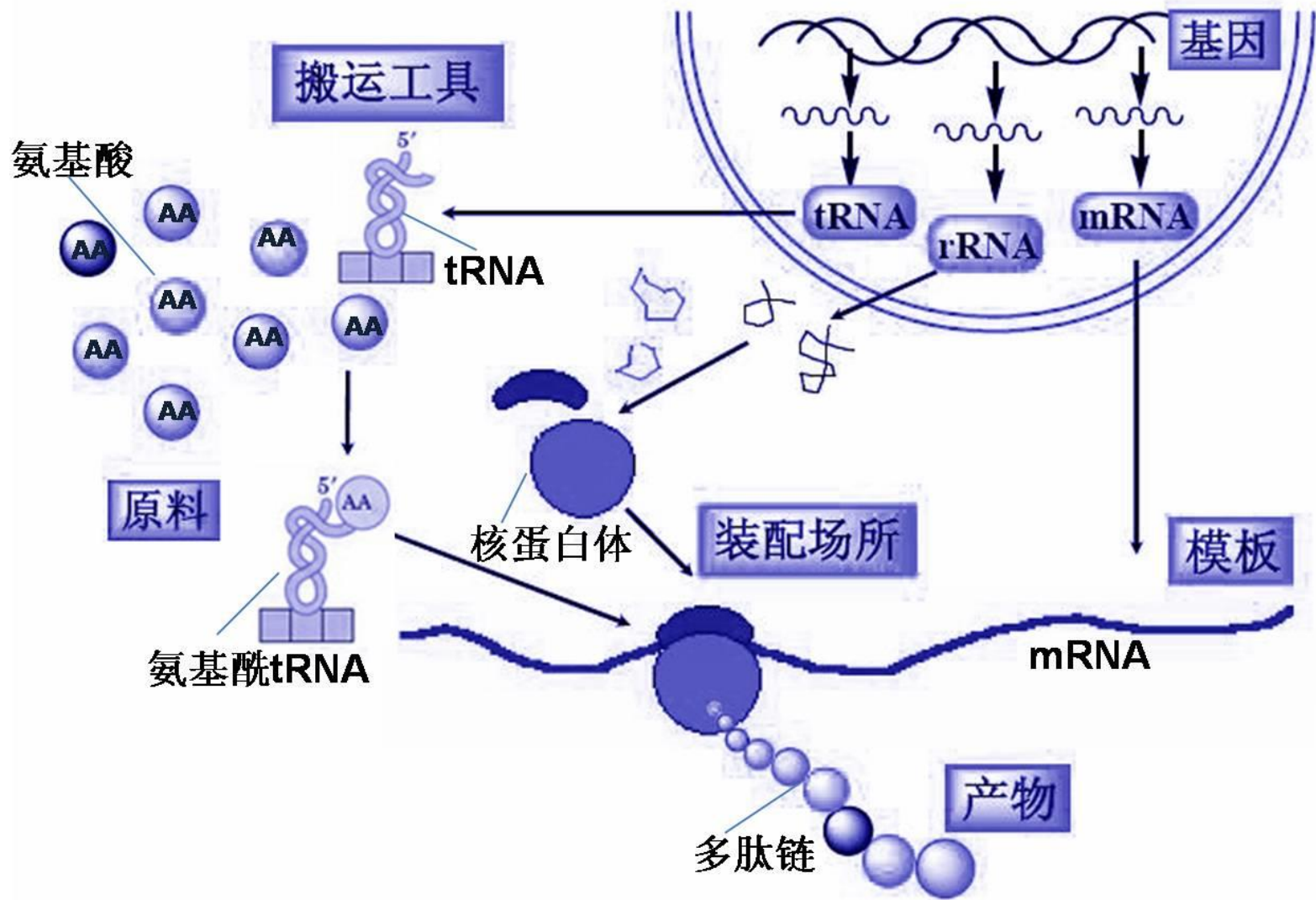
酶

蛋白质因子

ATP、GTP等供能物质

无机离子

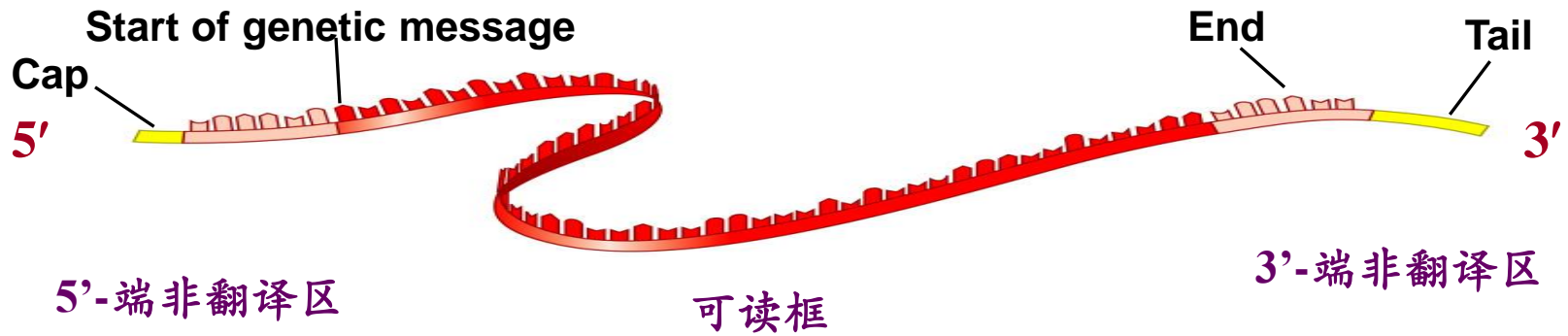
300余种生物大分子



蛋白质合成体系的主要组分

一、 mRNA与遗传密码

(一) mRNA的结构



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，称为可读框(open reading frame, ORF)。

- 遗传学将编码一个多肽链的遗传单位称为**顺反子 (cistron)**。
- 真核mRNA只编码一条多肽链，称为**单顺反子 (single cistron)**。
- 原核mRNA可编码多条肽链，称为**多顺反子 (polycistron)**。

(二) 遗传密码

mRNA阅读框架内，每相邻的三个核苷酸组成一组，形成三联体，编码一种氨基酸，称为**遗传密码 (genetic codon)**。

起始密码(initiation codon): **AUG**

终止密码(termination codon):

UAA、UAG、UGA

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，各个三联体密码连续排列编码一个蛋白质多肽链，称为**可读框 (open reading frame, ORF)**。

遗传密码表

第一个核苷酸 (5')	第二个核苷酸				第三个核苷酸 (3')
	U	C	A	G	
U	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	U
	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	C
	亮氨酸	丝氨酸	终止信号	终止信号	A
	亮氨酸	丝氨酸	终止信号	色氨酸	G
C	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	U
	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	C
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	A
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	G
A	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	U
	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	C
	异亮氨酸	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	A
	甲硫氨酸*	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	G
G	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	U
	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	C
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	A
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	G

* 位于 mRNA 起始部位的 AUG 为肽链合成的起始信号。作为起始信号的 AUG 具有特殊性，在细菌中此种密码子代表甲酰甲硫氨酸，在高等动物中则代表甲硫氨酸。

(三) 遗传密码的特点

1. 连续性 (commaless)

从起始密码子开始到终止密码子为止的编码蛋白质氨基酸序列的各个三联体密码连续阅读，密码间没有交叉或重叠。

若在mRNA中插入或删除一个或两个碱基，就会导致后续密码子阅读框架的改变，产生异常的多肽链，称为**框移突变（frame shift mutation）**。

mRNA 5' --- [G U A] [G C C] [U A C] [G G A] [U] --- 3'

插入 -- [G U A] [G C C] [U C A] [C G G] [A U] ---

(+)
↓

缺失 -- [G U A] [C C U] [A C G] [G A U] ---

(-)
↓

2. 方向性 (direction)

起始密码子总是位于编码区5'-末端，而终止密码子位于3'-末端，每个密码子的三个核苷酸也是按照5'→3'方向阅读，不能倒读。



3. 简并性 (degeneracy)

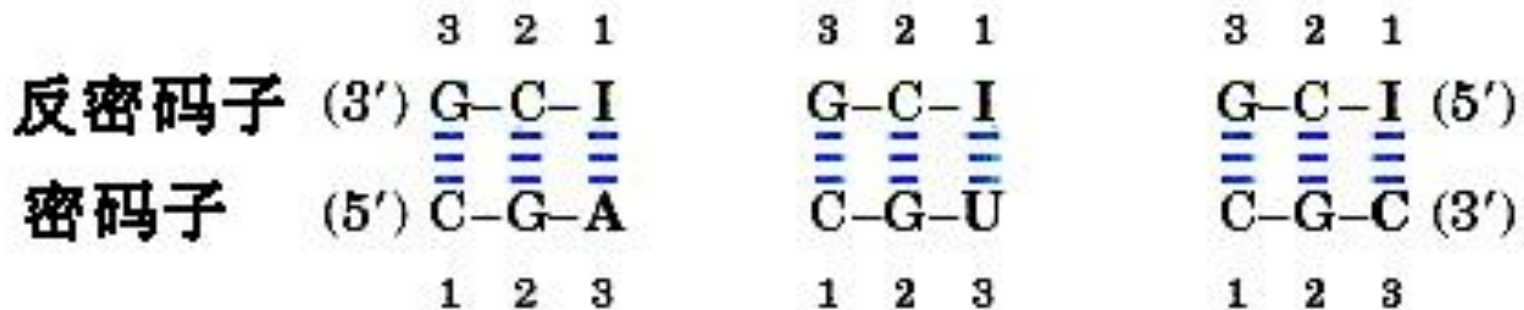
遗传密码中，除色氨酸和甲硫氨酸仅有一个密码子外，其余氨基酸均有2个或多个密码子。

表 12-2 氨基酸对应的密码子数量

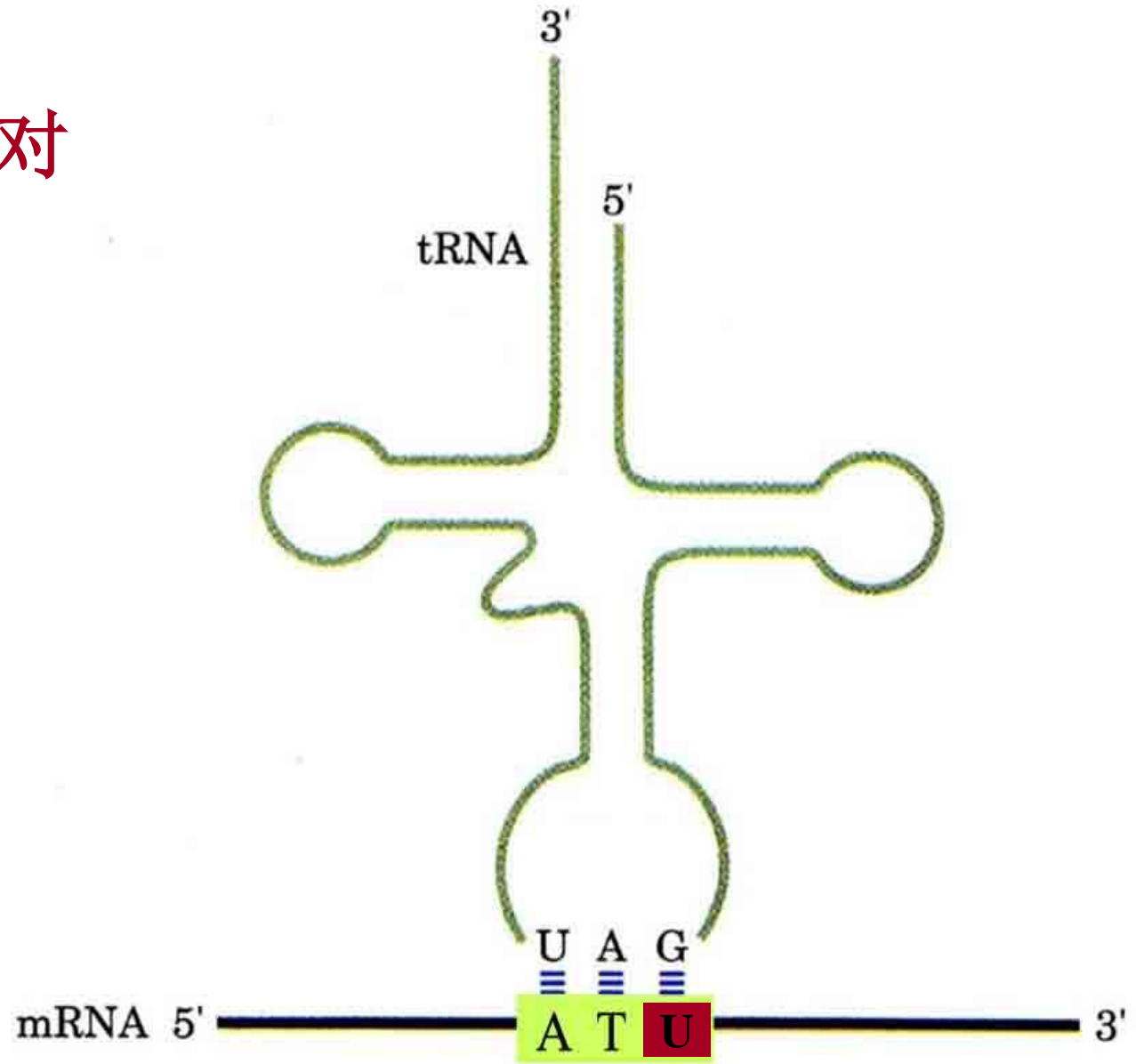
氨基酸	密码子数目	氨基酸	密码子数目
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Phe	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Val	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Gly	4
Glu	2	Thr	4
Lys	2	Ser	6
His	2	Leu	6
Phe	2	Arg	6

4. 摆动性 (wobble)

转运氨基酸的tRNA的反密码子需要通过碱基互补与mRNA上的遗传密码反向配对结合，但反密码与密码间不严格遵守碱基互补规律。



摆动配对



5. 通用性 (universal)

蛋白质生物合成的整套密码，从原核生物到人类都可以通用。

（四）真核mRNA结构特点

“帽子”结构：

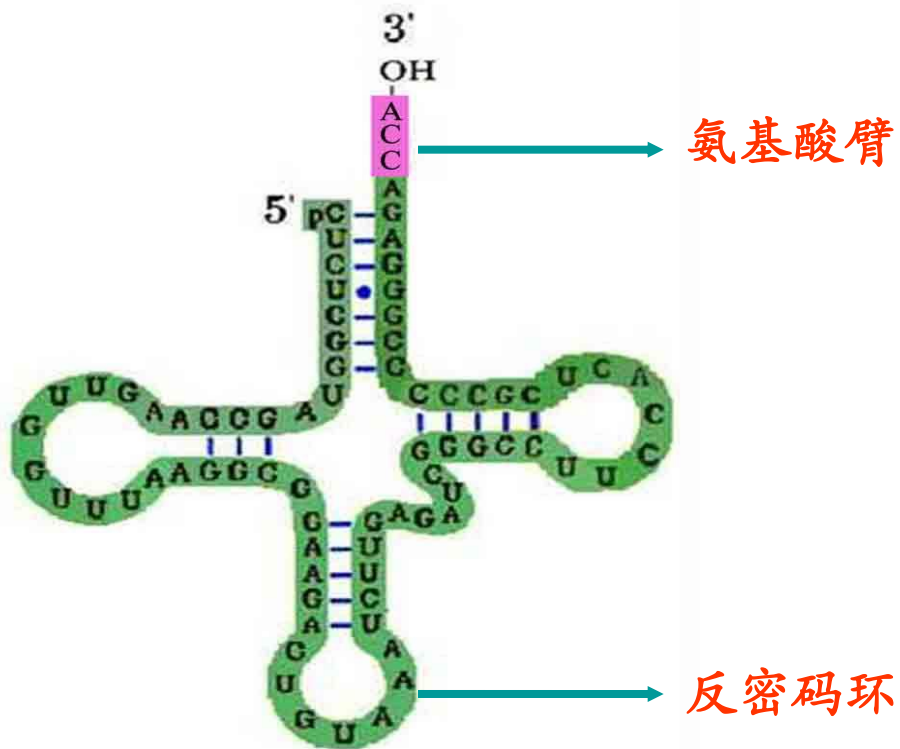
（1）稳定mRNA的作用，可保护mRNA的5'-端，避免外切核酸酶的攻击；

（2）对翻译起识别作用。

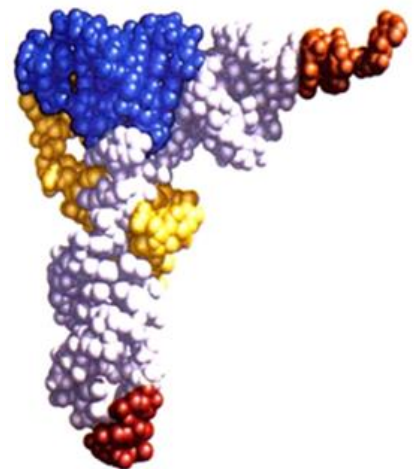
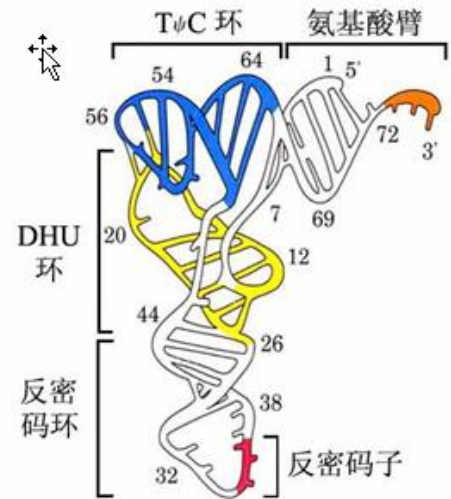
polyA尾结构：

其生物学功能还不太清楚，可能与hnRNA从核内移出及抵抗外切核酸酶从3'-端降解mRNA有关。

二、氨基酸的“搬运工具”——tRNA



二级结构



三级结构

三、肽链合成的“装配机”——核糖体

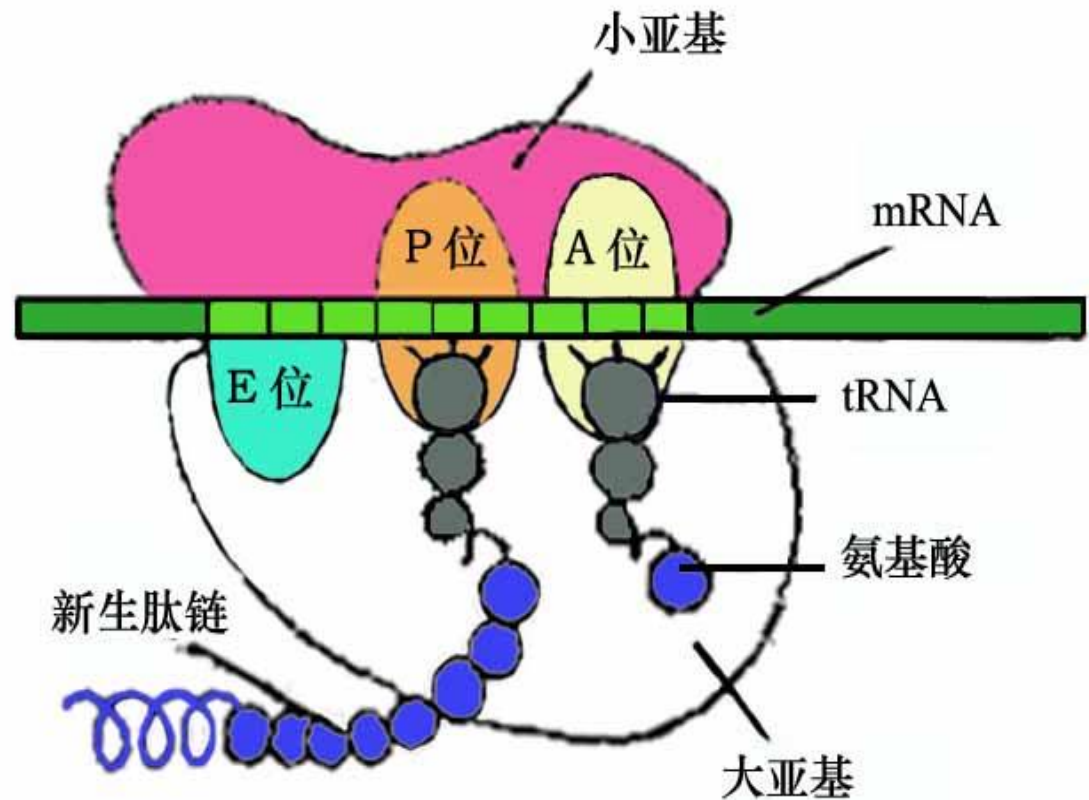
原核细胞核和真核细胞核糖体的组成

	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-rRNA	23S-rRNA 5S-rRNA		18S-rRNA	28S-rRNA 5.8S-rRNA 5S-rRNA
蛋白质		rpS 21种	rpL 36种		rpS 33种	rpL 49种

P位：肽酰位
(peptidyl site)

A位：氨基酰位
(aminoacyl site)

E位：排出位
(exit site)



第二节 蛋白质的合成过程

The Process of Protein Biosynthesis

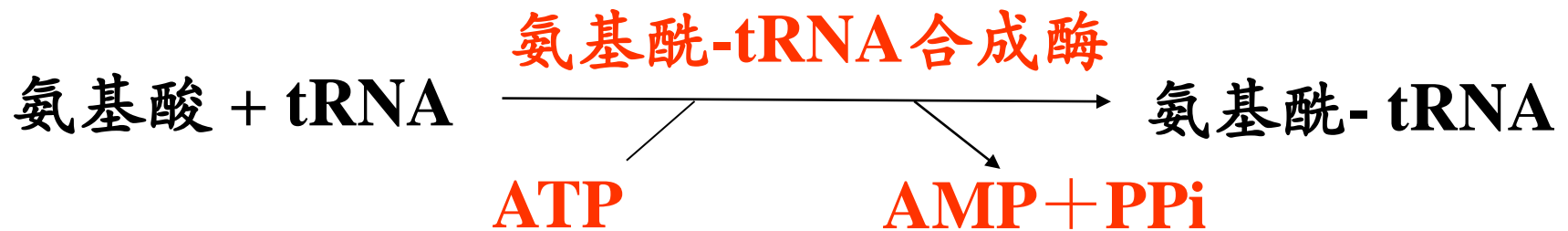
蛋白质生物合成的反应步骤包括：

- ①氨基酸的活化；
- ②肽链合成的起始；
- ③肽链延长；
- ④肽链终止。

以及合成后加工修饰和定向运输。

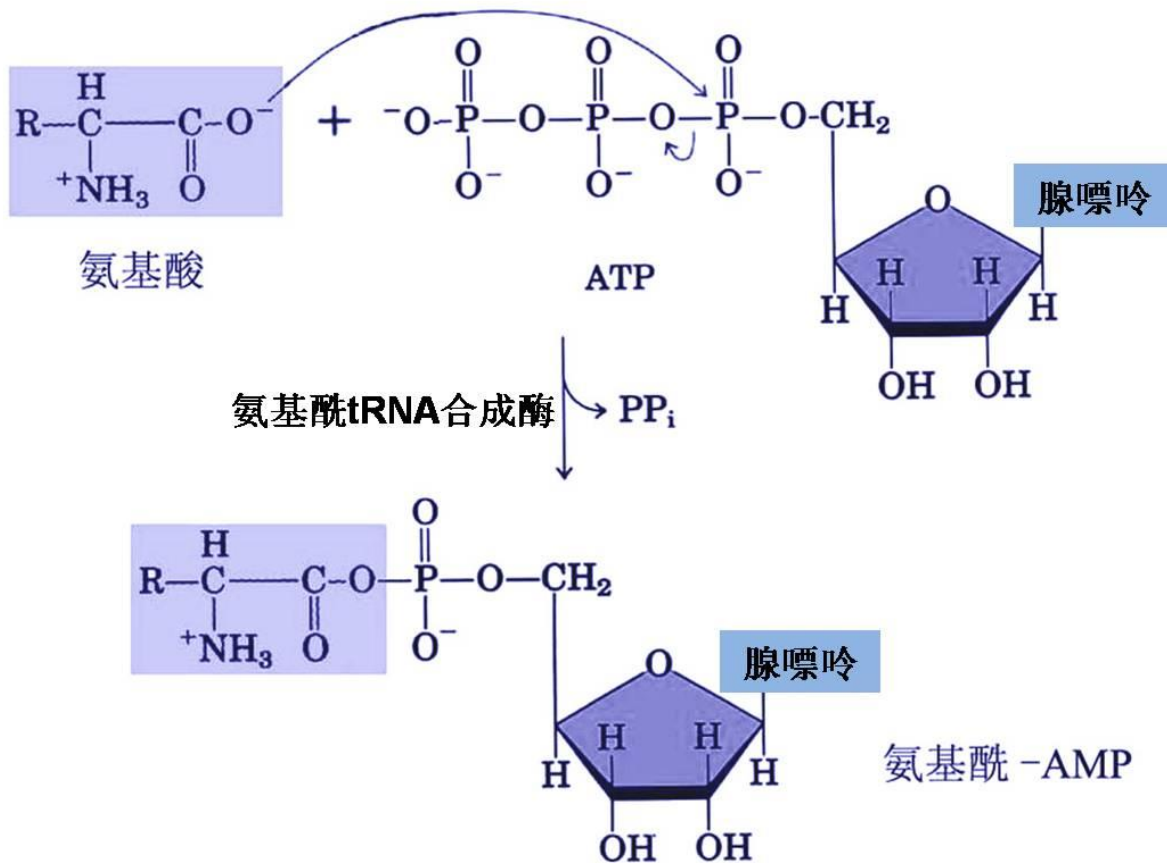
一、氨基酸的活化与转运

氨基酸在氨基酰-tRNA合成酶催化下，生成氨基酰-tRNA。该反应为可逆反应，需要镁离子和ATP参与。



氨基酸活化和转运过程分两步进行

第一步反应



第二步反应

氨基酰-AMP-E

+

tRNA



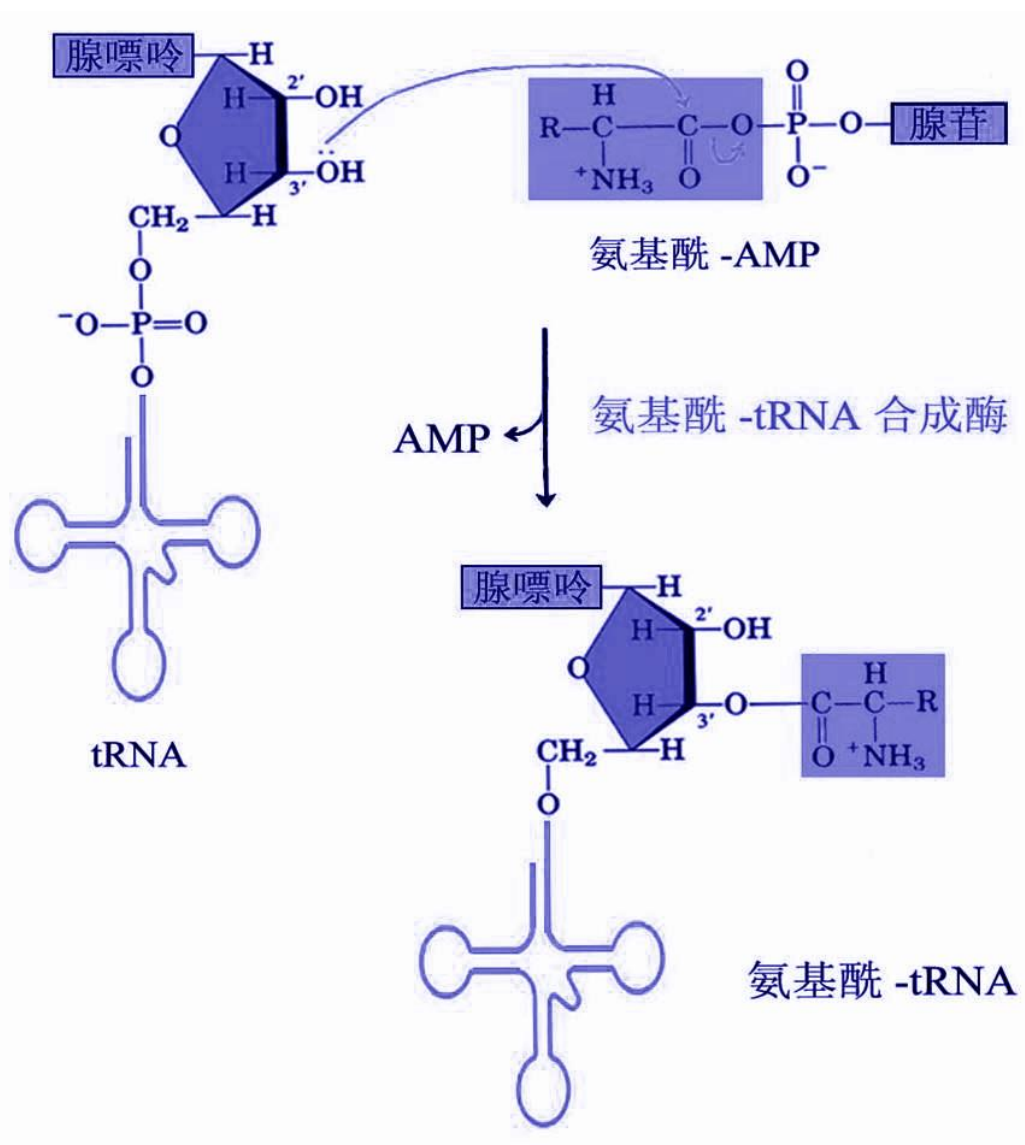
氨基酰-tRNA

+

AMP

+

E



- 氨基酰-tRNA合成酶对维持翻译保真性至关重要：它对底物氨基酸和tRNA都有高度特异性。
- 氨基酰-tRNA合成酶具有校对活性（proofreading activity），保证了蛋白质合成的错误率 <0.0001 。

二、肽链合成的起始

指mRNA和起始氨基酰-tRNA与核蛋白体共同构成**起始复合物**。这一过程需要起始因子(IF)、GTP和镁离子参与。

起始氨基酰-tRNA的表示方法: $\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$

真核生物: $\text{Met-tRNA}_i^{\text{Met}}$

原核生物: $\text{fMet-tRNA}_i^{\text{fMet}}$

原核生物中的起始因子有**3种**：

IF1直接结合到小亚基**A**位，阻止**tRNA**过早与**A**位结合；

IF2具有**GTP**酶活性，催化**fMet-tRNA_i^{fMet}**结合至小亚基，并阻止其他负载**tRNA**与小亚基结合。

IF3结合于小亚基**E**位，阻止小亚基与大亚基的结合，并促进**fMet-tRNA_i^{fMet}**结合至核糖体的**P**位。

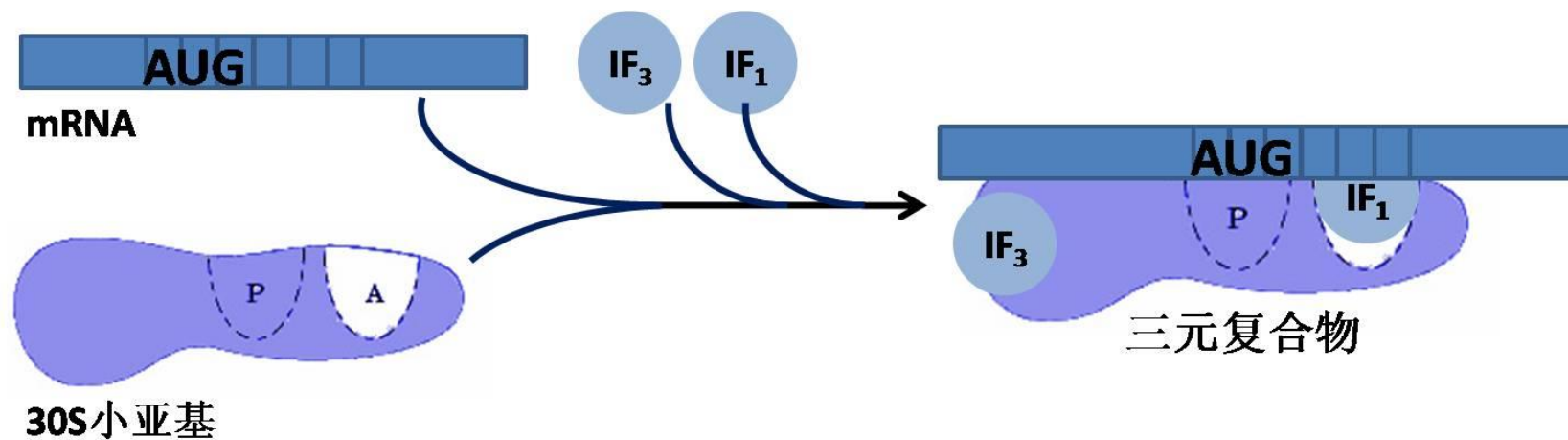
参与核糖体循环的起始因子

	起始因子	生物功能
原核生物	IF-1	占据A位防止结合其他tRNA
	EIF-2	促进起始tRNA与小亚基结合
	EIF-3	促进大小亚基分离，提高P位对结合起始tRNA敏感性
真核生物	eIF-2	促进起始tRNA与小亚基结合
	eIF-2B, eIF-3	最先结合小亚基促进大小亚基分离
	IF-4A	eIF-4F复合物成分，有解螺旋酶活性，促进mRNA结合小亚基
	eIF-4B	结合mRNA，促进mRNA扫描定位起始AUG
	eIF-4E	eIF-4F复合物成分，结合mRNA5' 帽子
	eIF-4G	eIF-4F复合物成分，结合eIF-4E和PAB
	eIF-5	促进各种起始因子从小亚基解离，进而结合大亚基
	eIF-6	促进核蛋白体分离成大小亚基

原核生物蛋白质合成起始阶段

- 起始三元复合物的形成；
- mRNA在小亚基定位结合；
- 起始氨基酰-tRNA定位在P位；
- 起始复合物的形成。

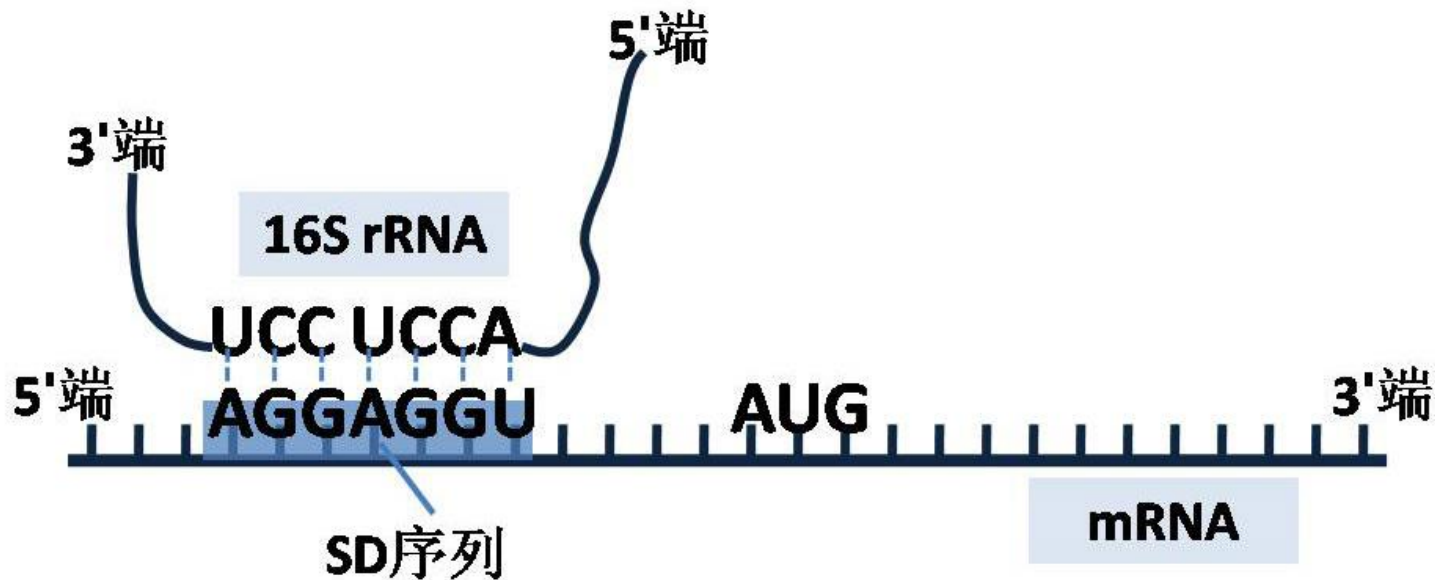
1. 起始三元复合物的形成



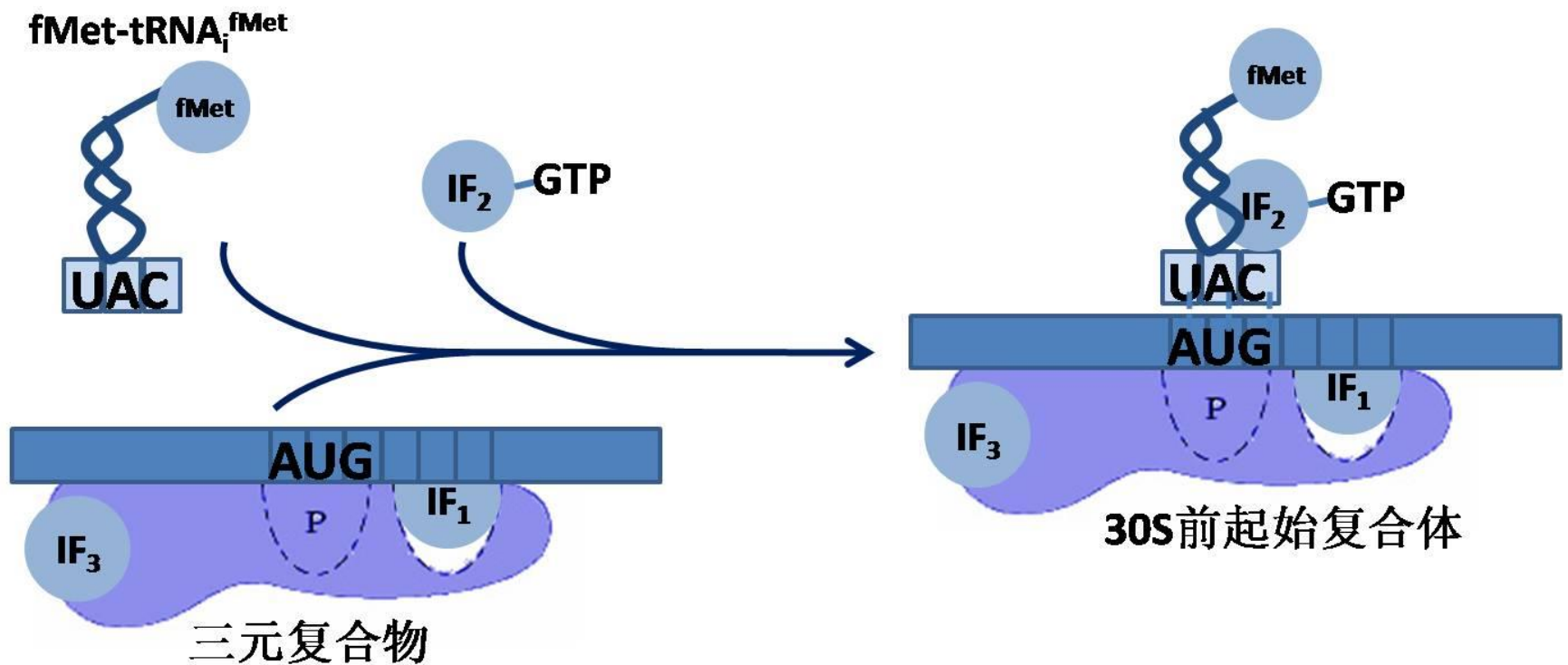
2. mRNA在小亚基定位结合

SD序列（Shine-Dalgarno sequence）：

在mRNA起始密码子的上游8~13个核苷酸处有一段4~9个核苷酸组成的富含嘌呤核苷酸的序列，以AGGA为核心，它可与核糖体小亚基中的16S rRNA 3'-端富含嘧啶的序列（UCCU）互补。



3. 起始氨基酸-tRNA定位在P位



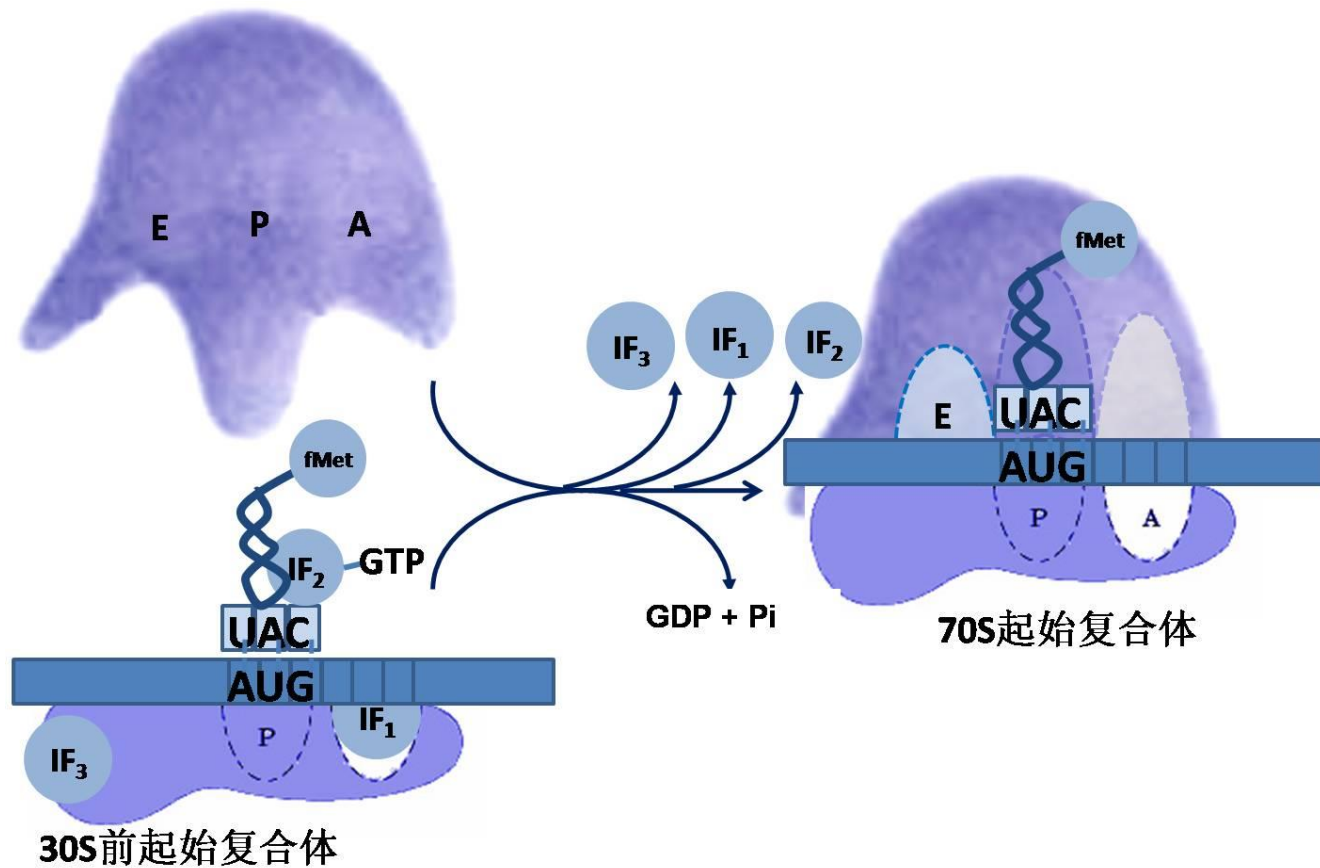
影响 **fMet-tRNA_i^{fMet}** 定位于P位的三个因素：

①SD序列与16SrRNA的相互作用；

②起始密码子与**fMet-tRNA_i^{fMet}**反密码子的相互作用；

③P位和**fMet-tRNA_i^{fMet}**的结合相互作用。

4. 起始复合物的形成



三、肽链的延长

肽链延长过程是一个循环过程，每个循环包括进位、成肽、转位三个步骤。

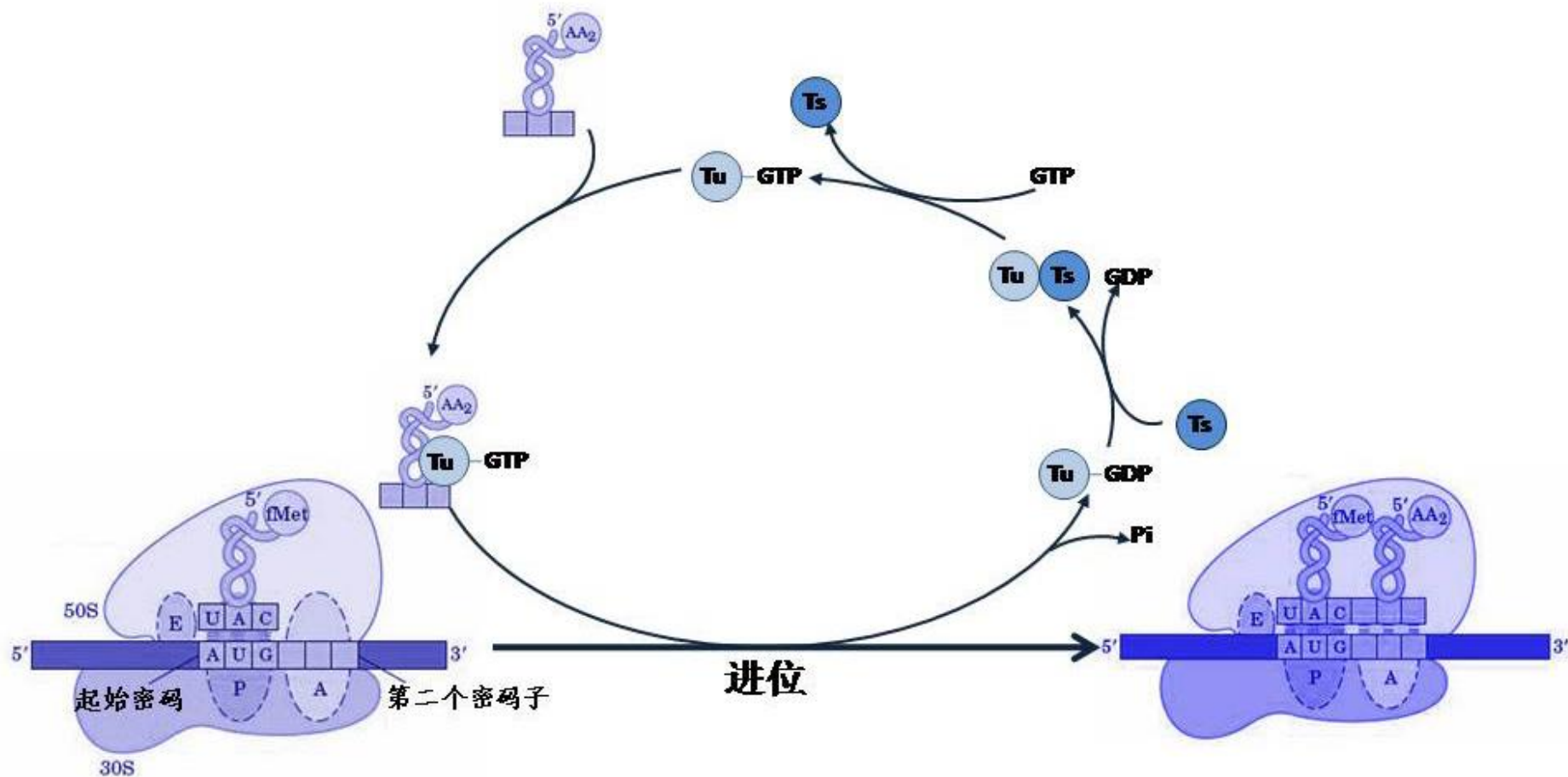
肽链延长阶段除了需要mRNA、tRNA和核糖体外，还需要延长因子（**elongation factor, EF**）以及**GTP**和某些无机离子的参与。原核生物延长因子有三种，分别称为**EFTu**、**EFTs**和**EFG**。

原核生物肽链合成的延长因子

原核 延长因子	生物功能	对应真核 延长因子
EF-Tu	促进氨基酰-tRNA进入A位， 结合分解GTP	EF-1-α
EF-Ts	调节亚基	EF-1-$\beta\gamma$
EFG	有转位酶活性，促进mRNA- 肽酰-tRNA由A位前移到P位， 促进卸载tRNA释放	EF-2

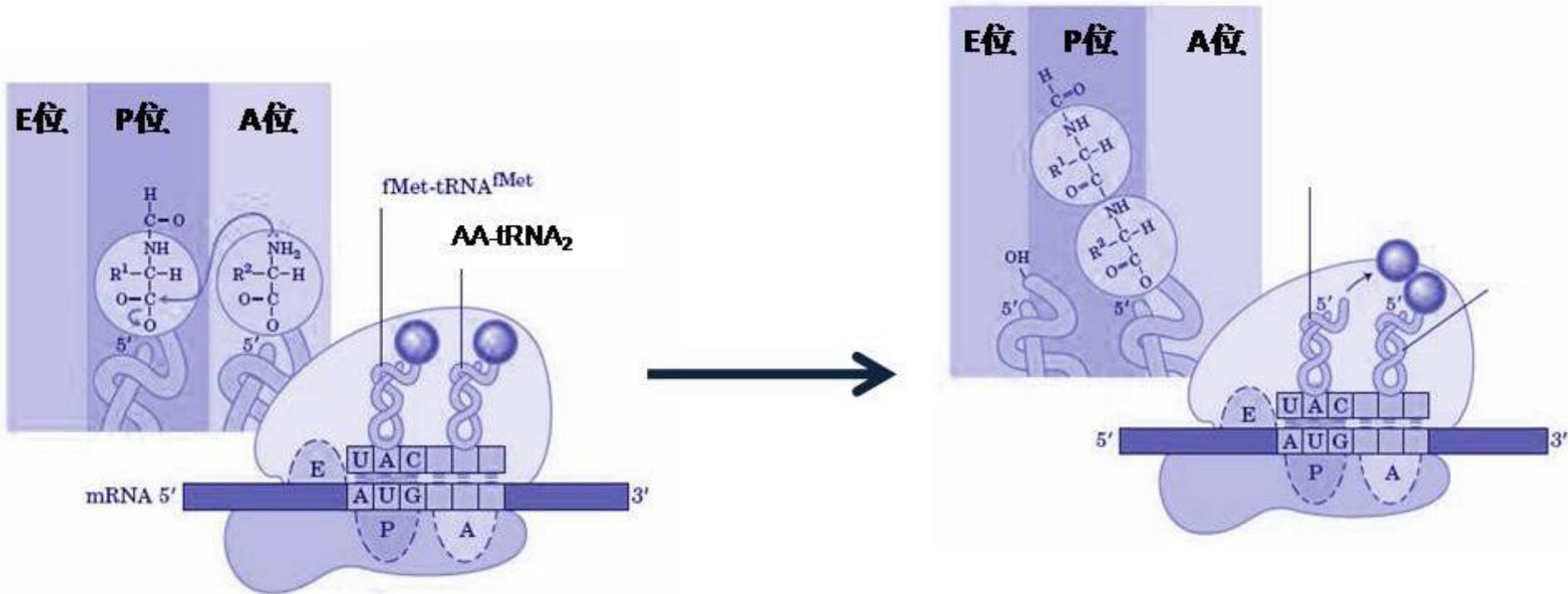
1. 进位

指根据mRNA下一组遗传密码指导，使相应氨基酸-tRNA进入核蛋白体A位。



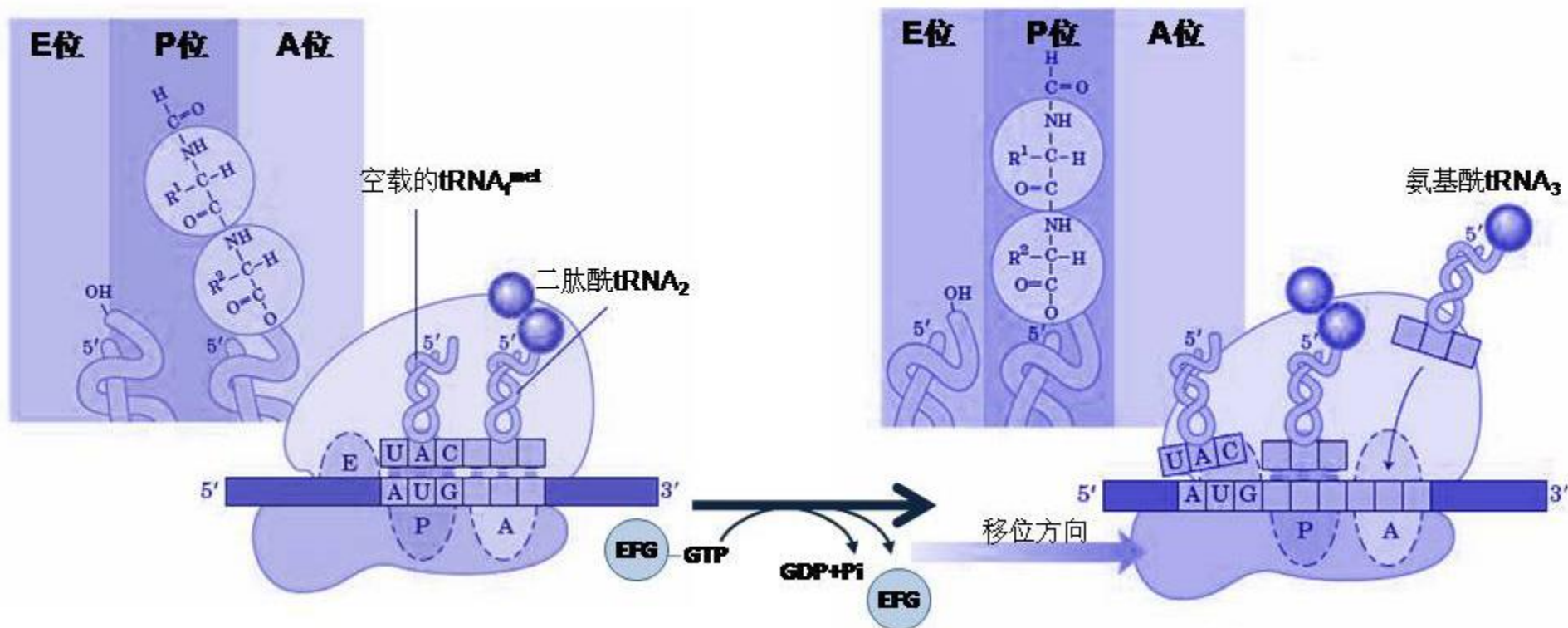
2. 成肽

是由肽酰转移酶催化的肽键形成过程。



3. 移位

在延长因子作用下，核糖体沿mRNA链向3'端移动，下一个密码子准确定位于A位点处。同时，原来处于A位点上的二肽酰tRNA转移到P位，而P位上卸载的tRNA进入E位，随后从E位脱落。



在肽链延长阶段，核糖体有**三步获能过程**：
一是转肽作用，受核糖体本身介导；
二是**EF-Tu**介导**GTP**水解为**GDP**和**Pi**；
三是由**EFG**介导的**GTP**水解。

现在认为，由**EF**介导的**二步GTP**水解的能量主要用于三个方面：

- ①在延长步骤中，加速核糖体的循环速度；
- ②增强核糖体对抑制剂的抵抗力；
- ③有利于翻译的保真性(**fidelity**)。

四、肽链合成的终止

肽链合成的终止需要释放因子的参与。

原核生物释放因子：**RF-1, RF-2, RF-3**

真核生物释放因子：**eRF**

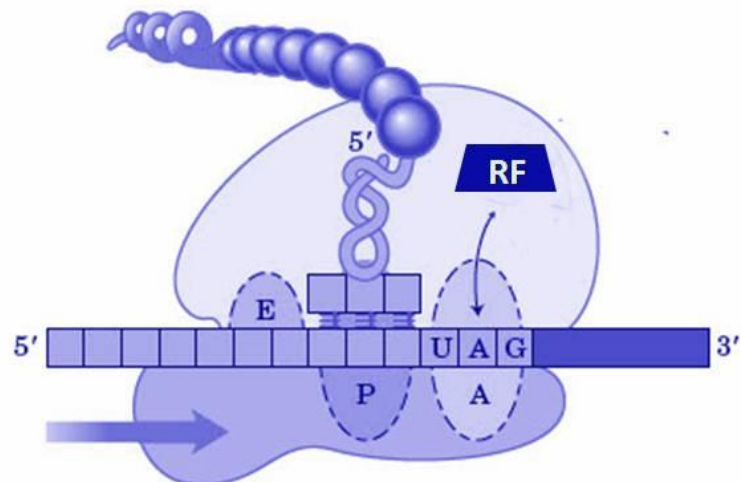
释放因子的功能

一是识别终止密码，如**RF-1**特异识别**UAA**、**UAG**；而**RF-2**可识别**UAA**、**UGA**。

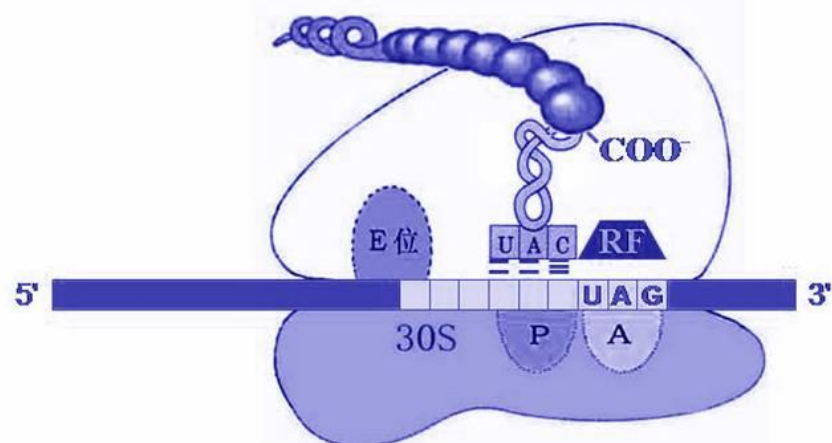
二是诱导转肽酶改变为酯酶活性，相当于催化肽酰基转移到水分子-**OH**上，使肽链从核蛋白体上释放。

终止阶段的基本过程：

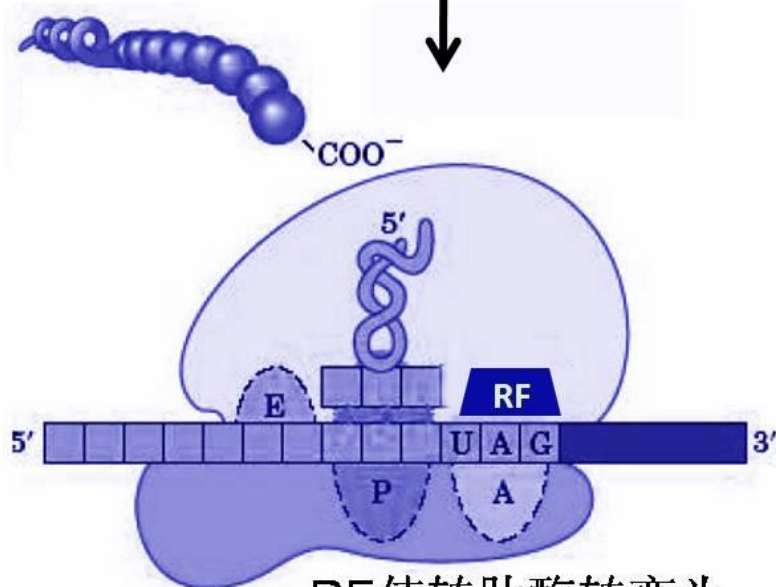
1. 在核糖体的A位出现终止密码子
UAA、UAG或UGA。**RF**识别终止密码子，
与核糖体的A位结合。



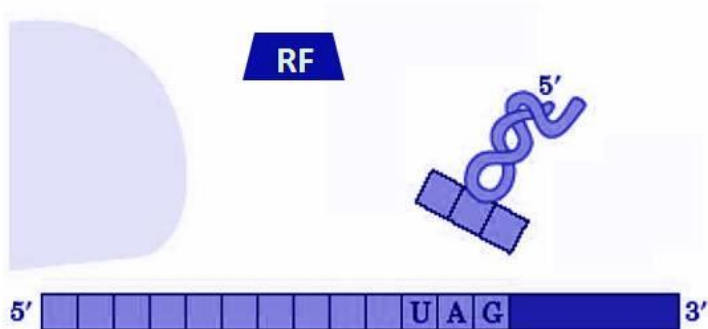
终止密码出现在A位，被RF识别



RF与A位结合



RF使转肽酶转变为酯酶，水解多肽链



大小亚基分离，tRNA和RF从mRNA脱落

2. RF使核糖体P位点上的转肽酶构象改变，转变为酯酶活性，水解多肽链与tRNA之间的酯键，多肽链从核糖体、tRNA从P位释放出来。

3. 核糖体与mRNA分离，核糖体P位上的tRNA和A位上的RF脱落。在起始因子IF3的作用下，核糖体解离为大、小亚基，重新进入核糖体循环。

五、多聚核蛋白体(polysome)

1条mRNA模板链都可附着10~100个核蛋白体，这些核蛋白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与多个核蛋白体形成的聚合物称为多聚核蛋白体(polysome)。

多聚核蛋白体的形成可以使蛋白质生物合成以高速度、高效率进行。

多肽链分子量与多核糖体上核糖体数的关系

多肽链	多肽链分子量	多核糖体上核糖体数	mRNA 分子量
珠蛋白	16 500	5~6	170 000~220 000
肌红蛋白	17 000	5~6	—
肌球蛋白轻链	17 000	5~9	—
原肌球蛋白	30 000~50 000	5~9	—
免疫球蛋白轻链	22 500	6~8	410 000
免疫球蛋白重链	55 000	16~25	700 000
肌纤蛋白	60 000~70 000	15~25	—
原胶原	100 000	30	—
β -半乳糖苷酶	135 000	50	—
肌球蛋白重链	200 000	60~80	—

五、真核生物与原核生物蛋白质合成的异同

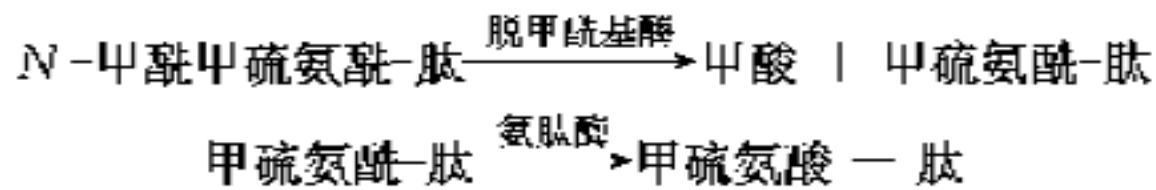
	真核生物	原核生物
遗传密码	相同	相同
翻译体系	相似	相似
转录与翻译	不偶联。转录和翻译的间隔约 15min; mRNA 前体需加工, 从细胞核运至细胞质	偶联
起始因子	多, 起始复杂	少
mRNA	需剪接, 加 5' 端“帽子”和 3' 端“尾巴”单顺反子无 SD 序列, 代谢慢, 哺乳类动物 mRNA 的典型半衰期为 4~6h	无需加工多顺反子 5' 端有 SD 序列细菌的 mRNA 半衰期仅为 1~3min
核糖体	80S	70S
起始 tRNA	Met-tRNA ^{Met}	fMet-tRNA ^{fMet}
起始阶段	需 ATP 9~10 种起始因子 eIF 小亚基先与 Met-tRNA ^{Met} 结合	需 ATP, GTP 3 种起始因子 IF 小亚基先与 mRNA 结合
延长阶段	eEFT1 移位的因子为 eEFT2 没有 E 位, 空载 tRNA 直接从 P 位脱离。	EFTu 和 EFTs 移位因子为 EFG 空载 tRNA 从 E 位释放
终止阶段	1 种 RF 识别 3 种终止密码子	3 种 RF

六、翻译后的加工

蛋白质多肽链的主要加工形式包括：

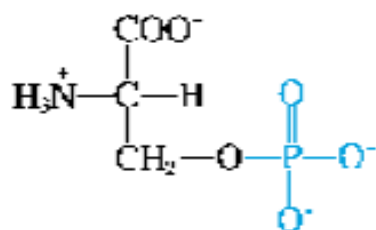
- 氨基端和羧基端的修饰
- 氨基酸侧链的化学修饰；
- 二硫键的形成；
- 蛋白质前体的剪切；
- 多蛋白质的加工；
- 蛋白质的靶向运输；
- 多肽链的正确折叠及天然构象的形成；
- 辅基结合及亚基的聚合

1. 氨基端和羧基端的修饰

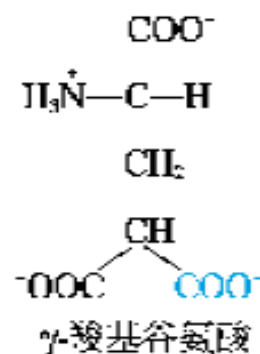
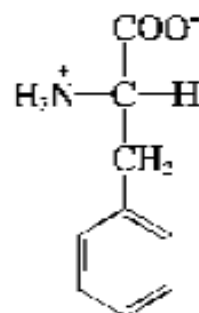


2. 氨基酸侧链的化学修饰

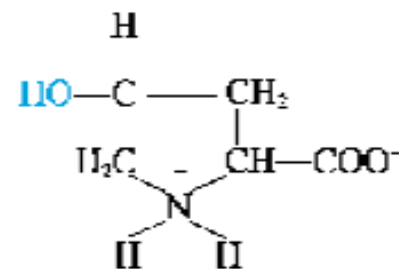
包括磷酸化、羟基化、糖基化、甲酰化等。



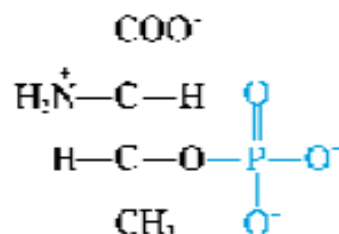
磷酸化丝氨酸



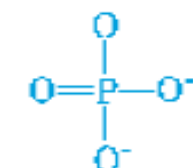
γ -羧基谷氨酸



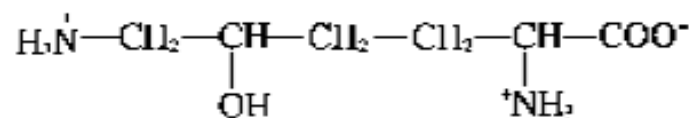
4-羟基脯氨酸



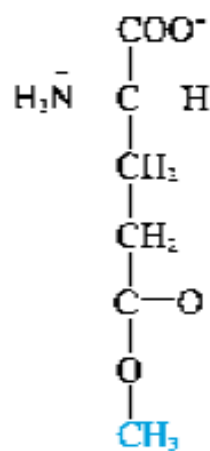
磷酸化苏氨酸



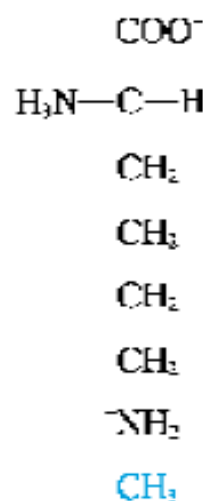
磷酸化酪氨酸



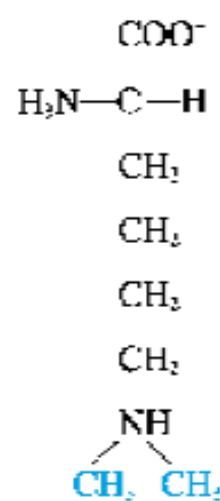
5-羟基赖氨酸



甲基化谷氨酸



甲基化赖氨酸



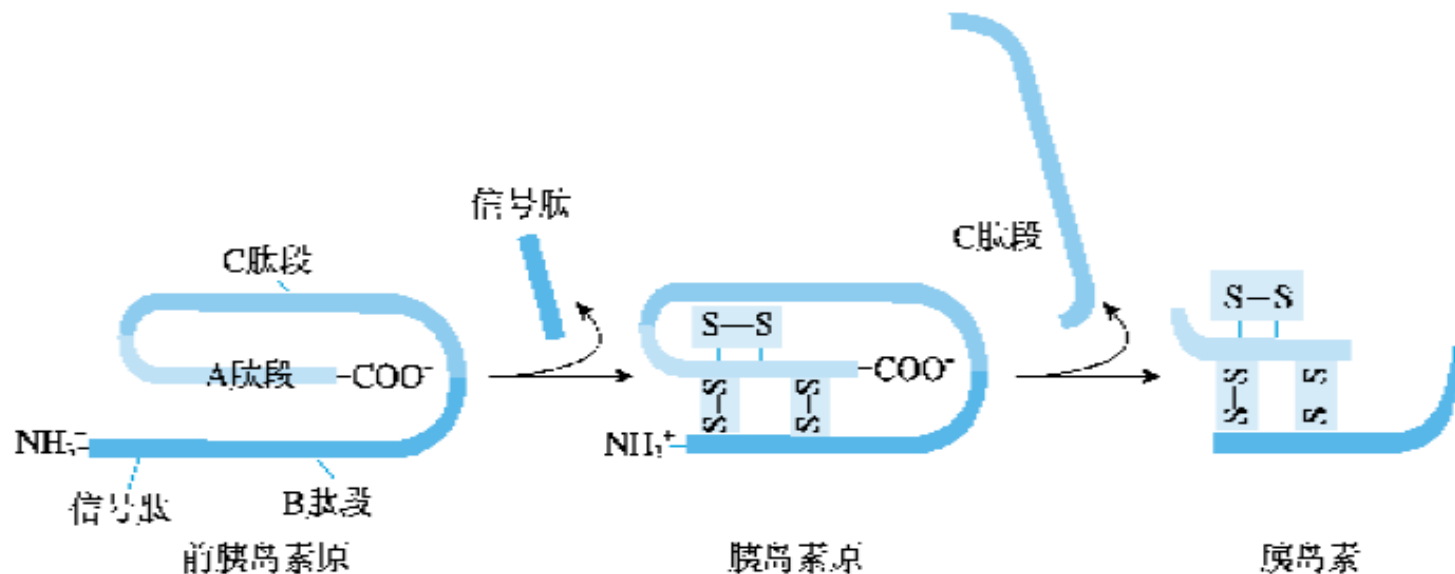
二甲基赖氨酸

3. 二硫键的形成

一些蛋白质折叠成天然构象之后，在半胱氨酸残基间形成链内或链间二硫键，在稳定蛋白质空间构象，防止蛋白质变性和逐渐氧化中起着重要作用。

4. 蛋白质前体的剪切

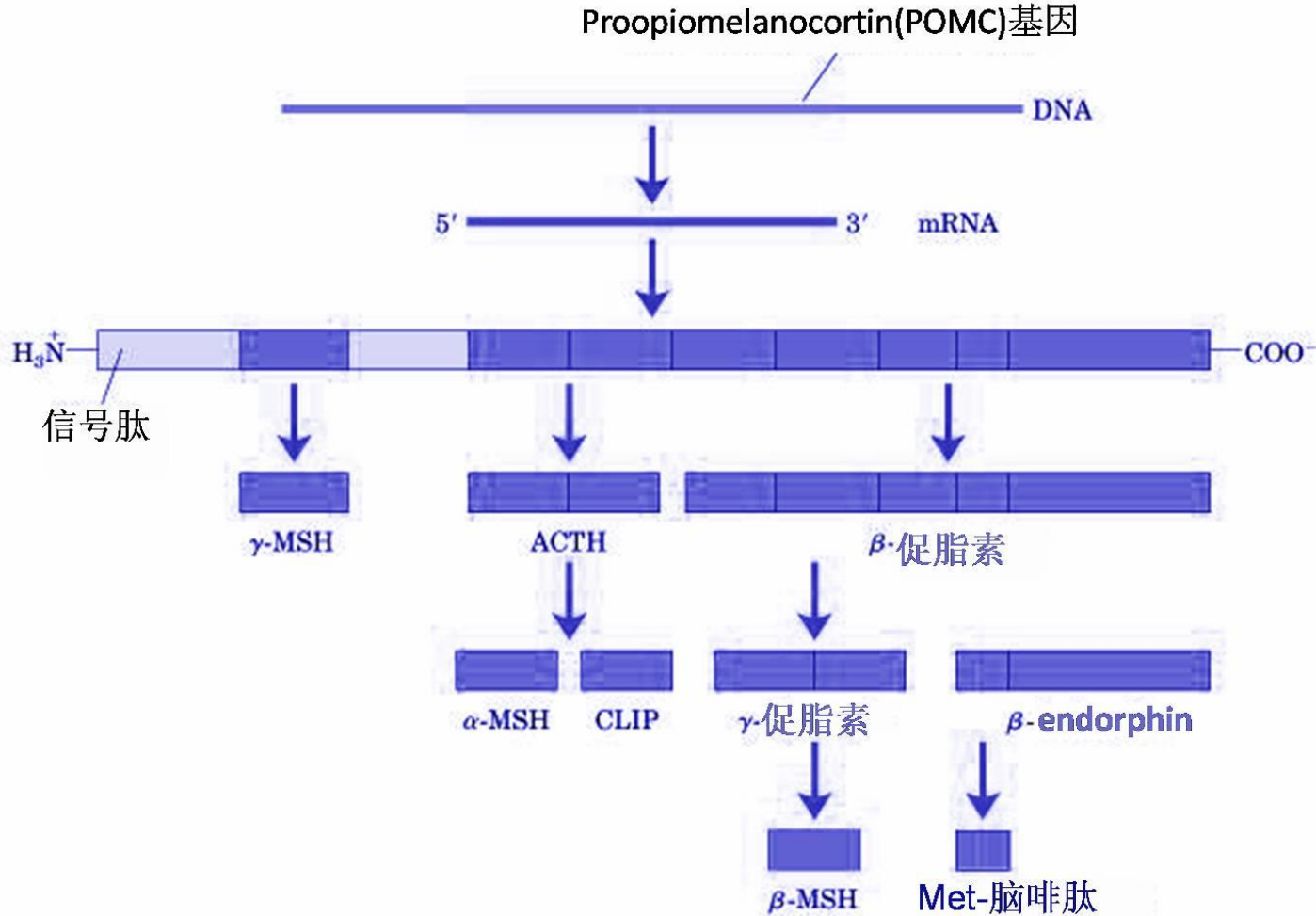
分泌蛋白合成后进入内质网腔，由内质网腔面的信号肽酶催化，切除信号肽段，并进一步在内质网和高尔基体加工。多数蛋白质由没有生物学功能的前体构象转变为有生物学功能的成熟蛋白质。



前胰岛素原的剪切加工

5. 多蛋白质的加工

有些多肽链合成后经加工可产生多种不同活性的蛋白质，如垂体产生的几种小肽激素来源于同一个大的蛋白质前体。



阿皮素原(Proopiomelanocortin, POMC)的剪切加工

6. 蛋白质的靶向运输

蛋白质合成后需要经过复杂机制，定向输送到最终发挥生物功能的细胞靶部位，这一过程称为蛋白质的靶向输送。

所有靶向输送的蛋白质在其一级结构中的N端具有特异的氨基酸序列，可引导蛋白质运送到细胞的特定部位，称为信号序列（**signal sequence**）。

靶向输送蛋白的信号序列

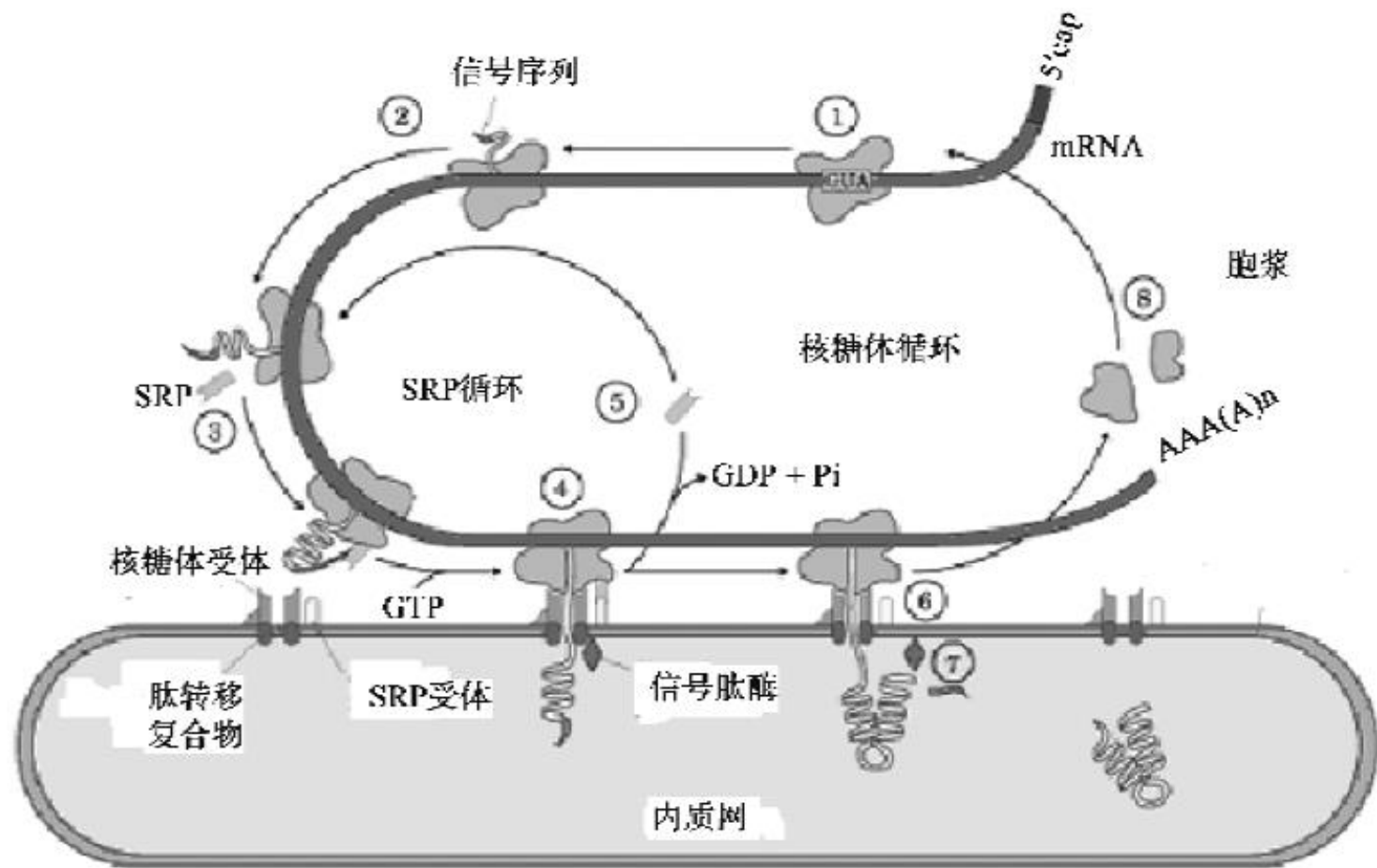
细胞器蛋白	信号序列
内质网腔蛋白	N端信号肽, C端 KDEL 序列 (-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻)
线粒体蛋白	N端 20~35 氨基酸残基
核蛋白	核定位序列 (-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-, SV40T 抗原)
过氧化物酶体蛋白	PST 序列 (-Ser-Lys-Leu-)
溶酶体蛋白	甘露糖-6-磷酸

	N端碱性区	疏水核心区	C端加工区
人生长激素	MATGSRIS	LLLATGLLCLPWL	QEGSA FPI
人胰岛素原	MALWMRL	LLPLLALLALWG	PDAAA FVN
牛白蛋白原		MKWMVTFIS	LLLFSSAYS RGV
鼠抗体H链		MKVL	SLLYLLTAIPHMS DVQ
鸡溶酶酶		MRSLLILVLC	FLPKLAALG KVF
蜜蜂蜂毒原		MKFLVNVALVF	MVVYISYIYA APE
果蝇胶蛋白		MKLLVVAVIAC	MLIGADPASG CKD
玉米蛋白19		MAAKIFCLIM	LLGLSASAATA SIF
酵母转化酶		MLLOAF	LFLLAGFAAKISA SMT
人流感病毒A		MKAKLLVLL	YAFVAG DQI

 碱性氨基酸
 疏水氨基酸
 剪切位点

信号肽的一级结构

当信号序列在核糖体中出现时，它便与信号识别颗粒（**signal recognition partical, SRP**）结合，并诱导**SRP**与**GTP**结合，防止多肽链延伸。核糖体-**SRP**复合物与内质网上的受体结合后，**SRP**分离并重新进入循环，同时伴随着**GTP**水解，蛋白质合成重新开始；新生肽链进入内质网，信号肽在信号肽酶催化下被切除，核糖体亚基与**mRNA**分离并参与再循环。

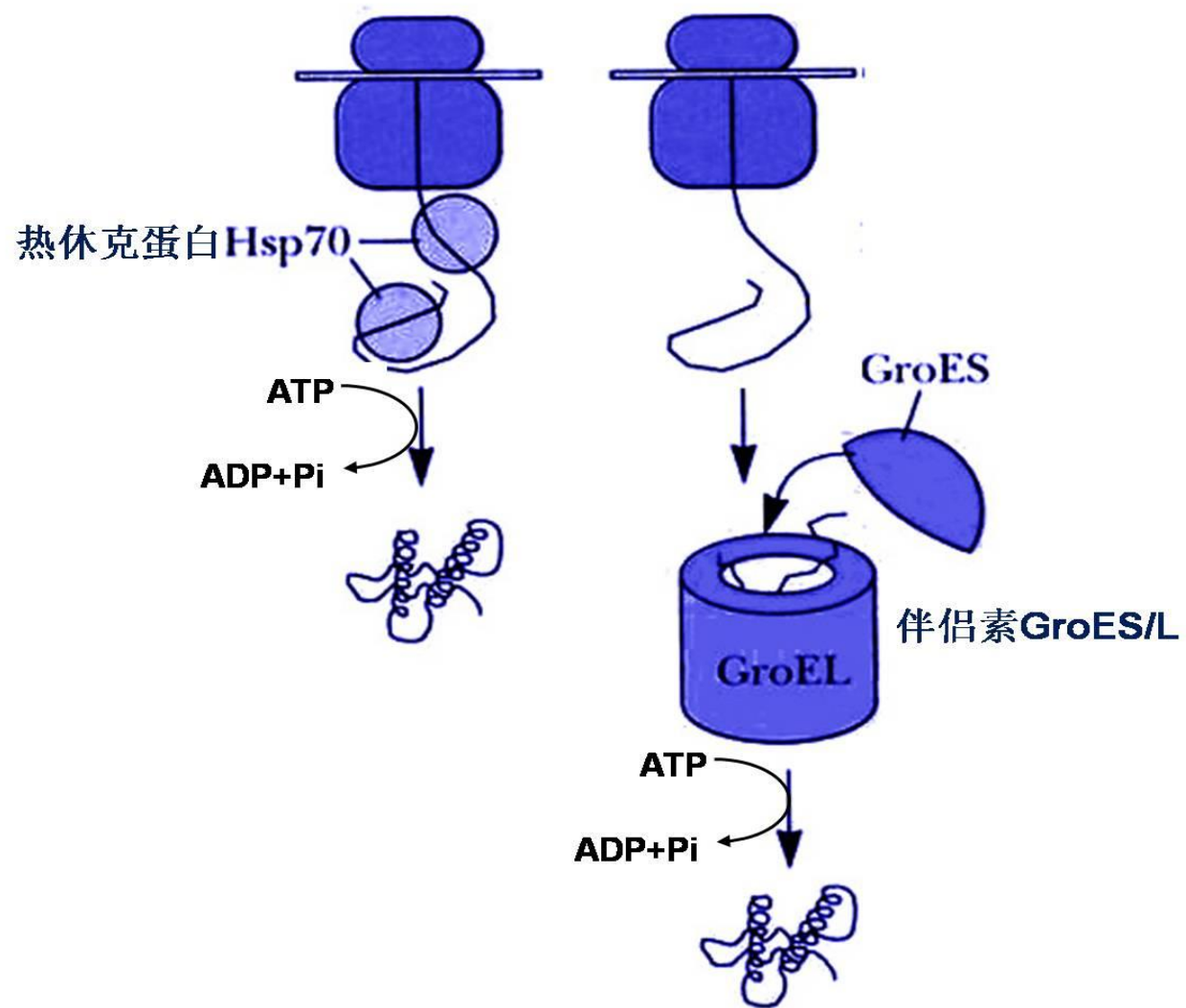


蛋白质的靶向运输

7. 多肽链的正确折叠及天然构象的形成

新生肽链只有正确折叠、形成空间构象才能实现其生物学功能。细胞中大多数天然蛋白质的折叠都不能自动完成，多肽链准确折叠和组装需要两类蛋白质：折叠酶和分子伴侣。

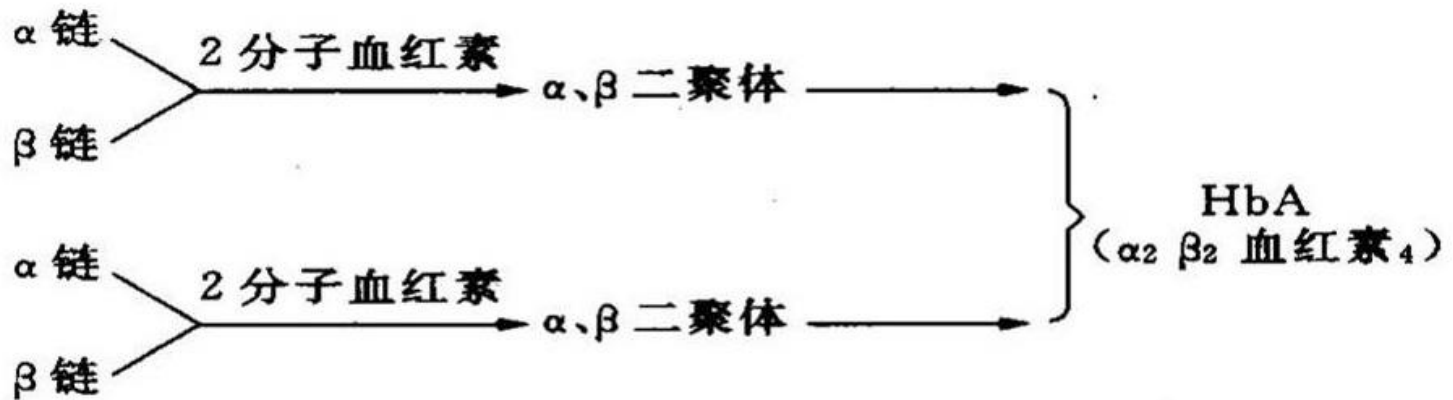
分子伴侣是蛋白质合成过程中形成空间结构的控制因子，在新生肽链的折叠和穿膜进入细胞器的转位过程中起关键作用。常见的分子伴侣包括热激蛋白和伴侣蛋白。



分子伴侣的作用机制

8. 辅基结合及亚基的聚合

结合蛋白质合成后，还需要经过一定的方式与特定的辅基结合。如成人血红蛋白。

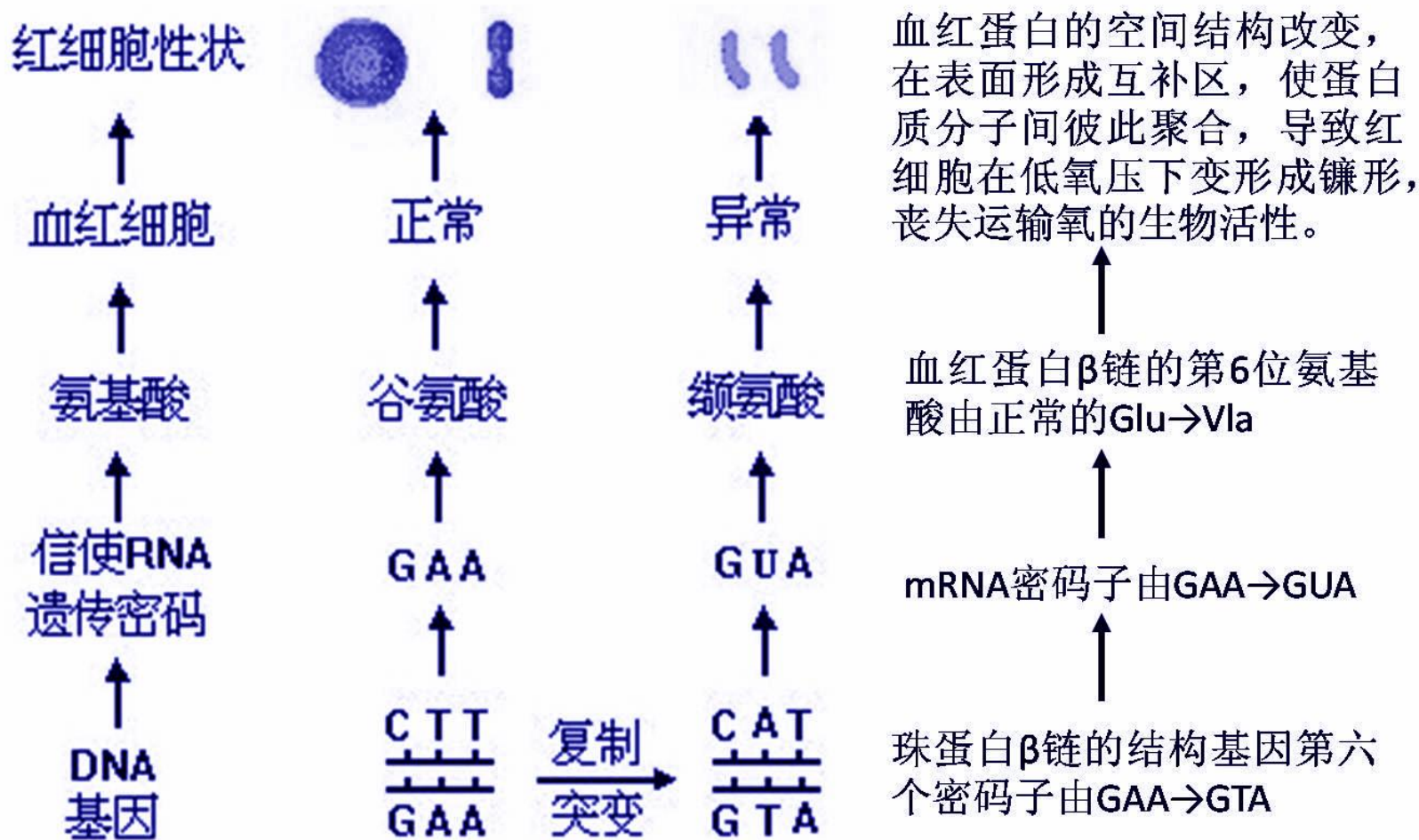


血红蛋白的辅基结合和亚基聚合过程

第三节 蛋白质合成与医学

一、分子病

是指由于基因或**DNA**分子的缺陷，致使蛋白质合成出现异常，从而导致蛋白质的功能障碍，并出现相应的临床症状的一类遗传性疾病。如镰状细胞贫血。



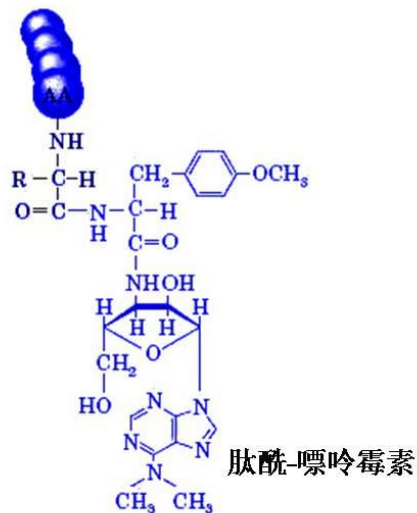
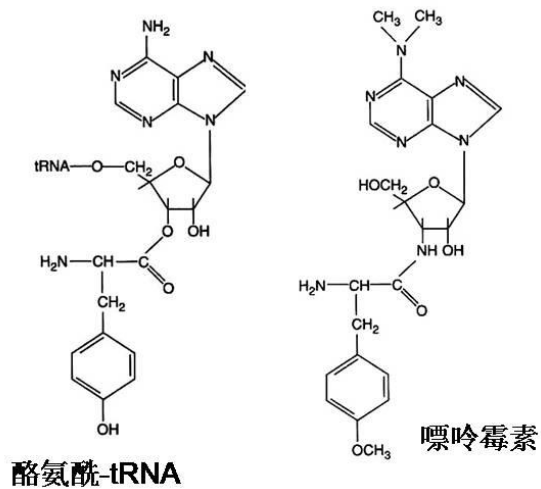
镰状细胞贫血的分子机制

二、蛋白质生物合成的阻断剂

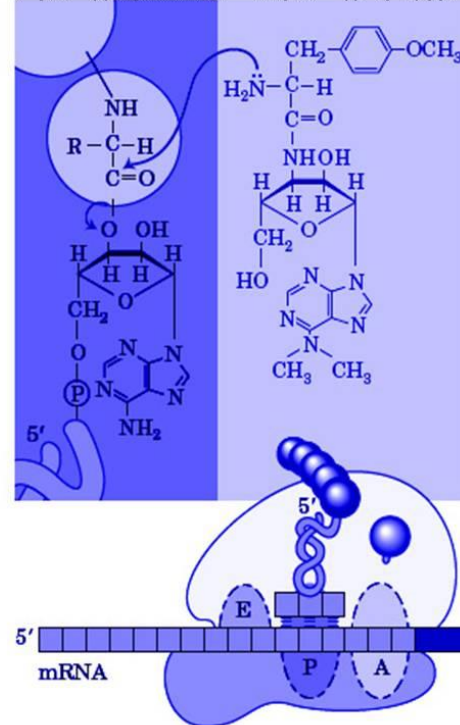
(一) 抗生素类阻断剂

抗生素抑制蛋白质生物合成的机制

抗生素	作用点	作用原理
四环素族	30S 亚基、40S 亚基	阻碍氨基酰-tRNA 与小亚基结合；易进入菌体，但不易透入哺乳类动物的细胞
链霉素、卡那霉素、新霉素	30S 亚基	抑制起始，造成误译等
氯霉素	50S 亚基	抑制转肽酶，干扰 mRNA 与核糖体结合等
红霉素	50S 亚基	抑制转肽酶，妨碍移位等
嘌呤霉素	50S 亚基、60S 亚基	使核糖体上肽链过早脱落
环己酰亚胺	60S 亚基	抑制转肽酶，妨碍肽链延长
夫西地酸 (fusidic acid)	EFG, EFT _s	妨碍肽链延长，阻止 GTP 水解后，延长因子 EFG (或 EF2) 与 GDP 的复合物由核糖体上释出



P位: 肽酰tRNA A位: 吩噻嗪素



吩噻嗪素抑制蛋白质生物合成的分子机制

（二）毒素蛋白

抑制人体蛋白质生物合成的毒素蛋白包括细菌毒素与植物毒蛋白。

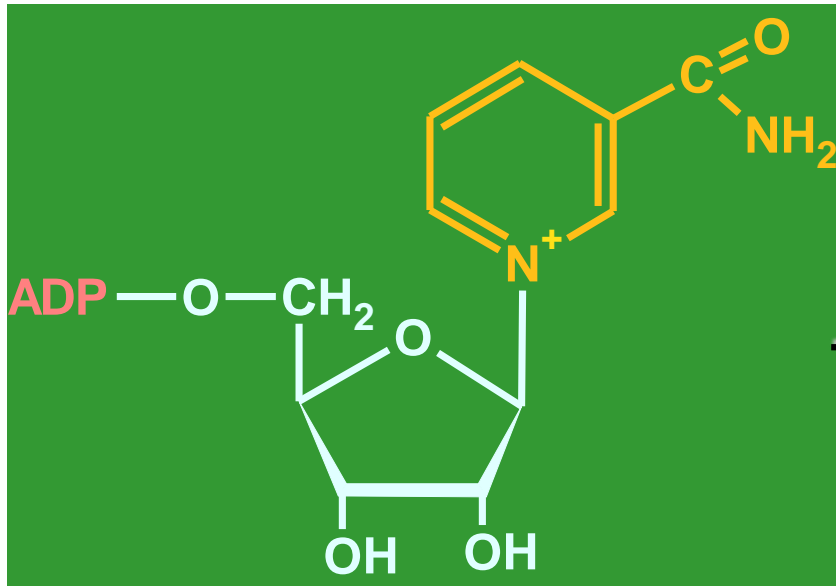
1. 细菌毒素

分两种：

外毒素（**exotoxin**），大多是蛋白质，如白喉棒状杆菌、破伤风梭菌、肉毒杆菌等分泌的毒素。

内毒素（**endotoxin**），是脂多糖和蛋白质的复合体，如赤痢杆菌、霍乱弧菌及铜绿假单胞菌等产生的毒素。

白喉毒素的作用机制

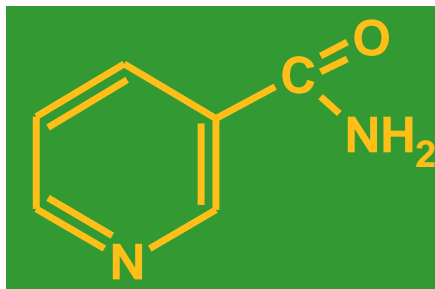


+

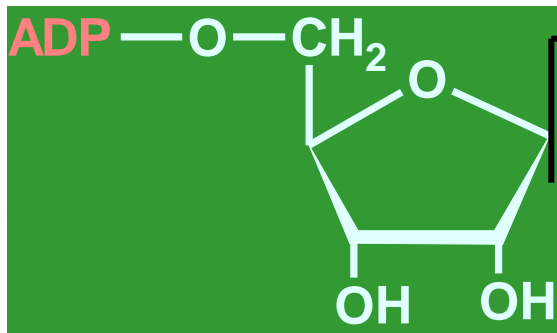
延长因子-2

(有活性)

白喉毒素



+



延长因子-2

(无活性)

2. 植物毒蛋白

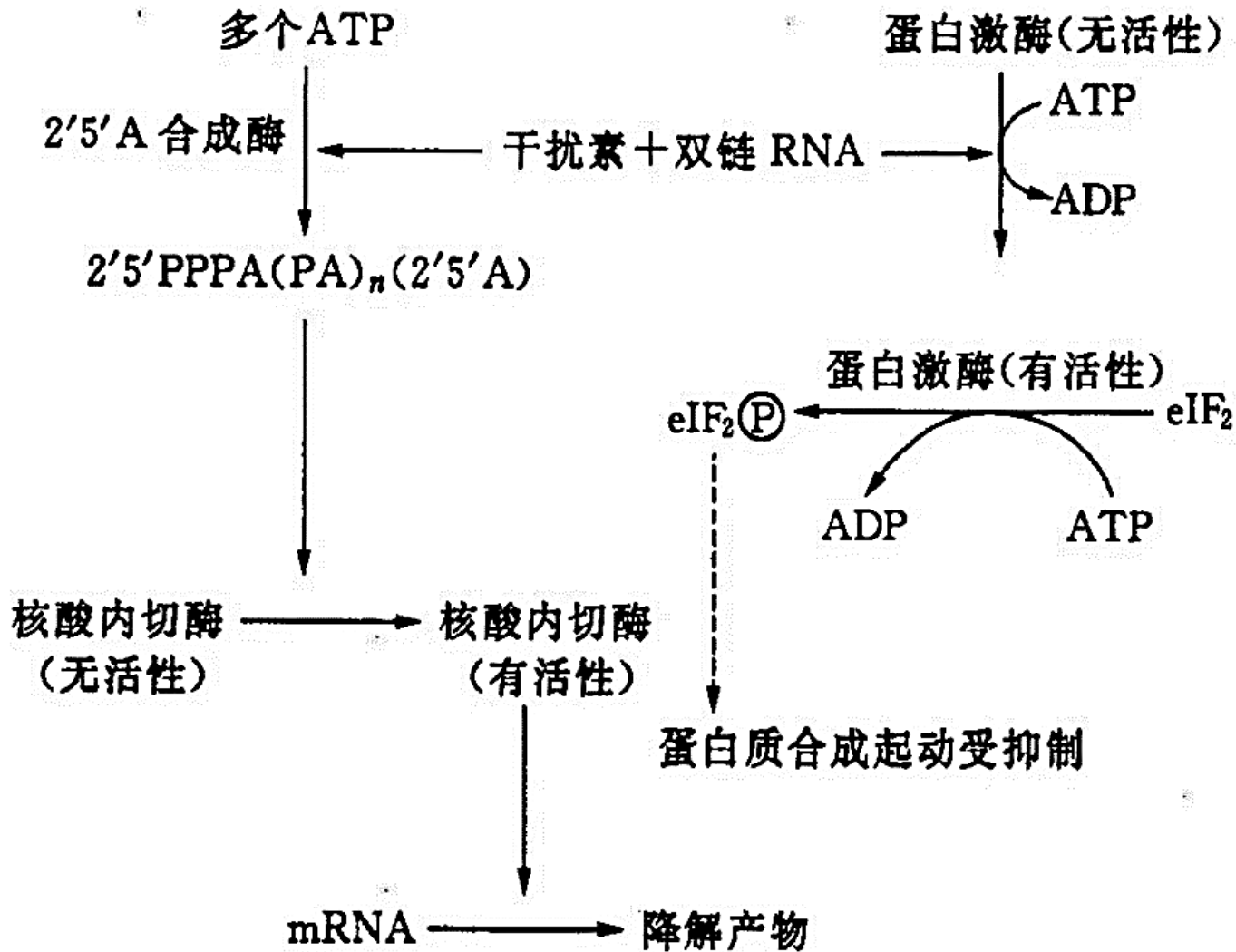
红豆碱、蓖麻蛋白等某些植物毒蛋白也是肽链延长的抑制剂。

（三）干扰素

是真核细胞感染病毒后产生的可抑制细胞内蛋白质的生物合成，一类具有抗病毒作用的特殊蛋白质，可抑制病毒繁殖，保护宿主。

其作用机制包括诱导**eIF2**磷酸化而失活，以及诱导病毒**RNA**降解两个方面。

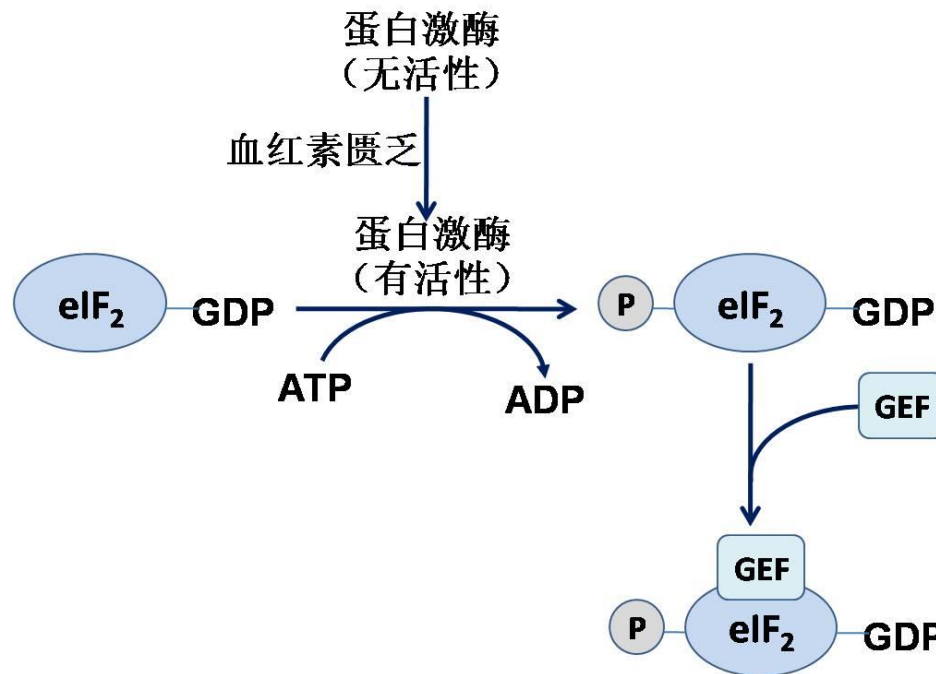
干扰素的作用机制



三、蛋白质合成障碍的相关疾病

1. 缺铁性贫血

缺铁时，血红素合成减少。血红素的不足可引起网织红细胞中蛋白质的合成障碍，其机制与磷酸化真核生物蛋白质合成的起始因子eIF2有关。



血红素匮乏抑制蛋白质合成的分子机制

2. 小儿麻痹症

小儿麻痹症因脊髓灰质炎病毒感染引起，涉及一种翻译启动因子组分的降解。

思考题

1. 解释下列名词

翻译；遗传密码；**SD**序列； 可读框；
密码的摆动性；信号肽；**SRP**

2. 在蛋白质生物合成中，各种**RNA**起什么作用？

3. 原核生物和真核生物的翻译起始复合物的生成有何异同？

4. 简述蛋白质生物合成的延长过程。