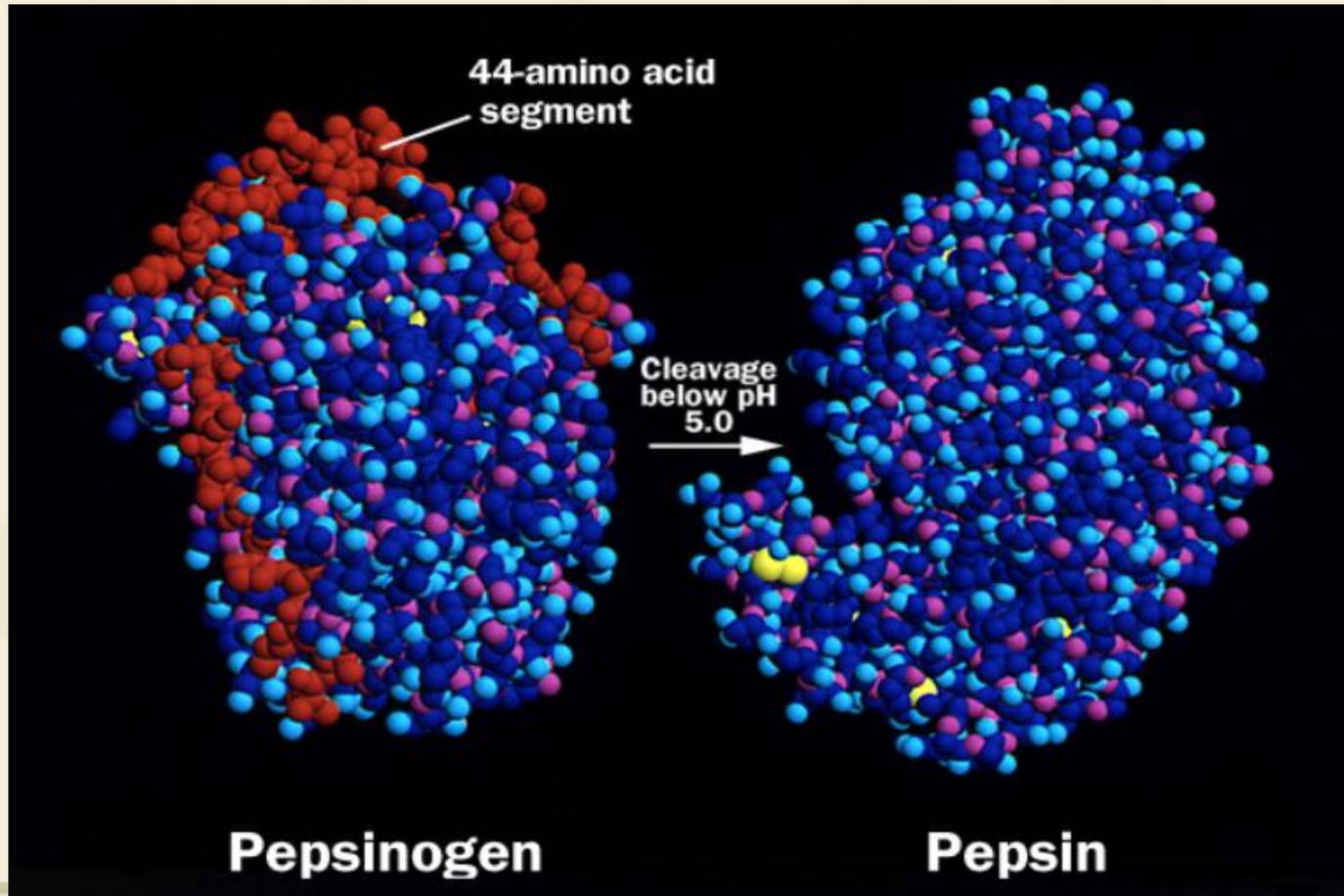


三、蛋白质合成及转运

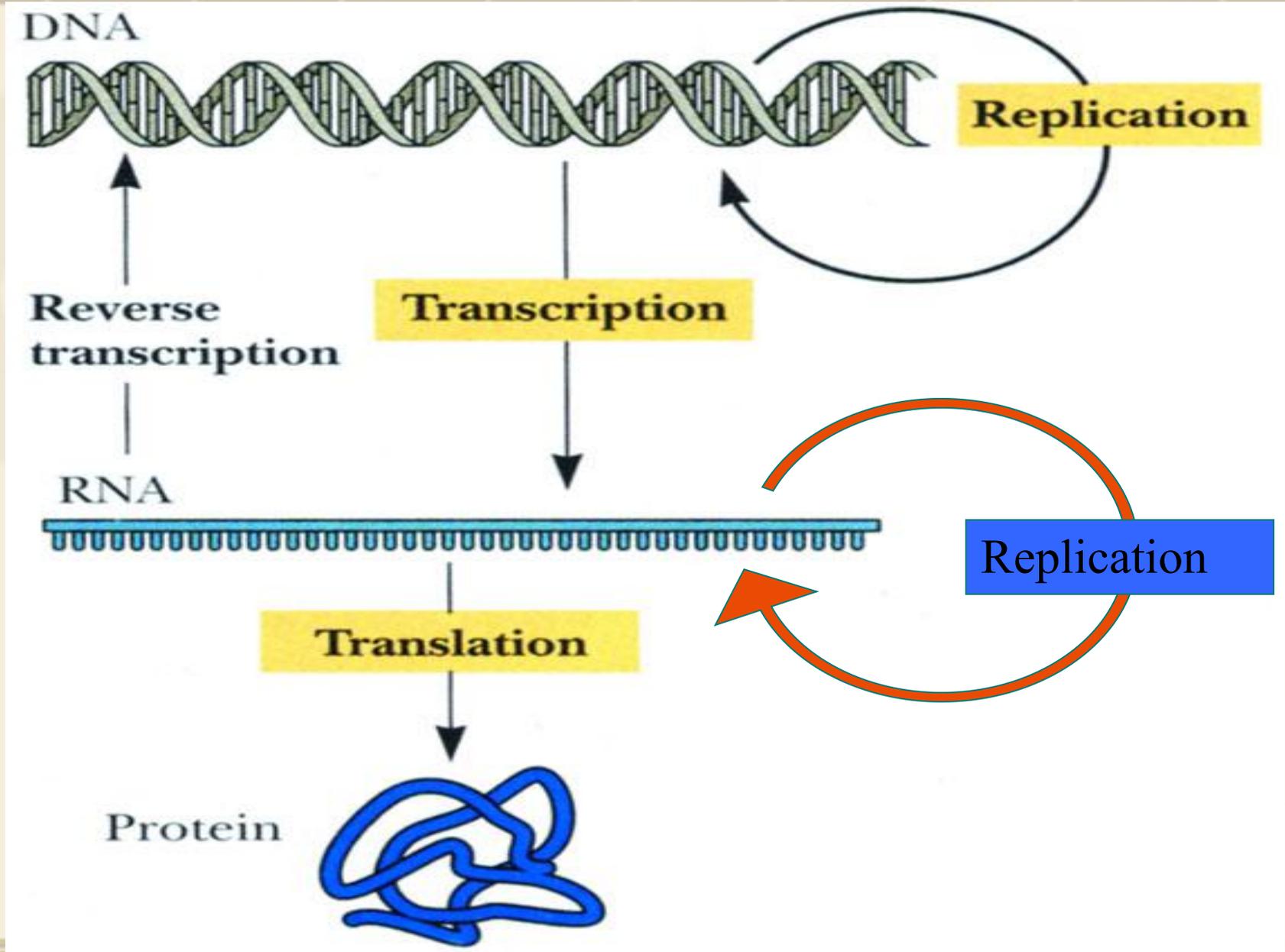


蛋白质生物合成

- ❖ 蛋白质通过什么途径合成的？其合成机理如何？上世纪50年代初有人根据酶催化反应的逆过程可以生成小的肽段事实，提出蛋白质合成的“**转肽作用**”假说，甚至在细胞内可以找出长达20肽的肽段是酶促合成的。假说提出不久，发现蛋白质合成大多数情况都与转肽作用不同。对该假说提出质疑。

- ❖ Caspersson和Brachet应用组织化学的方法研究细胞时发现，生长旺盛与分泌细胞中蛋白质合成的速度极快，而半随着RNA含量特别丰富，他们设想，蛋白质的合成是否与RNA有着某种联系。

- ❖ 直到同位素的应用后，才在蛋白质合成的研究方面有了重大突破。同时也宣告了转肽假说是错误的推断。用整体或无细胞体系为实验材料用同位素标记的方法证明了合成蛋白质的原料是氨基酸，而不是小的肽段。
- ❖ 经过几十年的研究和探索对蛋白质的生物合成已经基本搞清楚了，是由DNA上的基因通过转录到RNA分子上，再由此而翻译成各种不同的蛋白质。DNA的信息如何通过蛋白质来表达呢？



- ❖ 一、遗传密码的破译
- ❖ 二、遗传密码的基本特性
- ❖ 三、蛋白质合成的分子基础
- ❖ 四、翻译的步骤
- ❖ 五、蛋白质的运输及翻译后修饰
- ❖ 提要

一、遗传密码的破译

- ❖ 1、遗传密码的破译及密码单位的大小
- ❖ 早期的遗传学研究指出：每种氨基酸最终由DNA上少数核苷酸编码的。但要将20种氨基酸每种用核苷酸编码在当时来看是毫无希望的事。而Grunburg和Manago发现多聚核苷酸化酶给遗传密码的破译带来希望。

- ❖ M. Nirenburg首先开创了这项工作，他采用E. Coli无细胞体系，将多聚核苷酸化酶催化UDP生成一段PolyU结构。以PolyU为模板加入20种标记的氨基酸，发现合成的产物是一段PolyPhe链。其他种类的氨基酸没有掺入其中。说明PolyU是为Phe编码的。

- ❖ 用这样的方法，S. Ochoa分别用PolyA、PolyC等进行实验。证明**PolyA**是为**Lys**编码；**PolyC**是为**Pro**编码。然后用该两种不同的核苷酸聚合物做模板，PolyUG的多聚物得到**UGUGUGUGUG**的共聚物。用无细胞体系合成得到**CysVal**的重复肽链，说明PolyUG是为**Cys**和**Val**编码的。

❖ 几个核苷酸为一个氨基酸编码？核酸中只有4种核苷酸，不可能一一与氨基酸对应。1954年物理学家GamovG对密码进行了研究，认为每三个核苷酸为一个氨基酸编码，有64种组合方式完全满足20种氨基酸的编码。

- ❖ 1961年Crick的实验为三联密码提供了确切的证据。他用吖啶类染料插入噬菌体T4DNA中，如果插入一个染料分子就会引起突变，不能感染E. Coli。如果插入三个，不影响T4的活性，如果插入4个，又会引起突变。以后又有很多的实验证实了三联密码的正确性。并且实验证明了密码是有方向性的，如GUU是Val，而UUG则是为Leu编码。

- ❖ 例如烟草坏死卫星病毒含有1200核苷酸，为外壳蛋白质编码，这种蛋白质亚基约有400氨基酸残基。根据这样的实验，经过5年的努力终于搞清了全部密码子，并且变成密码字典。密码的破译为遗传学的研究开拓了里程碑性的进展。因此，Nirenburg等人获得了诺贝尔奖。

| | | Second base | | | | |
|------------------------|-----|-----------------|---------|-----------------|-----------------|------------------|
| | | U | C | A | G | |
| U | U | UUU | UCU | UAU | UGU | U C A G |
| | | Phe | Ser | Tyr | Cys | |
| | | UUC | | UAC | | |
| | | UUA | UCA | UAA Stop | UGA Stop | |
| Leu | UCG | UAG Stop | UGG Trp | | | |
| C | C | CUU | CCU | CAU | CGU | U C A G |
| | | Leu | Pro | His | Arg | |
| | | | | CUC | | |
| | | CUA | CCA | CAA | CGA | |
| CUG | CCG | CAG | CGG | | | |
| A | A | AUU | ACU | AAU | AGU | U C A G |
| | | Ile | Thr | Asn | Ser | |
| | | | | AUC | | |
| | | AUA | ACA | AAA | AGA | |
| AUG Met / Start | ACG | AAG | AGG | | | |
| G | G | GUU | GCU | GAU | GGU | U C A G |
| | | Val | Ala | Asp | Gly | |
| | | | | GUC | | |
| | | GUA | GCA | GAA | GGA | |
| GUG | GCG | GAG | GGG | | | |

二、遗传密码的基本特性

- ❖ (一) 密码的基本单位
- ❖ (二) 密码的简并性
- ❖ (三) 密码的变偶性
- ❖ (四) 密码的通用性和变异性
- ❖ (五) 密码的防错系统

（一）密码的基本单位

- ❖ 密码子在核酸分子上，基本单位是按5'—3'方向编码，不重叠、无标点的三联密码子。每种氨基酸都有对应的密码子，AUG是甲硫氨酸兼起始密码子；UAA、UAG、UGA是终止密码子。其余61个密码子对应20种氨基酸。要正确读码，就要从起始密码开始，种间若插入或却是一个碱基就会发生读码错位，称为移码突变。

（二）密码的简并性

- ❖ 一共有64个三联体密码子，除了三个终止密码子外，余下61个密码子编码20种氨基酸，所以许多氨基酸的密码子不只一个。同一种氨基酸有两个或更多密码子的现象称为密码子的简并性（degeneracy）。密码的简并性对生物的稳定性的具有重要的生物学意义，它可以减少有害突变。

表 37-6 氨基酸密码子的简并

| 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 |

三、蛋白质合成的分子基础

- (一) mRNA是蛋白质合成的模板
- (二) tRNA转运活化的氨基酸至mRNA模板上
- (三) 核糖体是蛋白质合成的工厂

蛋白质生物合成

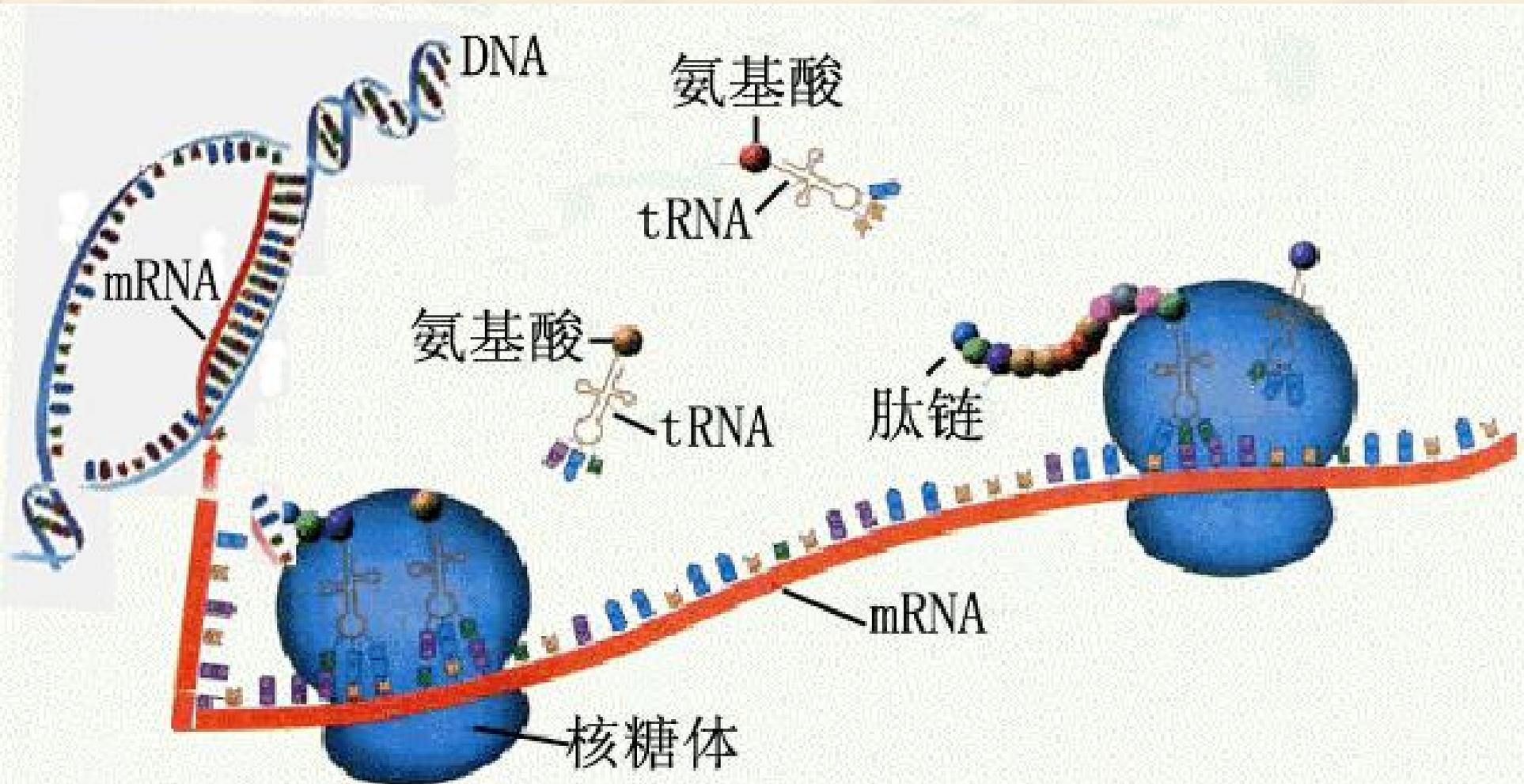




Figure 13-13

Translation in action. These ribosomes are reading along an mRNA molecule of the fly *Chironomus tentans* from left to right, assembling polypeptides that dangle behind them like the tail of a tadpole. Clearly visible are the two subunits (*arrows*) of each ribosome translating the mRNA.

（一）mRNA是蛋白质合成的模板

- ❖ 1961年Jacob F和Monod J提出mRNA的概念。他们认为，蛋白质是在细胞质中合成的，而编码蛋白质的信息载体DNA却在细胞核内，所以必定有一种中间物质用来传递DNA上的信息。这种信息传递物应该具有以下特性：

- ❖ ①信使是一种多核苷酸。
- ❖ ②信使的碱基组成应与相应的DNA的碱基组成相一致。
- ❖ ③信使的长度应是不同的，因为由它们所编码的多肽链的长度是不同的。
- ❖ ④在多肽合成时信使应与核糖体作短暂的结合。
- ❖ ⑤信使的半寿期很短，所以信使的合成速度应该是很快的。

- ❖ mRNA以核苷酸序列的方式携带遗传信息，通过这些信息来指导合成多肽链中的氨基酸的序列。每一个氨基酸可通过mRNA上3个核苷酸序列组成的遗传密码来决定，这些密码以连续的方式连接，组成读码框架（reading frame）。读码框架之外的序列称作非编码区，这些区域通常与遗传信息的表达调控有关。

- ❖ 在读码框架的5' 端，是由起始密码AUG开始的，它编码一个蛋氨酸。在读码框架的3' 端，含有一个或一个以上的终止密码：UAA。UAG和UGA，其功能是终止这一多肽链的合成。

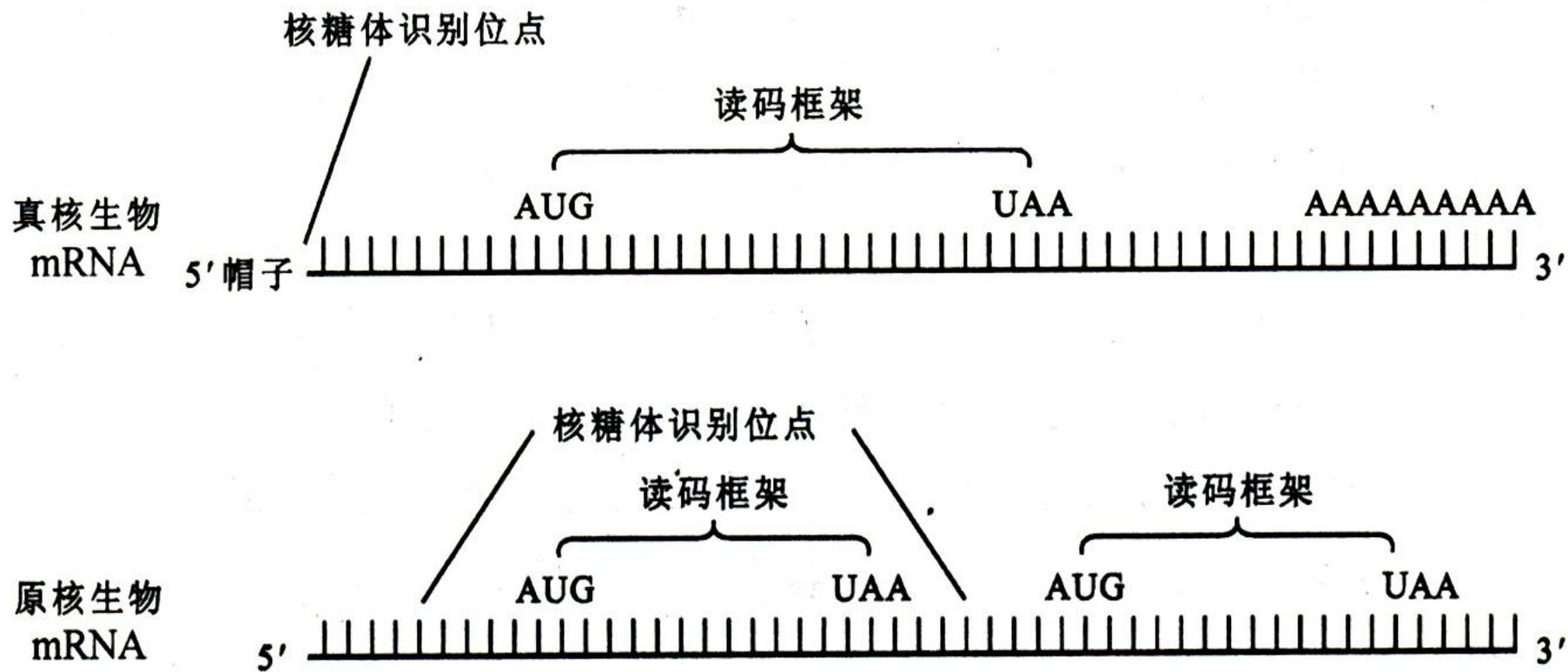


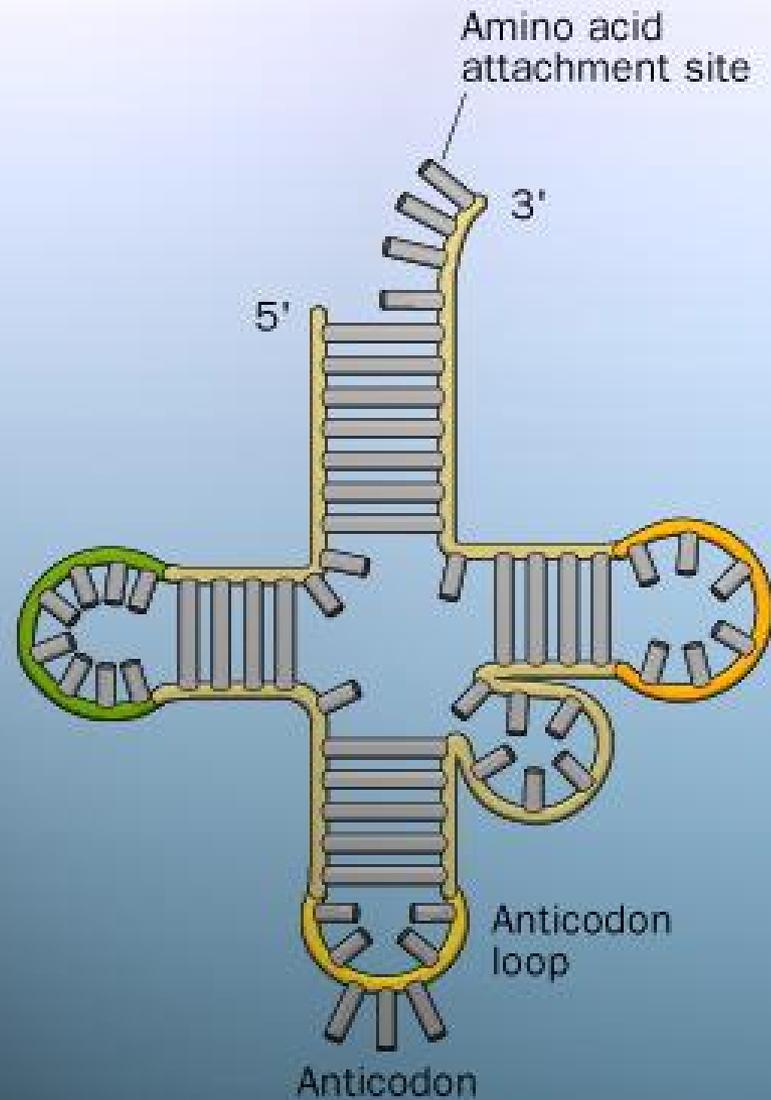
图 38 - 4 真核生物及原核生物 mRNA 结构简图

（二）tRNA转运活化的氨基酸至 mRNA模板上

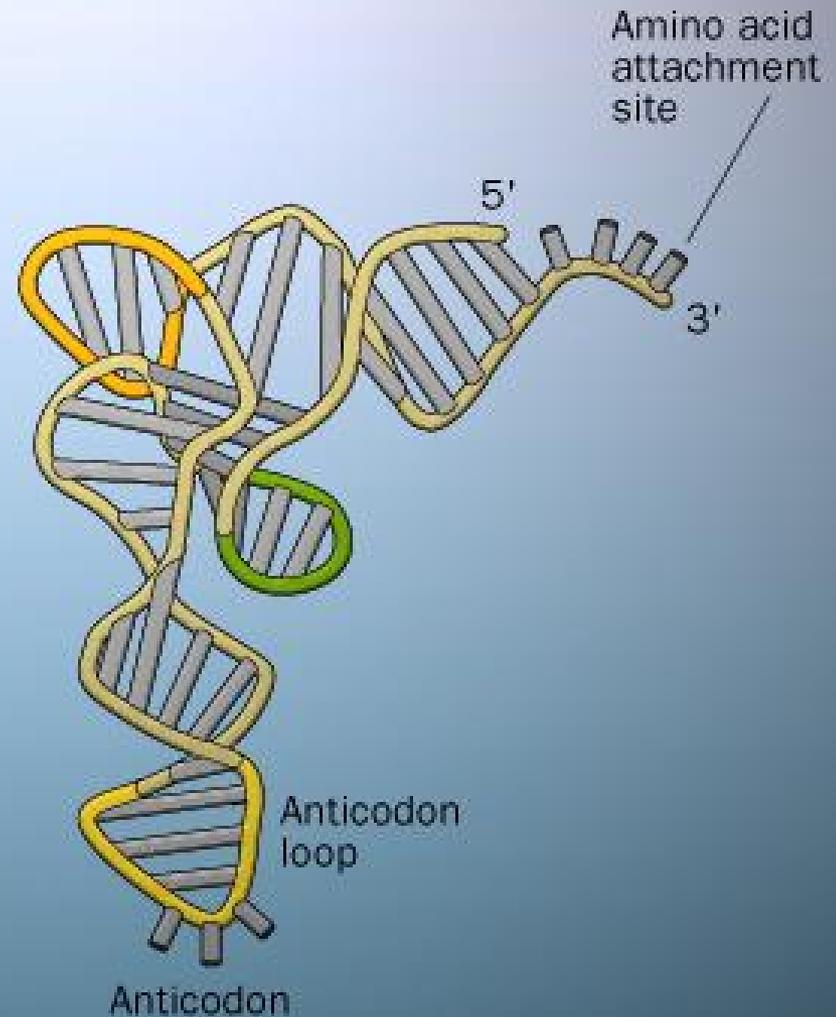
❖ tRNA含有两个关键部位：

一个是氨基酸结合部位称接受臂（acceptor arm）；
另一个是与mRNA的结合部位。含有反密码子，被称作反密码子臂（anticodon arm）。

tRNA ("cloverleaf" model)



tRNA (folded model)



（三）核糖体是蛋白质合成的工厂

- ❖ 1、核糖体是合成蛋白质的部位：
- ❖ 早在1950年就有人将放射性同位素标记的氨基酸注射到小鼠体内，经短一段时间后，取出肝脏，制成匀浆，离心，分成核、线粒体、微粒体及上清等组分。发现微粒体中的放射性强度最高。再用去污剂，如脱氧胆酸，处理微粒体，将核糖体从内质网中分离出来，发现核糖体的放射强度比微粒体的要高7倍。这就说明核糖体是合成蛋白质的部位。

- ❖ 核糖体是一个巨大的核糖核蛋白体。在原核细胞中，它可以游离形式存在，也可以与mRNA结合形成串状的多核糖体。平均每个细胞约有2000个核糖体。真核细胞中的核糖体既可游离存在，也可以与细胞内质网相结合，形成粗面内质网。

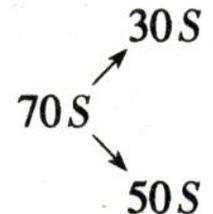
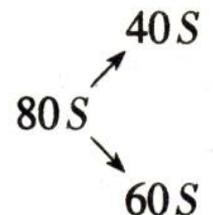
❖ 2、核糖体的结构与组成：

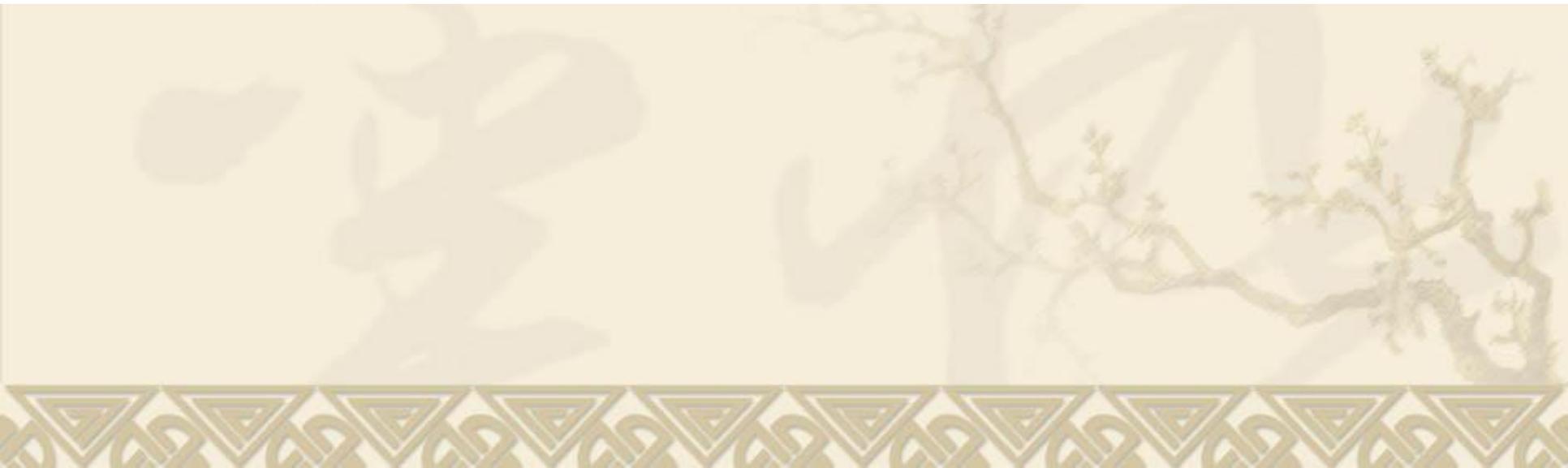
- ❖ 核糖体由两个亚基构成，一个较大，一个较小。

原核细胞核糖体的30S亚基含有21种蛋白质，还含有一分子16SrRNA。50S亚基中含34种蛋白及5S，23SrRNA各一分子。

- ❖ 真核细胞核糖体的40S亚基中有30多种蛋白质及一分子18S rRNA。60S亚基中有50多种蛋白质及5S, 28S rRNA各一分子。
- ❖ 哺乳类核糖体的60S大亚基中还有一分子5.8 S rRNA。

表 38-1 核糖体的结构组成

| 核糖体种类 | 亚基 | rRNA(相对分子质量) | 蛋白质分子数目 |
|----------------------|---|---|---|
| 原核细胞核糖体 (以大肠杆菌为例) |  <p>70S splits into 30S and 50S.</p> | <p>16S(5.5×10^5)</p> <p>{ 5S(0.4×10^5)</p> <p> 23S(110×10^5)</p> | <p>21</p> <p>34</p> |
| 真核细胞核糖体 |  <p>80S splits into 40S and 60S.</p> | <p>18S($\sim 70 \times 10^5$)</p> <p>{ 5S(0.4×10^5)</p> <p> 28 ~ 29S($140 \sim 180 \times 10^5$)</p> | <p>~ 30</p> <p>~ 50</p> |

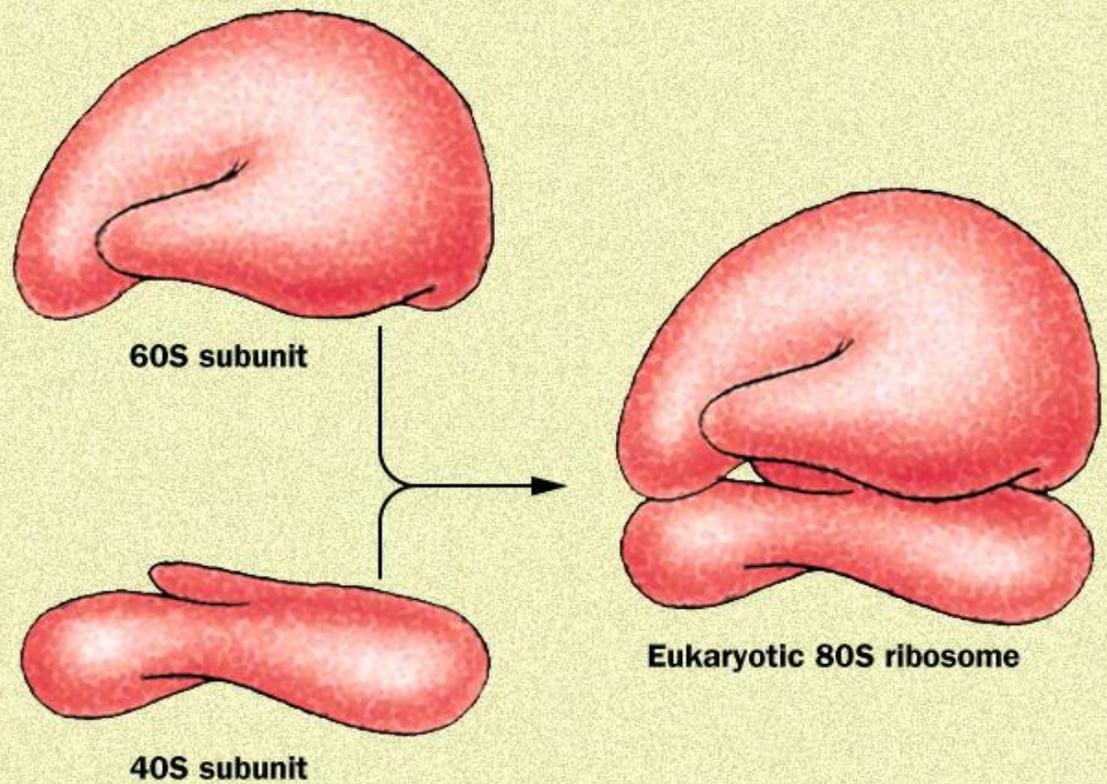


❖ 4、核糖体的形状和功能：

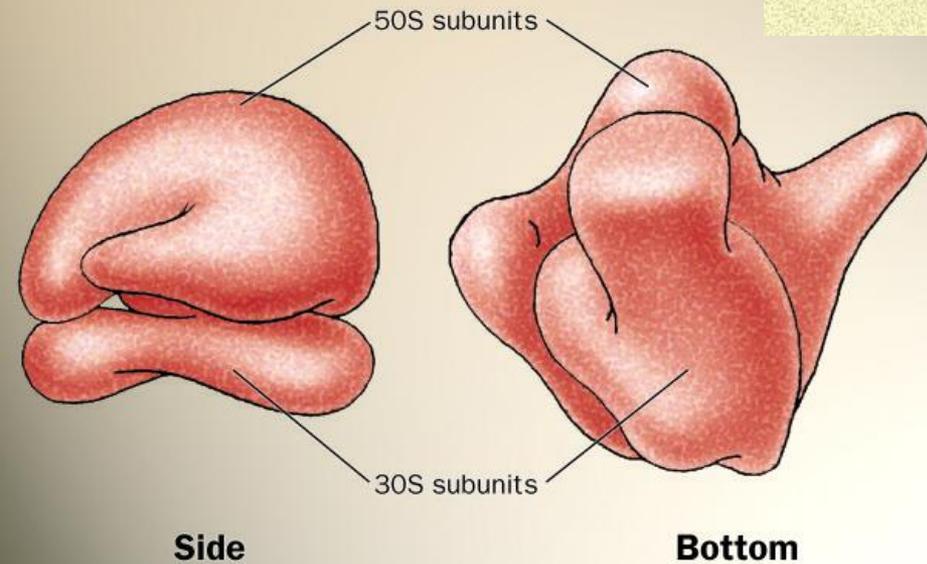
❖ 1) 形状模型

- ❖ 光学镜下，核糖体是近圆形颗粒，在电镜下观察到的核糖体后提出一个模型。
- ❖ 当30S与50S亚基互相结合成70S核糖体时，30S亚基水平地与50S亚基相结合，腹面与50S亚基之空穴相抱，它的头部与50S亚基中含蛋白质较多的一侧相结合。两亚基接合面上留有相当大的空隙。蛋白质生物合成可能就在这空隙中进行。

70 S核糖体为一椭圆球体30S亚基之外形好像一个动物的胚胎样子，长轴上有一凹下去的颈部，将30S亚基分成头部与躯干两部分。



RIBOSOME



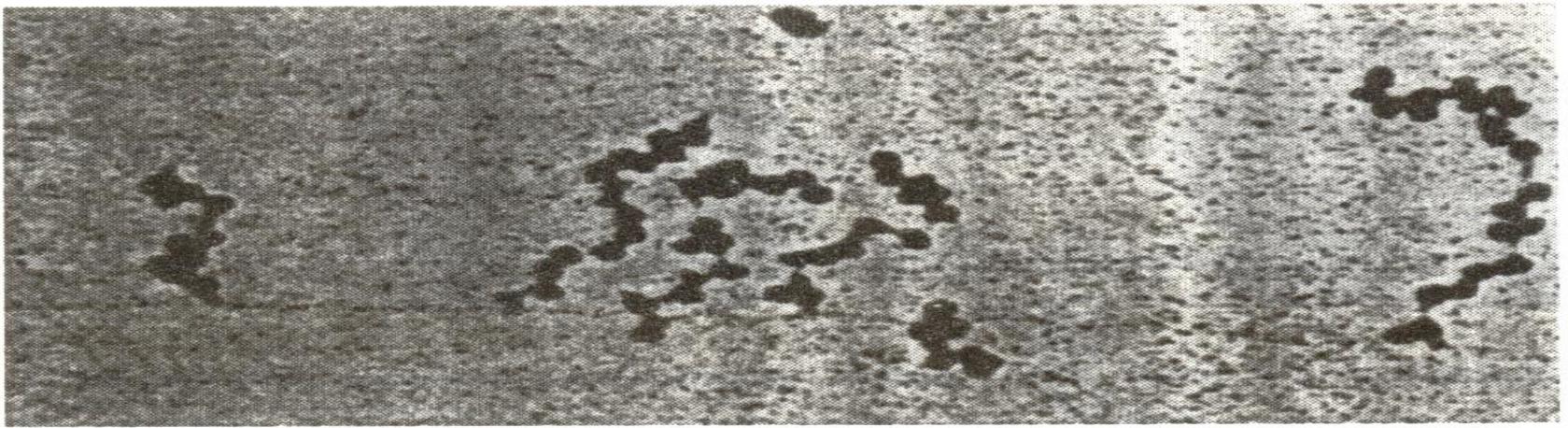
50S亚基之外形很特别，好像一把特殊的椅子，三边带有突起，中间凹下去的部位有一个很大的空穴。

❖ 功能：30S亚基能单独与mRNA结合形成30S-mRNA复合体。50S亚基不能单独与mRNA结合，但可以非专一和tRNA结合。

- ❖ 50 S亚基上有两个tRNA位点：氨基酸位点（A位点）与肽酰基位点（P位点）。
- ❖ 这两个位点的位置可能是在50S亚基与30S亚基相结合的表面上。
- ❖ 在50 S与30S亚基的接触面上有一个结合mRNA的位点。

❖ 5、多核糖体

- ❖ 多核糖体（polyribosome）是由一个mRNA分子与一定数目的单个核糖体结合而成的，形成念珠状。两个核糖体之间，有一段裸露的mRNA。每个核糖体可以独立完成一条肽链的合成。所以在多核糖体上可以同时进行好多条多肽链的合成。这样就提高了翻译的效率。



A

连有多个核糖体的 mRNA

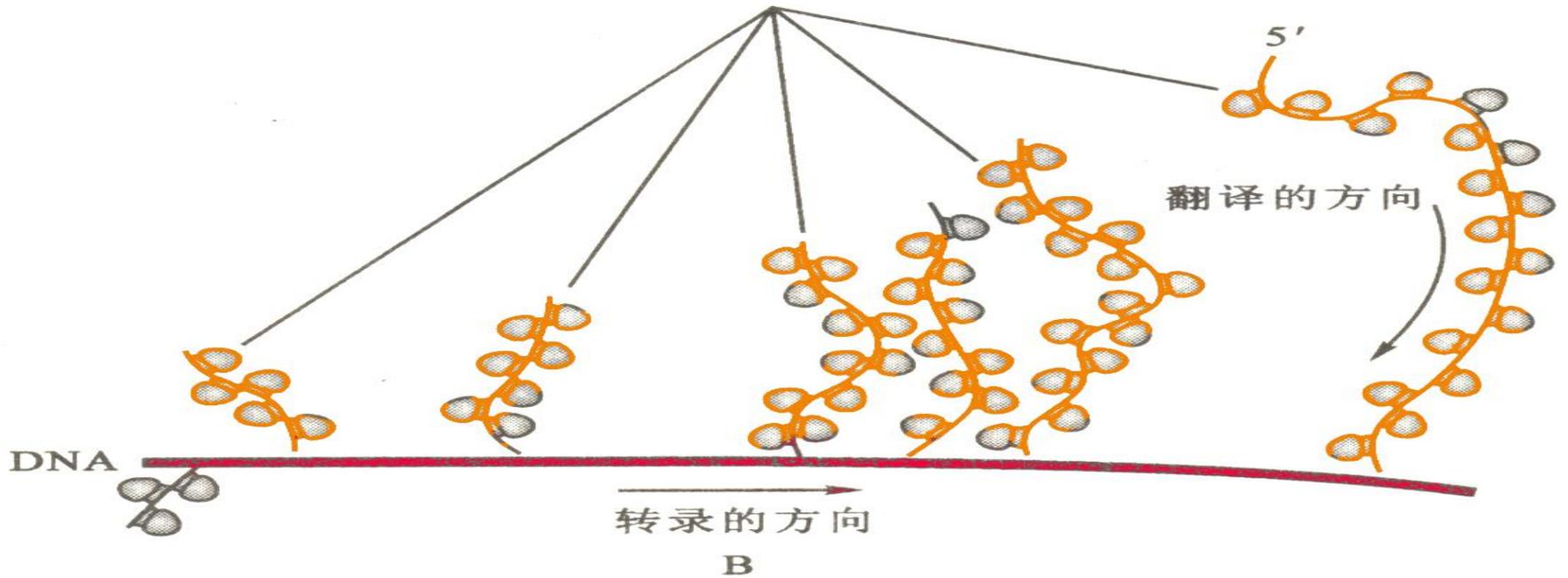


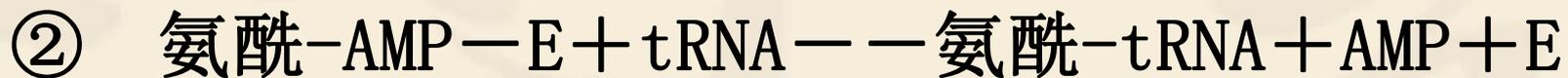
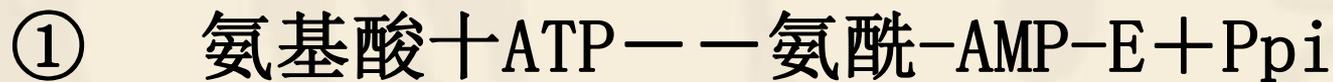
图 38 - 2 大肠杆菌中 mRNA 的转录与多肽的翻译是同时进行的
A. 为多聚核糖体的电镜照片

四、翻译的步骤

- 1、多肽链的合成是从N端向C端进行的。
- 2、肽链延长的速度极快。大肠杆菌具有更高的速度，一个核糖体每秒钟可延伸20个氨基酸。
- 3、mRNA上信息的阅读（翻译）是从 mRNA的5'端向3'端进行的。

(一) 氨基酸的活化

❖ 在氨酰-tRNA合成酶催化下，将氨基酸结合到特定的tRNA上。有两步反应，需Mg⁺：



反应平衡常数为1，但随着PP_i被焦磷酸酶水解成两个自由磷酸分子，反应趋向于产物。

(二) 蛋白质的合成的起始tRNA

- ❖ 所有蛋白质合成开始于甲硫氨酸，它与tRNA合成甲硫氨酰-tRNA (Met-tRNA)，作为蛋白质翻译的起始。
- ❖ 原核生物蛋白质合成的起始是经过甲酰化的甲硫氨酸。甲酰甲硫氨酰-tRNA (fMet-tRNA) 作为蛋白质合成的起始物。但在成熟的蛋白质中找不到头一个是fMet，在蛋白质成熟时要经过修饰切除。

(三) 翻译开始于mRNA与核糖体的结合

- ❖ 在真核生物的mRNA中，最靠近5'端的AUG序列通常是起始密码。核糖体小亚基首先结合在mRNA的5'端，然后向3'端移动，直到AUG序列被Met-tRNA上的反密码子识别。

- ❖ 在原核细胞中，起始AUG可以在mRNA上的任何位置，并且一个mRNA上可以有多个起始位点，为多个蛋白质编码。细菌的mRNA通常含有一段富含嘌呤碱基的序列，现被称作SD序列，它们通常在起始AUG序列上游10个碱基左右的位置，能与细菌16S核糖体RNA3'端的7个嘧啶碱基进行碱基互补性的识别，以帮助从起始AUG处开始翻译。

Shine-Dalgarno
sequence

Initiation
codon

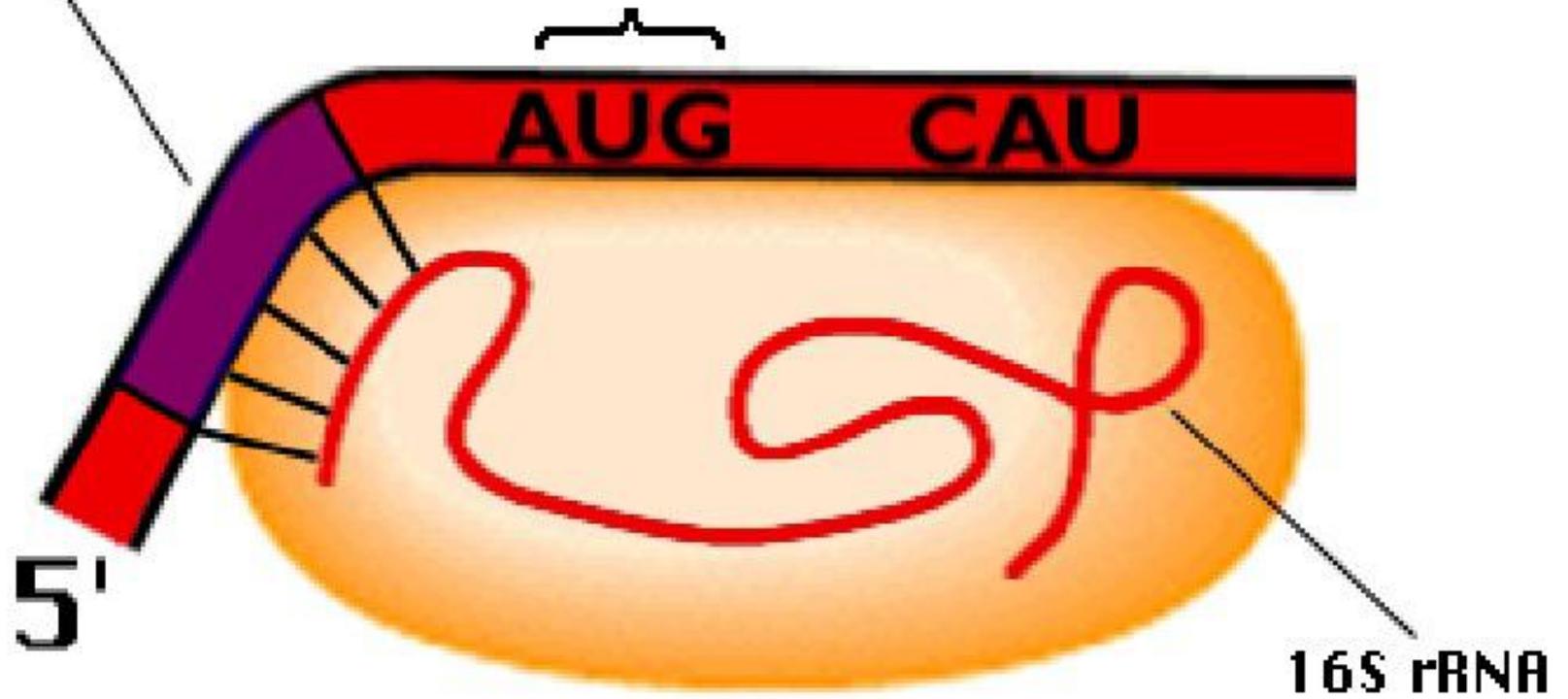


表 38-2 大肠杆菌 16S rRNA 与 SD 序列的识别

| | 与 SD 序列互补的嘧啶碱基富含区 |
|-----------------------------|--|
| 16S rRNA | 3'...HO <u>AU</u> UCCUCCACUA...5' |
| <i>lacZ</i> mRNA | 5'...ACACAGGAAACAGCU <u>AUG</u> ...3' |
| <i>trpA</i> mRNA | 5'...ACGAGGGGAAAUCUG <u>AUG</u> ...3' |
| RNA polymerase β mRNA | 5'...GAGCUGAGGAACCCU <u>AUG</u> ...3' |
| r-Protein L10 mRNA | 5'...C <u>C AGGAGCAA</u> AGCUAA <u>AUG</u> ...3' 富含嘌呤碱基的SD序列 起始密码子 |

（四）蛋白质合成起始物的形成

- ❖ 在核糖体上的蛋白质合成可分成起始、延长及终止3个不同阶段，每一阶段都涉及到一组不同的蛋白质因子。

1、原核生物70S蛋白质合成起始物的形成：

- 1) mRNA首先与30S亚基结合，反应需要有起始因子IF3参与。
- 2) 在起始因子IF1 及IF2-GTP参与下，复合物与fMet-tRNA结合，放出IF3。形成起始复合物。
- 3) 复合物与50S亚基结合，GTP水解功能，放出IF及IF1。这时fMet-tRNA占P位

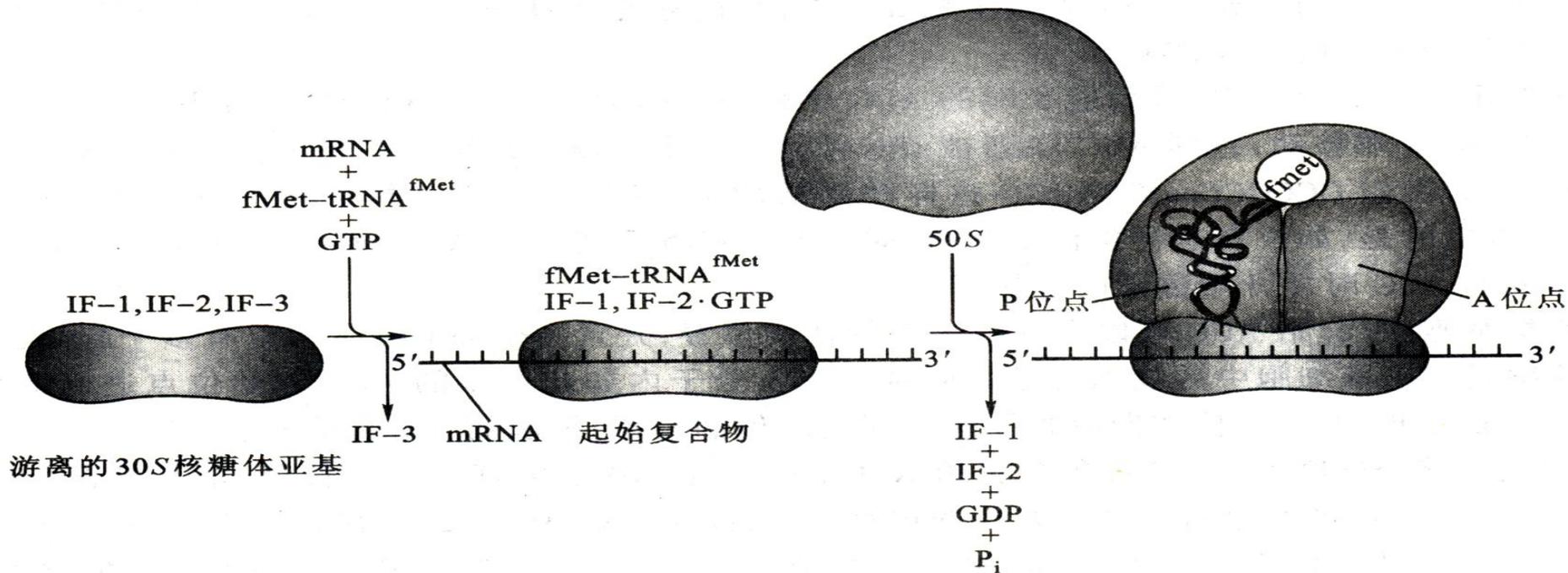
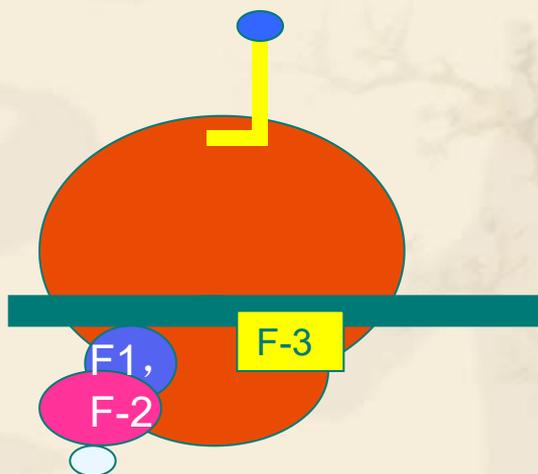


图 38 - 12 原核生物蛋白质合成起始复合物的形成



(五) 肽链的延伸反应

- ❖ 在氨基酸的掺入过程中有3个重复的延伸反应：
- ❖ **1、氨酰—tRNA的结合：** mRNA密码子相对应的新的氨酰—tRNA进入A位。需EF Tu和EF Ts

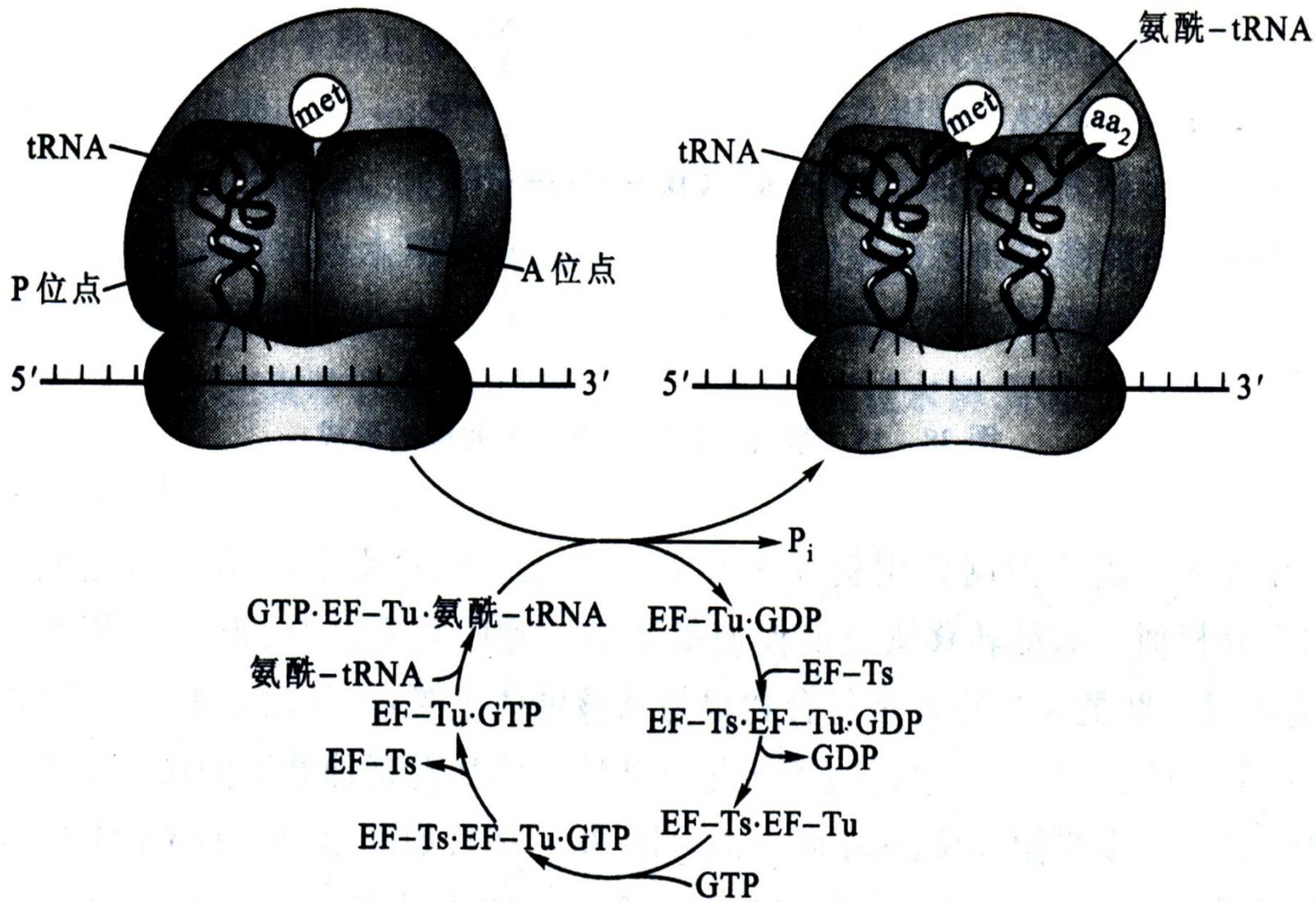


图 38 - 14 原核生物蛋白质合成中第二个氨酰 - tRNA 的加入

❖ 2、肽键生成:

- ❖ P位上的fMet-tRNA和A位上的AA-tRNA在肽酰转移酶的催化下形成肽键。

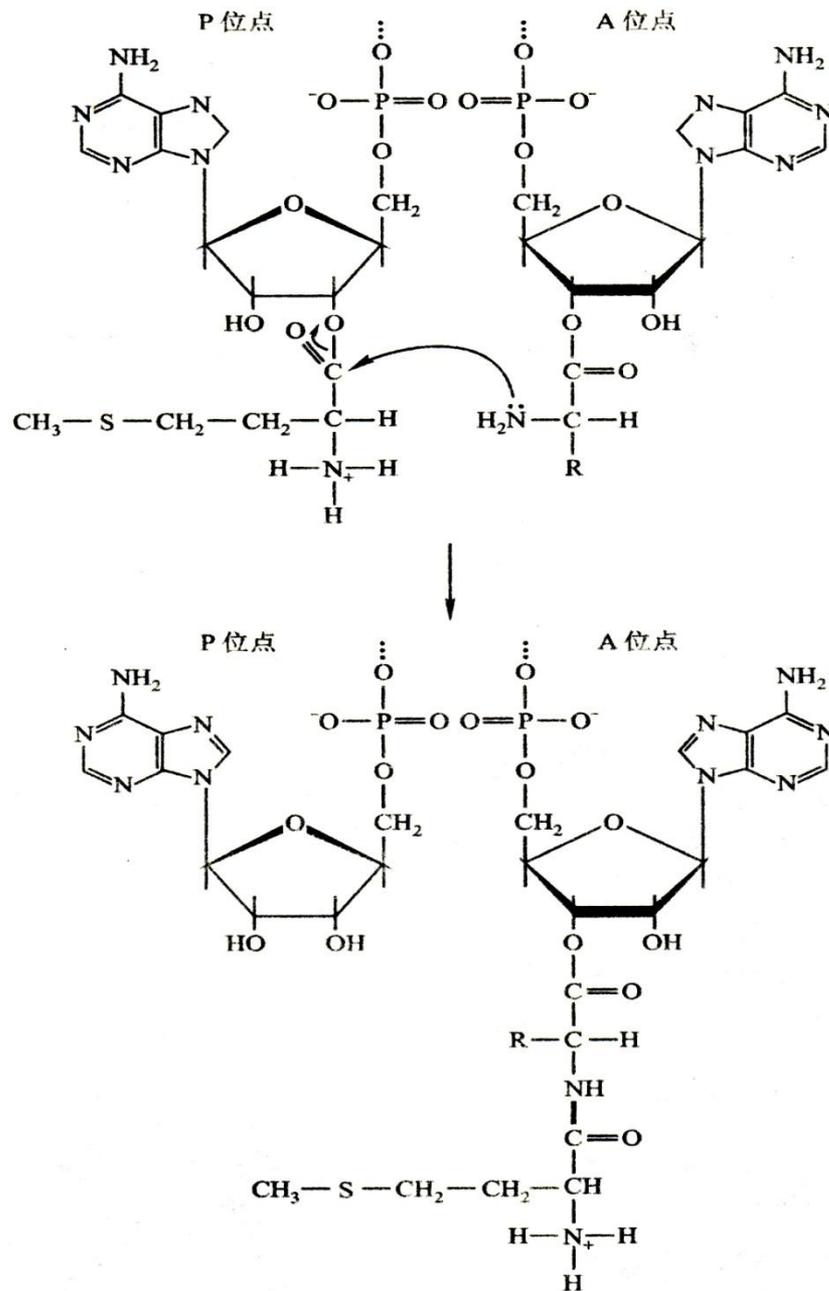


图 38-15 蛋白质合成中第一个肽键的形成

- ❖ 3、位移：核糖体沿mRNA 5' - 3' 移动一个密码单位。则原来A位上的fMet-aa-tRNA移到了P位。新进来的密码子成了A位。重复此三步可向前延伸！！

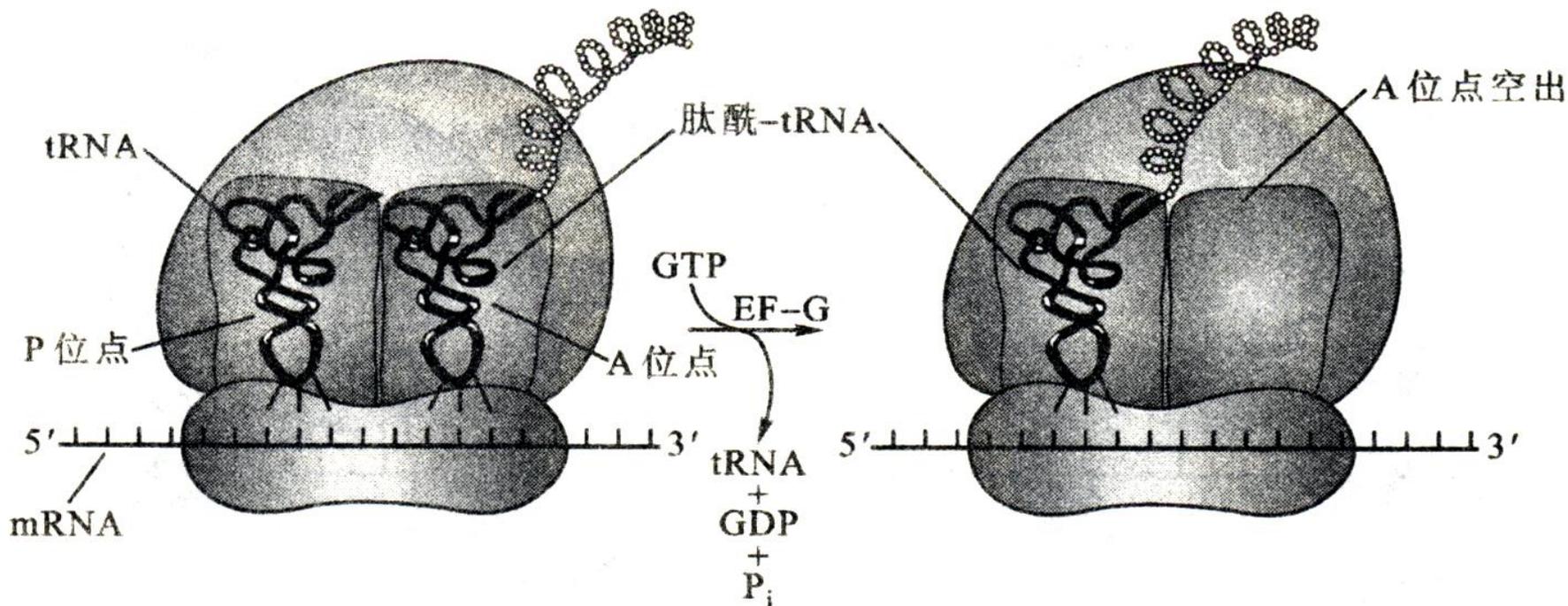


图 38 - 16 原核生物蛋白质合成中的移位

- ❖ 这一步的抑制剂是嘌呤霉素，嘌呤霉素的结构与氨酰-tRNA相似，可以以共价方式参入肽链，蛋白质合成不能继续。在真核生物中，EFG（EF-2）可被白喉毒素抑制，阻止位移。

(七) 翻译的终止和肽链的释放

1、翻译遇到终止密码子UAA、UAG、UGA:

蛋白质合成结束，这一过程需要释放因子参加 (Release Factor, RF)。

❖ 2、肽链释放：

RF3无释放活性，但可促进RF1、RF2转变为蛋白水解的活性。将完成的肽链—tRNA切下，并将肽链与tRNA切开。tRNA一旦离开核糖体，核糖体自行分离成大小亚基，并从mRNA脱落下来。IF3与30S亚基结合，以防与50S亚基聚合。30S和50S亚基进入下一次循环。

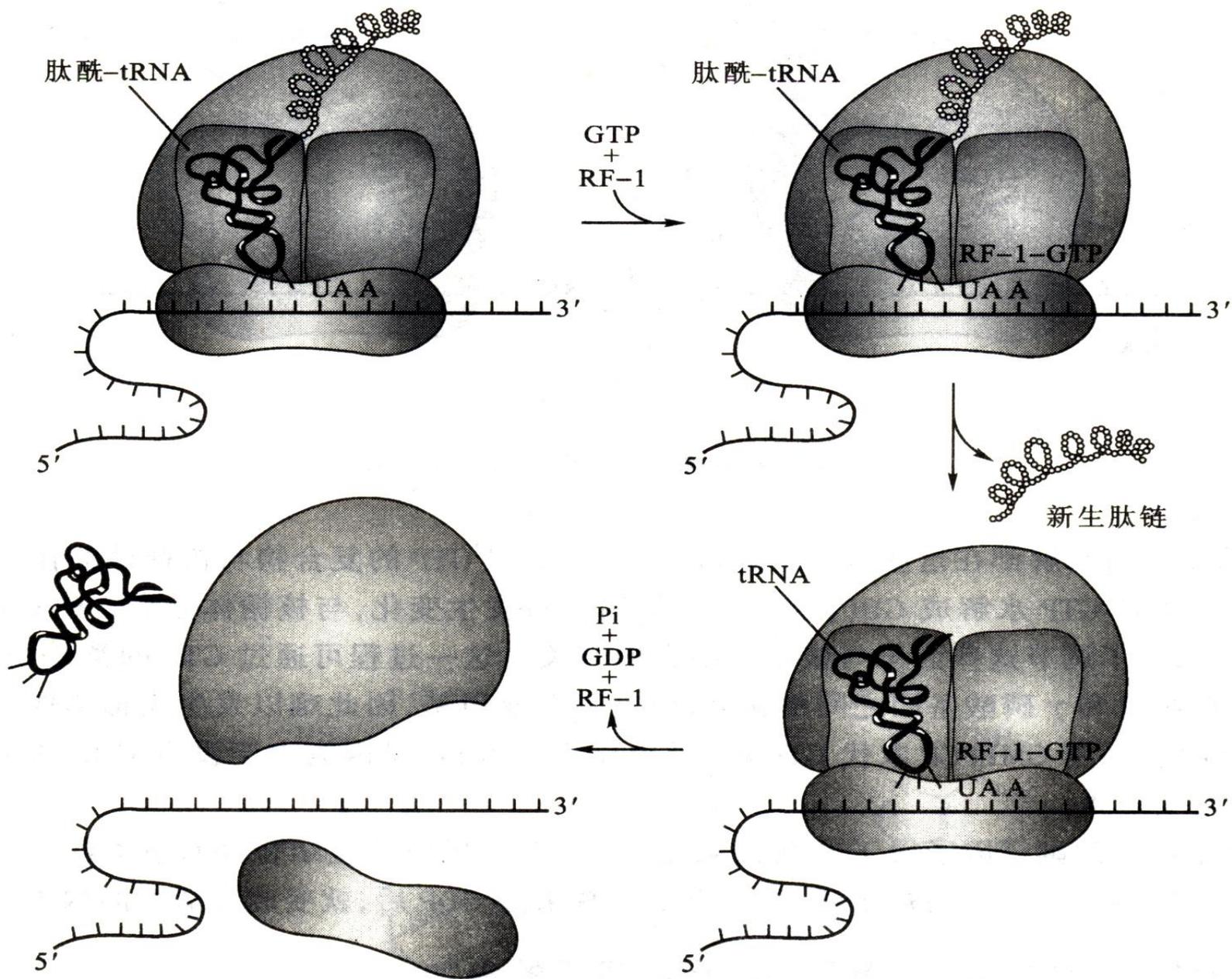


图 38 - 17 原核生物蛋白质合成中新生肽链的释放

三、蛋白质的运输及翻译后修饰

在核糖体上新合成的多肽被送往细胞的高尔基体、内质网等各个部分使蛋白质成熟。这种翻译后加工过程使得蛋白质组成更加多样化，从而导致蛋白质结构上呈现更大的复杂化。有以下几个方面：

- 1、切除fMet。
- 2、对氨基酸残基的侧链基团进行修饰外，切除部分肽段。
- 3、形成二硫键
- 4、共价修饰 甲酰化、甲基化个别AA的转移等。

(一) 蛋白质通过其信号肽引导到目的地

❖ 信号肽：

每一需要运输的多肽都含有一段氨基酸序列，称为信号肽序列（signal or leader sequence）。

- ❖ 信号肽引导多肽至不同的转运系统。在真核细胞中，当某一种多肽的N端刚开始合成不久，这种多肽合成后的去向就已被决定。

信号肽引导肽链 运输到目的地

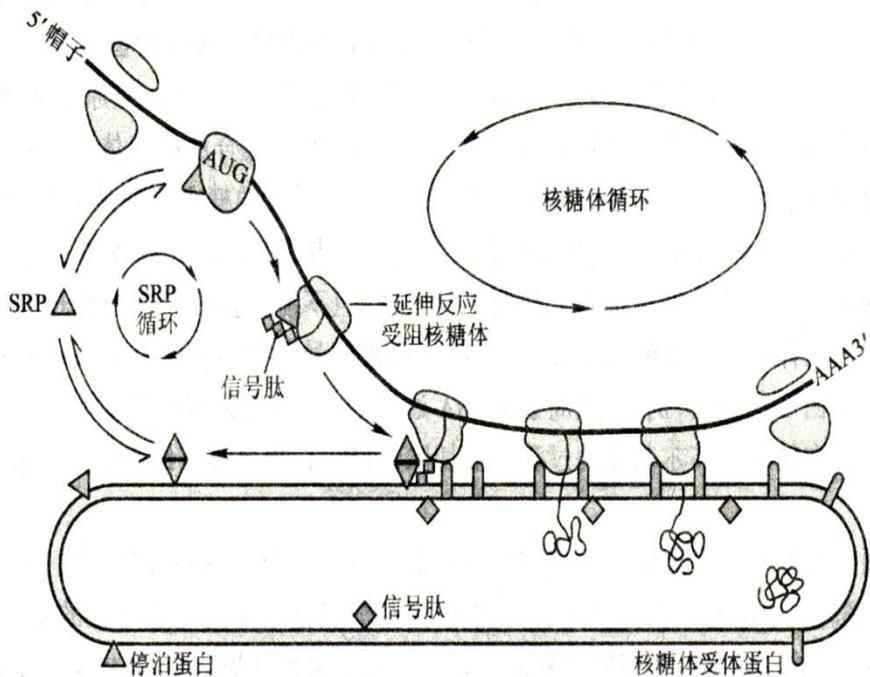
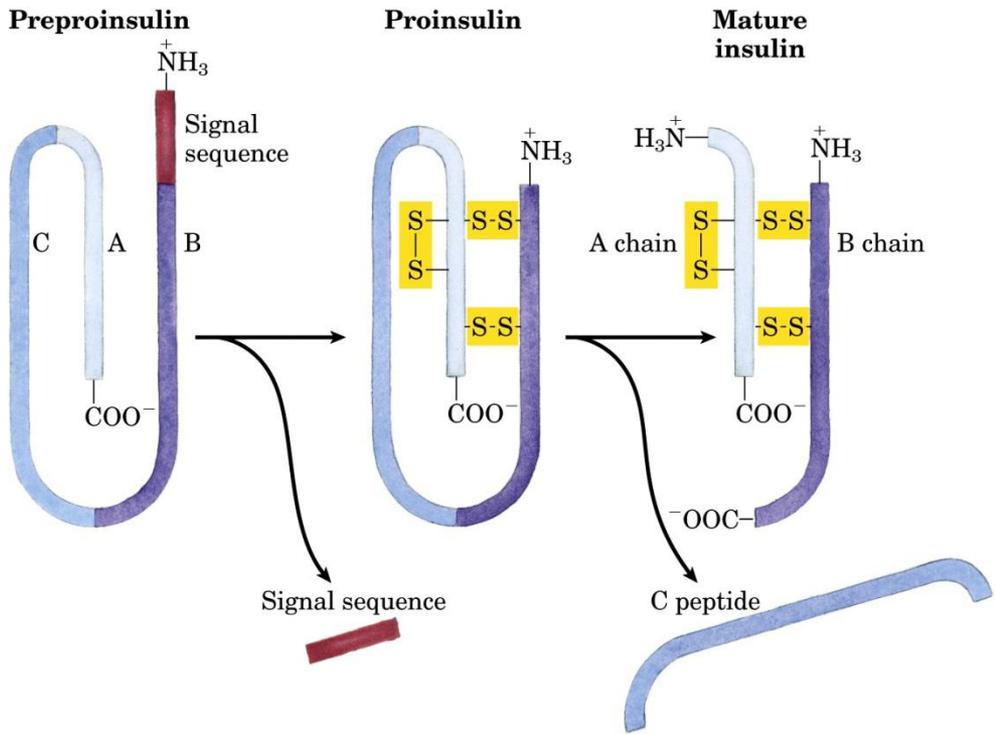


图 38 - 20 信号肽的识别过程



胰岛素分子的 加工修饰 与成熟



（四）高尔基体中多肽的糖基化修饰及多肽的分类

❖ 高尔基体主要有两方面功能：

一是对糖蛋白上的寡聚糖核作进一步修饰与调整；

二是将各种多肽进行分类并送往溶酶体、分泌粒（granule）和质膜等目的地。



瑞典斯德哥尔摩市政大楼
颁发诺贝尔奖的地方

Stockholm
City Hall







'00 9 17





00 12 25

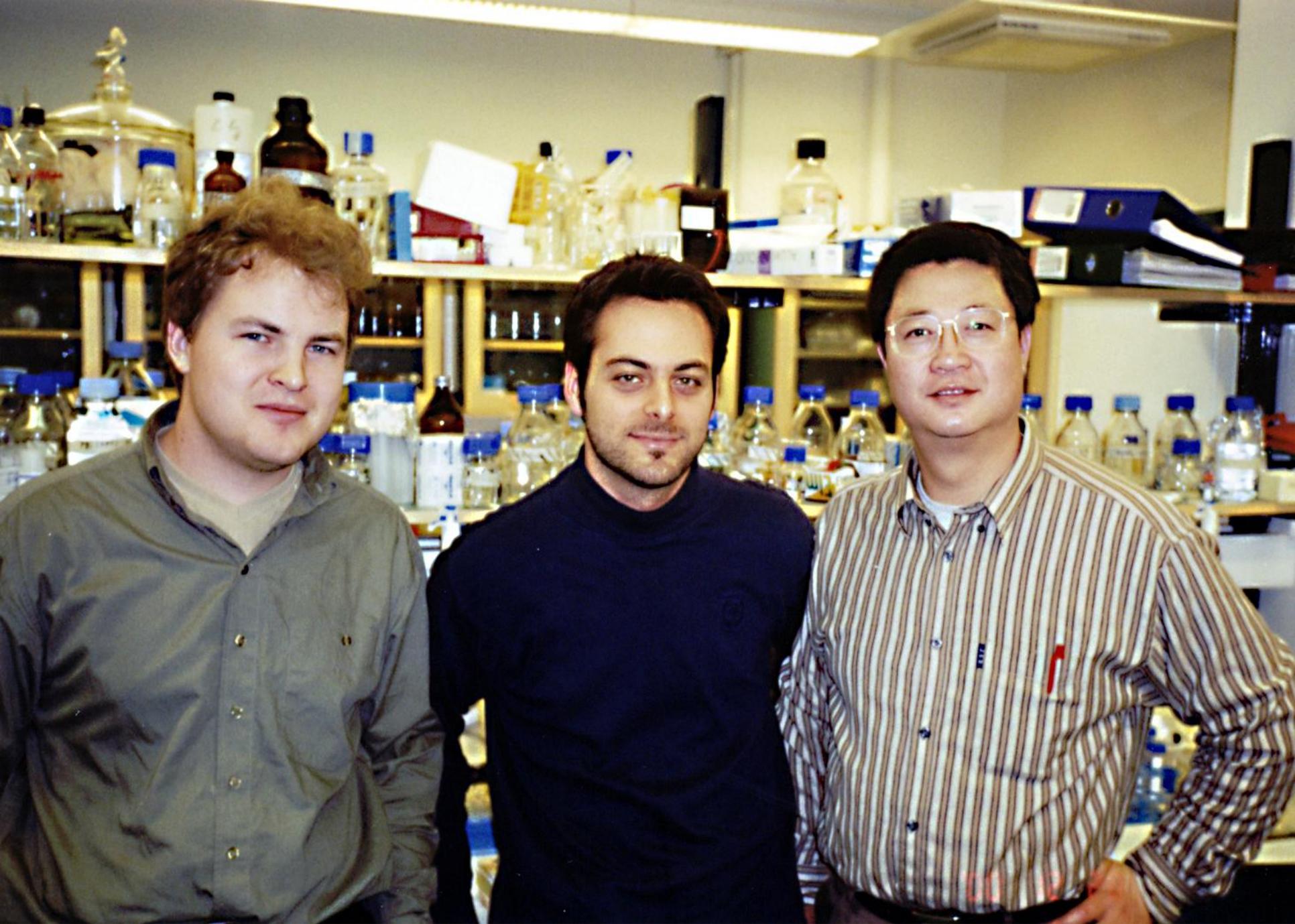




NETA TÄNÄN

00 12 15













讲课到此结束！



在我们的共同努力下，完成了生化的教学任务，在这里预祝同学们考试成功，全部顺利通过。



谢谢大家

