

8.1 蛋白质合成的装备

翻译的定义

- ★合成蛋白质装置的基本组分：核糖体（rRNA+蛋白质）、tRNA、mRNA、酶、辅助蛋白因子。
- ★rRNA的功能是与多种核糖体蛋白构建核糖体，成为翻译多肽的场所；
- ★ tRNA的功能是转运氨基酸，识读密码子；
- ★ mRNA是携带密码的信使，翻译的模板。
- ★辅助蛋白因子与核糖体暂时缔合，对核糖体的装配与解离，翻译起始、延伸和终止具有重要作用。
- ★翻译：以mRNA为模板，在核糖体上由tRNA解读，将贮存于mRNA中的密码序列转变为氨基酸序列，合成多肽链的过程。

Message RNA （信使RNA）

- ★信使RNA是蛋白质合成的模板。
- ★ mRNA是由Jacob和Monod于1961年提出的。他们认为，既然蛋白质是在细胞质中合成的，就必然存在一种物质传递细胞核中的遗传信息。
- ★基因通过一种寿命较短的从基因到核糖体的中介物传递遗传信息，此中介物被命名为“信使RNA”---mRNA.
- ★ Jacob进一步通过密度梯度离心实验，不仅证明了mRNA的存在，而且将其与rRNA区分开来。也证明rRNA是一种稳定的核酸分子。

Message RNA （信使RNA）

所有信使RNA都具有两个必需特征：一段可翻译的密码序列（开放阅读框，ORF）和一个核糖体结合位点（RBS）。

mRNA是由DNA的模板链转录而来，其序列与编码链相同，与模板链互补。

原核生物mRNA的转录和翻译的发生在时间与空间上具有相对的统一性，其mRNA通常不稳定，在合成后的几分钟内翻译成蛋白质。真核mRNA的合成与成熟都在核内，成熟的mRNA被运往胞质，作为模板翻译蛋白质，其稳定性相对较高，达几小时。

原核生物的mRNA

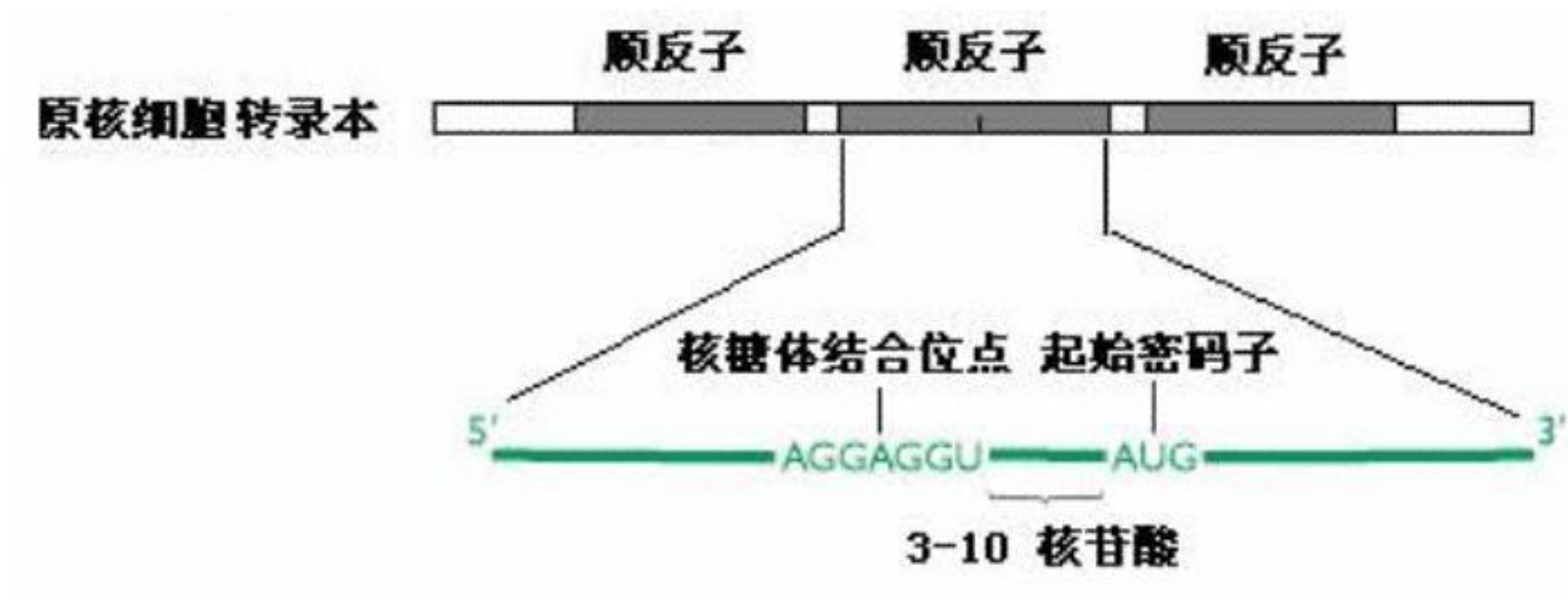


图 5.1. 大肠杆菌的 mRNA

真核生物的mRNA

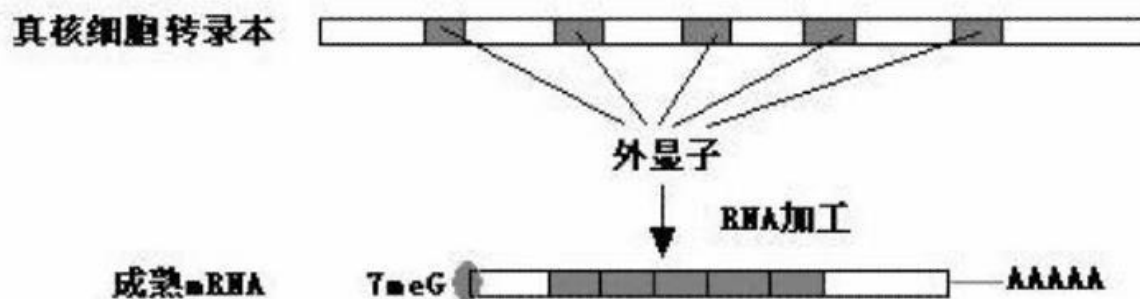
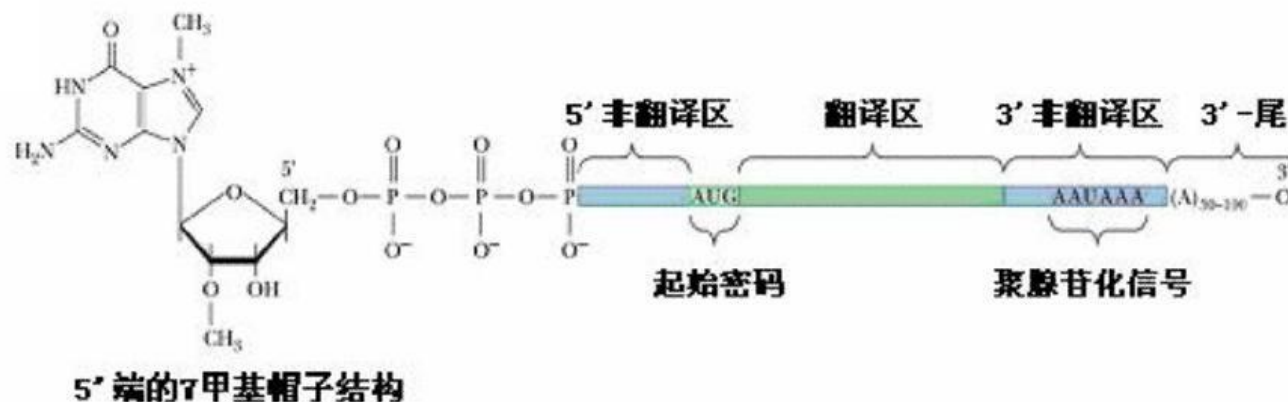


图 5.2 真核细胞的 mRNA

在真核细胞中，1 个转录本只有一个顺反子，包括多个编码区域（外显子，阴影部分）和非编码区域。其中将外显子隔开的非编码区域称为内含子。经过转录和转录后加工，成熟 mRNA 含有可连续阅读的编码区。

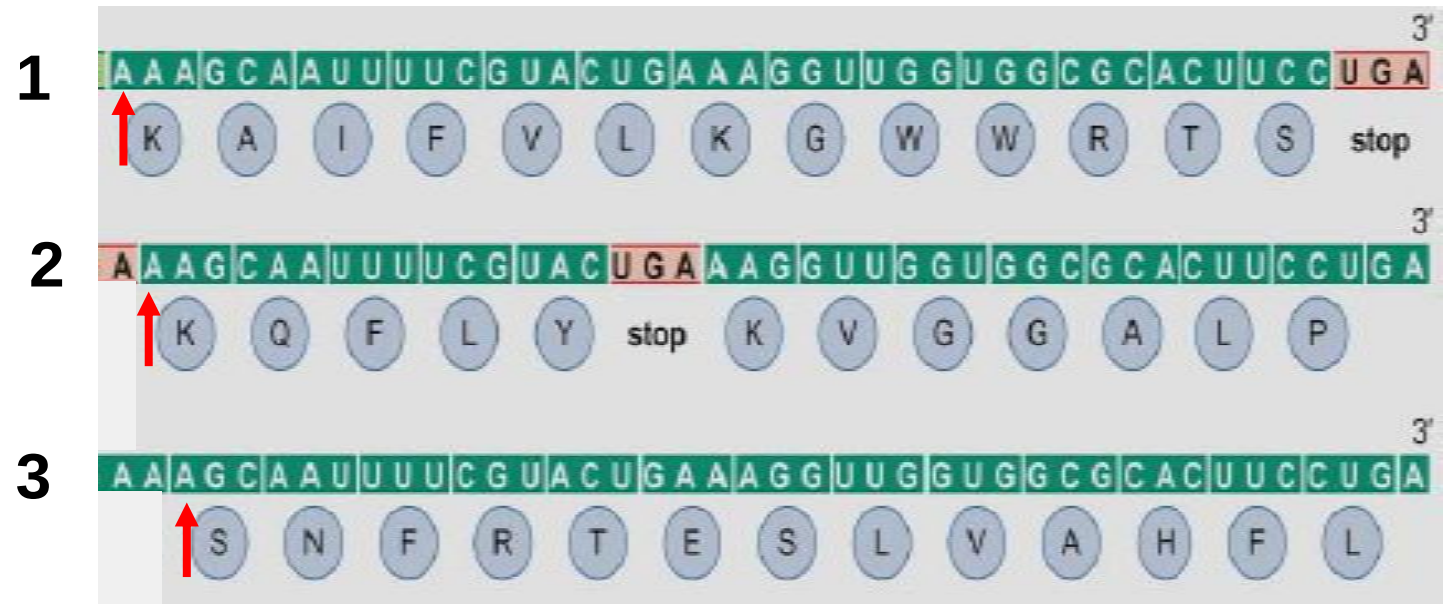


翻译的模板



Coding region 编码区

The coding region of each mRNA is composed of a contiguous, non-overlapping string of codons. 编码区由相邻排列但不重叠的密码子串组成。



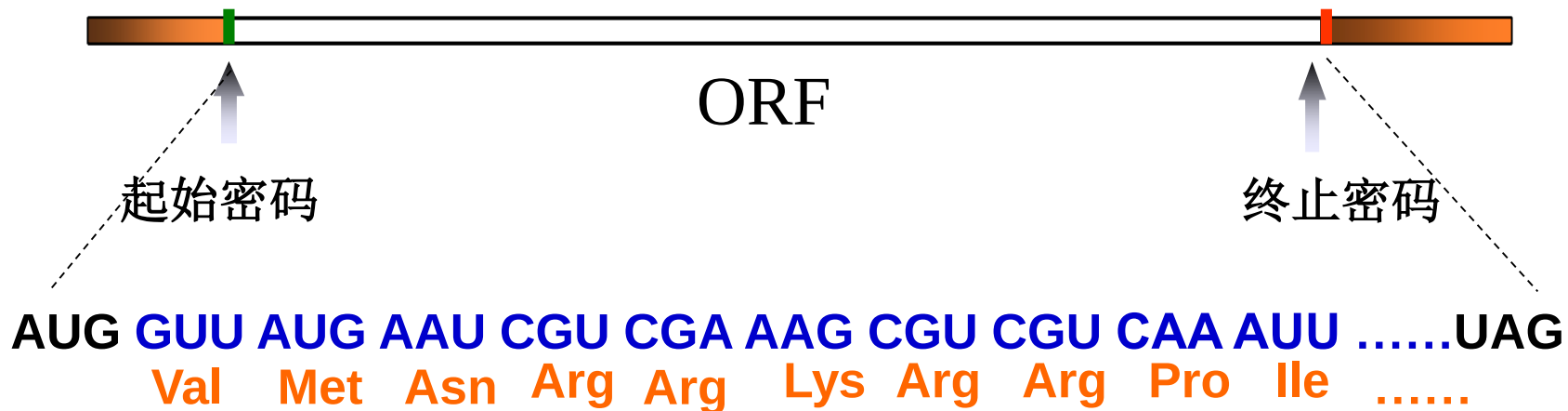
阅读框（读码框）：解读mRNA中遗传密码的三联体方式。

Three predicted reading frames of *E. coli* leading sequence.

Open Reading Frame 开放阅读框 (ORF)

An **ORF** should begin with a **start codon** and end with **stop codon**.

ORF 始于起始密码，止于终止密码。具有潜在的编码能力。



开放阅读框：按一定的阅读框，从起始密码到终止密码可连续解读遗传密码的区域。

移码突变 (Frame-shift mutation)

Insertions or deletions of one or a small number of base pairs that alter the reading frame.

由于一个或少量的碱基对的插入或缺失导致的读码框的变异。

AUG GUU AUG AAU CGU CGA AAG CGU CGU CAA AUUUAG
Val Met Asn Arg Arg Lys Arg Arg Pro Ile

Normal ORF 正常ORF

删除 U
↑

AUG GUU AUG AAU CGC GAA AGC GUC GUC AAA UU??U AG
Val Met Asn Arg Asp Thr Val Val Lys

Frame shifting ORF 移码突变ORF

tRNA

1956年，Francis Crick 预言在蛋白质的合成过程中可能存在一种转接器分子，后被证实为RNA分子，称为转运RNA（tRNA）。

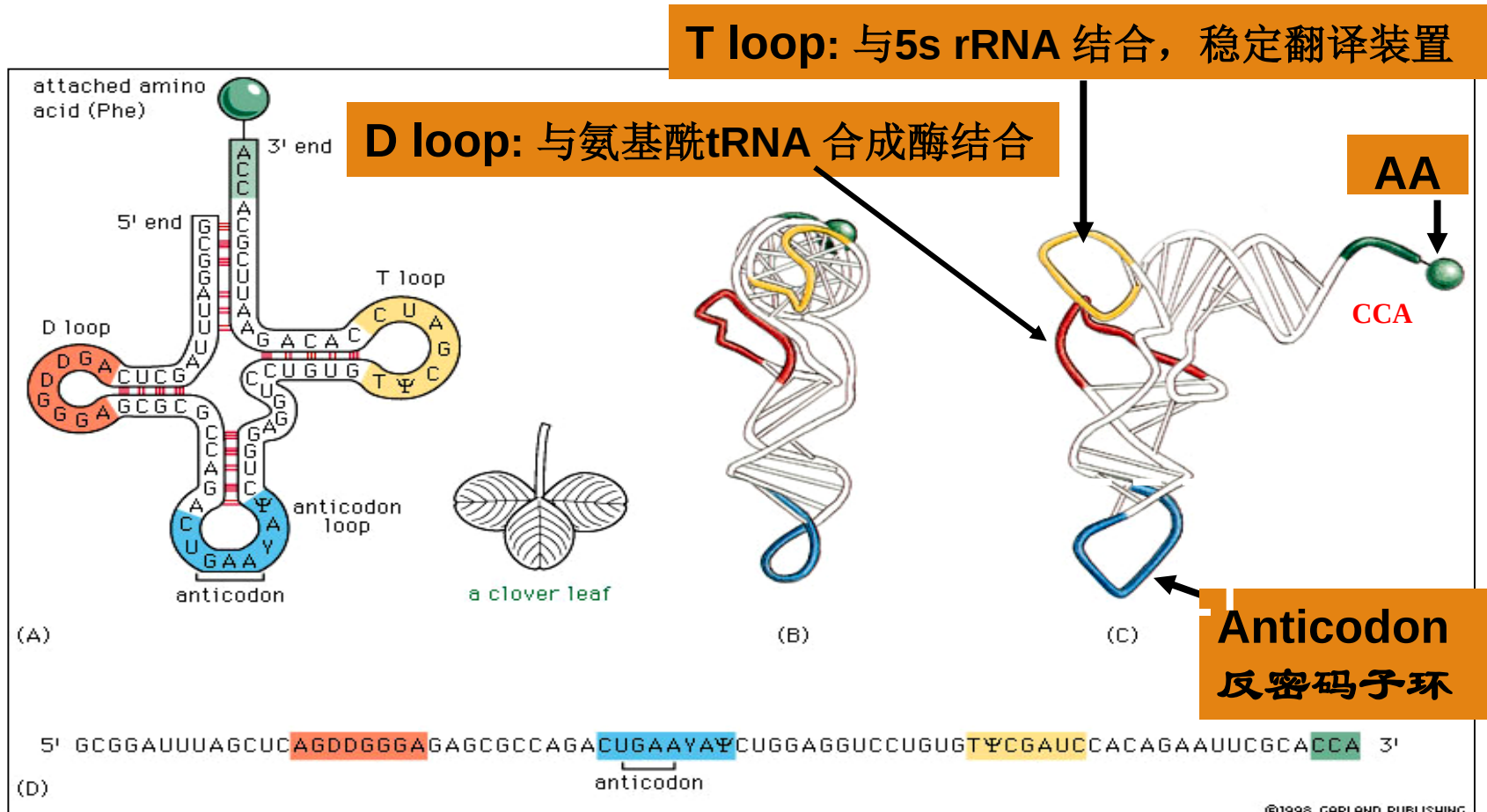
所有tRNA都有相似的结构。最简单的只有74个核苷酸，最大的约94个核苷酸。

tRNA^{Phe}是第一个通过X射线晶体衍射分析技术测定其空间结构的tRNA。

除了少数例外（如脊椎动物线粒体基因组编码的tRNA），所有tRNA分子都有三叶草式的二级结构。

不同tRNA具有相同的功能特征，例如均能结合核糖体的A位点和P位点，具有相似的氨基酸承受臂，DHU环，T ψ C环以及反密码子等。

tRNA的结构特征



所有tRNA都有相似的结构,74-94nt. tRNA^{Phe}是第一个通过X射线晶体衍射分析技术测定其空间结构的tRNA。

tRNA各部分结构的功能

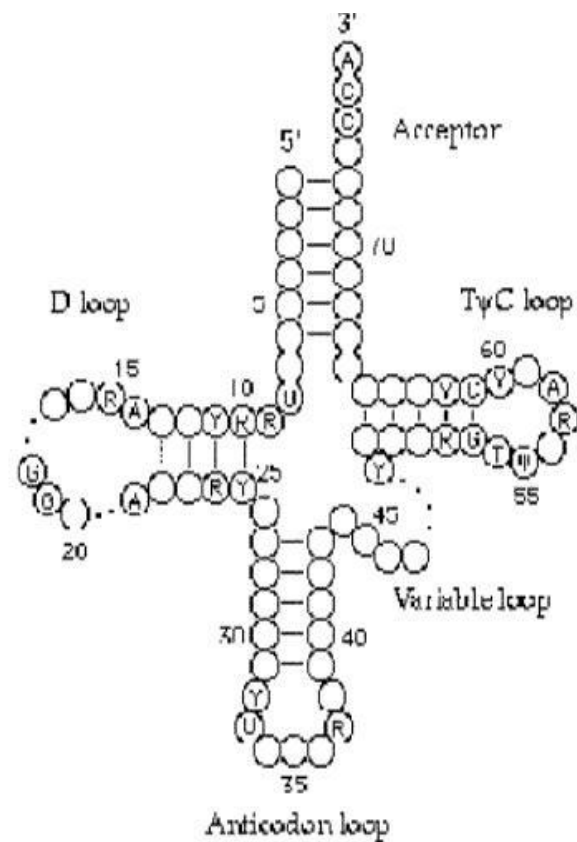


图 5.4 tRNA 的二级结构

(1) 分子的 5'端和 3' 端的 7 个碱基对形成氨基酸承受臂(amino acid acceptor)。氨基酸被连接到 tRNA 的 3'端的一个高度保守的 CCA 序列的腺苷酸残基的 3' -OH 上。

(2) DHU 环(D loop) 即环中含有修饰碱基——二氢尿嘧啶。直接与氨基酰 tRNA 合成酶结合。

tRNA各部分结构的功能

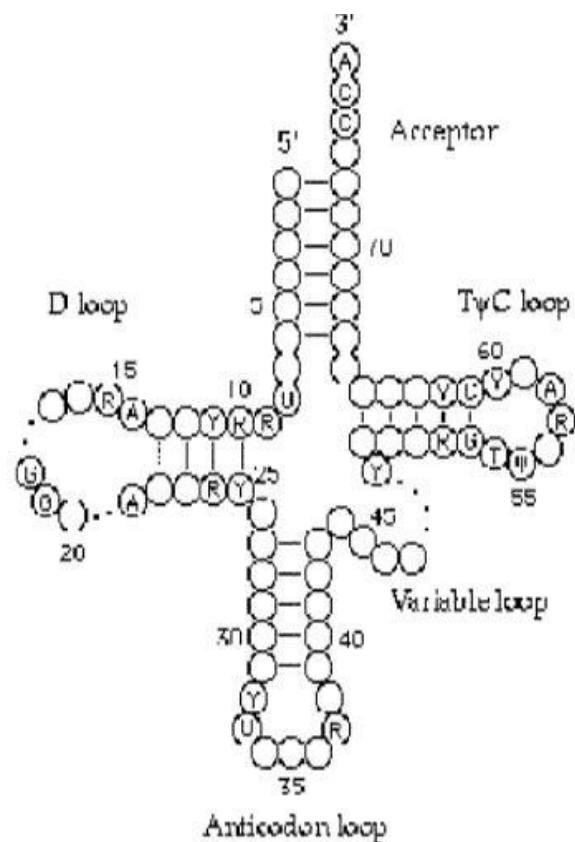


图 5.4 tRNA 的二级结构

(3) **反密码子环(anticodon loop)** 含有能在翻译期间与 mRNA 三联体密码子进行碱基配对的反密码子(34, 35, 36 位核苷酸)。担负识读密码的功能, 其中第 34 位的核苷酸表现为对密码子中的第 3 位核苷酸的摇摆选择配对, 也被称为**摇摆位点**。

(4) **额外环或可变环(extra loop 或 variable loop)** 含有 3-5 个核苷酸(I 类 tRNA) 或 13-21 个核苷酸(II 类 tRNA), 用于 tRNA 分类。

(5) **TΨC 环** 该环的命名是因为环中始终含有胸腺嘧啶-假尿嘧啶-胞嘧啶的三序列。其功能主要表现为与构成核糖体大亚基的 5s rRNA 结合, 稳定蛋白质翻译装置。

tRNA 空间结构

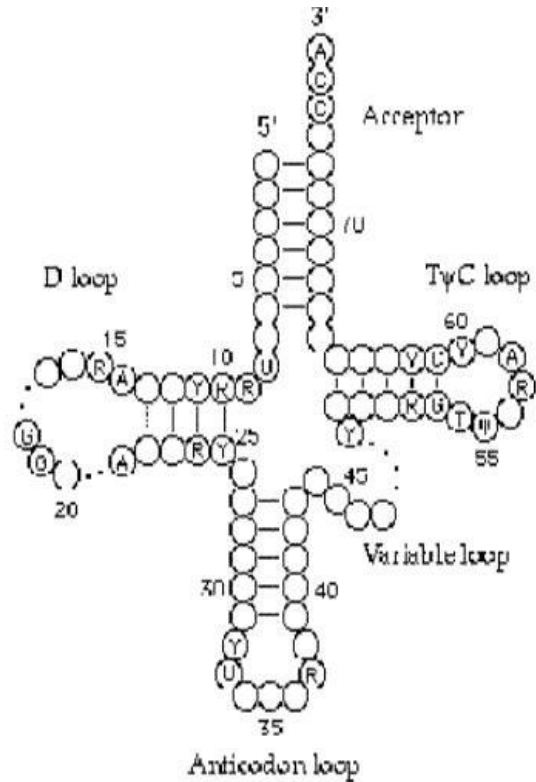


图 5.4 tRNA 的二级结构

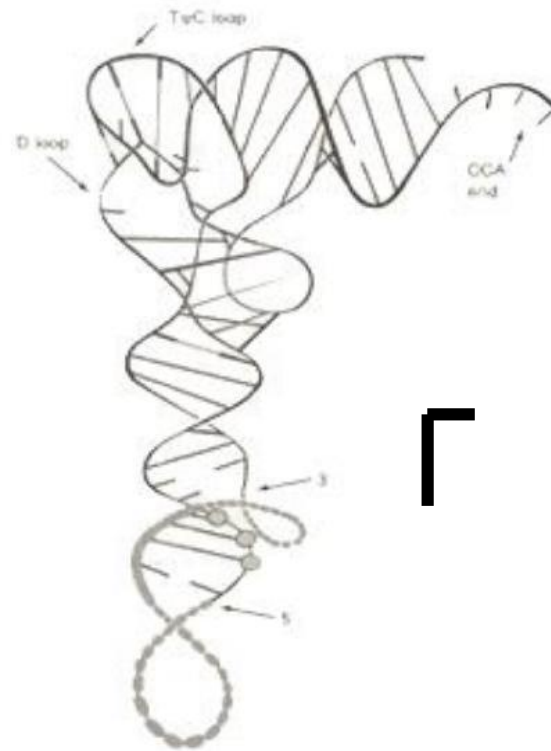


图 5-6 tRNA 拓扑空间结构图

在与核糖体结合形成翻译装置后，位于L一端的氨基酸接受臂，楔合于核糖体的肽基转移酶结合位点，以利肽键的形成。位于L另一端的反密码子环与结合在核糖体小亚基上的mRNA的密码配对。
第34位的摇摆碱基位于堆积力小、自由度大的L结构末端，正是这种特殊的结构才赋予了反密码子第34位碱基对密码子的配对摇摆功能。

tRNA的类型

1. 起始tRNA和延伸tRNA



(原核) **fMet-tRNA_f^{Met}**
(真核) **Met-tRNA_i^{Met}**

起始因子

起始密码子

识别结合核糖体之**P**位



延伸因子

除起始和终止密码外

识别结合核糖体之**A**位

tRNA的类型

2. 同工tRNA

识别同义密码子的不同的**tRNA**，携带同种氨基酸

（对应于同一氨基酸的密码子称为**同义密码子**）

3. 校正tRNA

tRNA 基因发生突变的产物，可以纠正**密码子突变**

校正tRNA通常是一些变异的tRNA，它们或是反密码子环碱基发生改变，或是决定tRNA特异性的碱基发生改变，从而改变了译码规则，**不按常规引入氨基酸，却起了校正功能**。

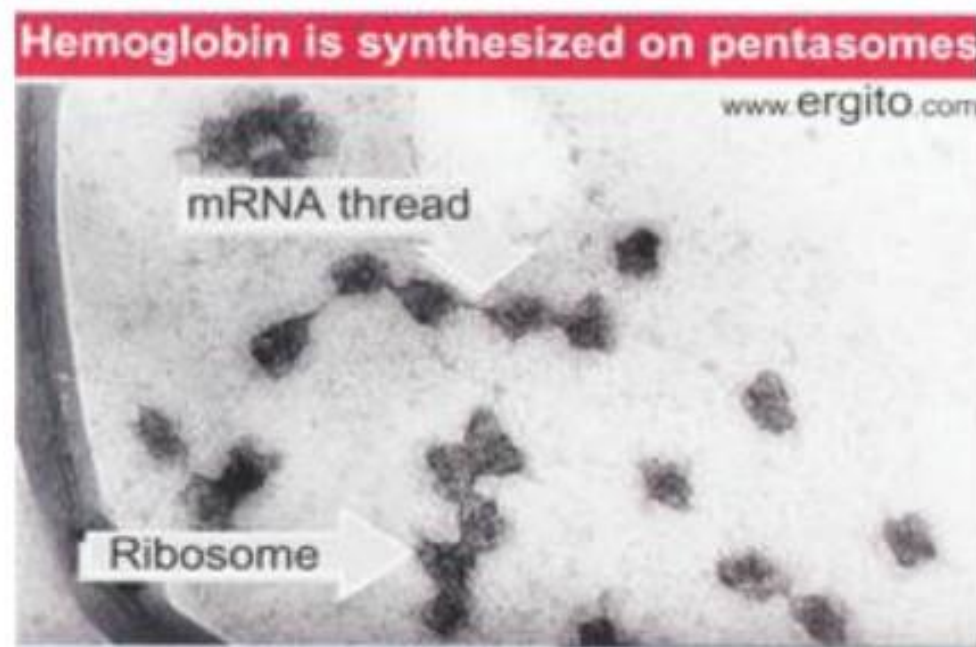
校正tRNA分为**无义突变**和**错义突变**校正。

无义突变的校正 tRNA 必须与释放因子竞争识别密码子；

错义突变的校正 tRNA 必须与该密码子的正常 tRNA 竞争，这些都会影响校正的效率。

Ribosome 核糖体

- ★核糖体是蛋白质合成的场所。是大而复杂的核蛋白复合物，在细胞中含量丰富。
 - ★在胞浆中以游离形式存在或结合在真核细胞粗面内质网膜上。一条mRNA可以先后结合多个核糖体形成多聚核糖体结构。
 - ★核糖体由两种不同大小的亚基组成。
 - ★大亚基和小亚基分别由几种核糖体RNA（rRNA）和多种核糖体蛋白质组成。
- rRNA组成占相对分子质量的60-65%。
- ★核糖体的相对大小用沉降系数单位来表示。



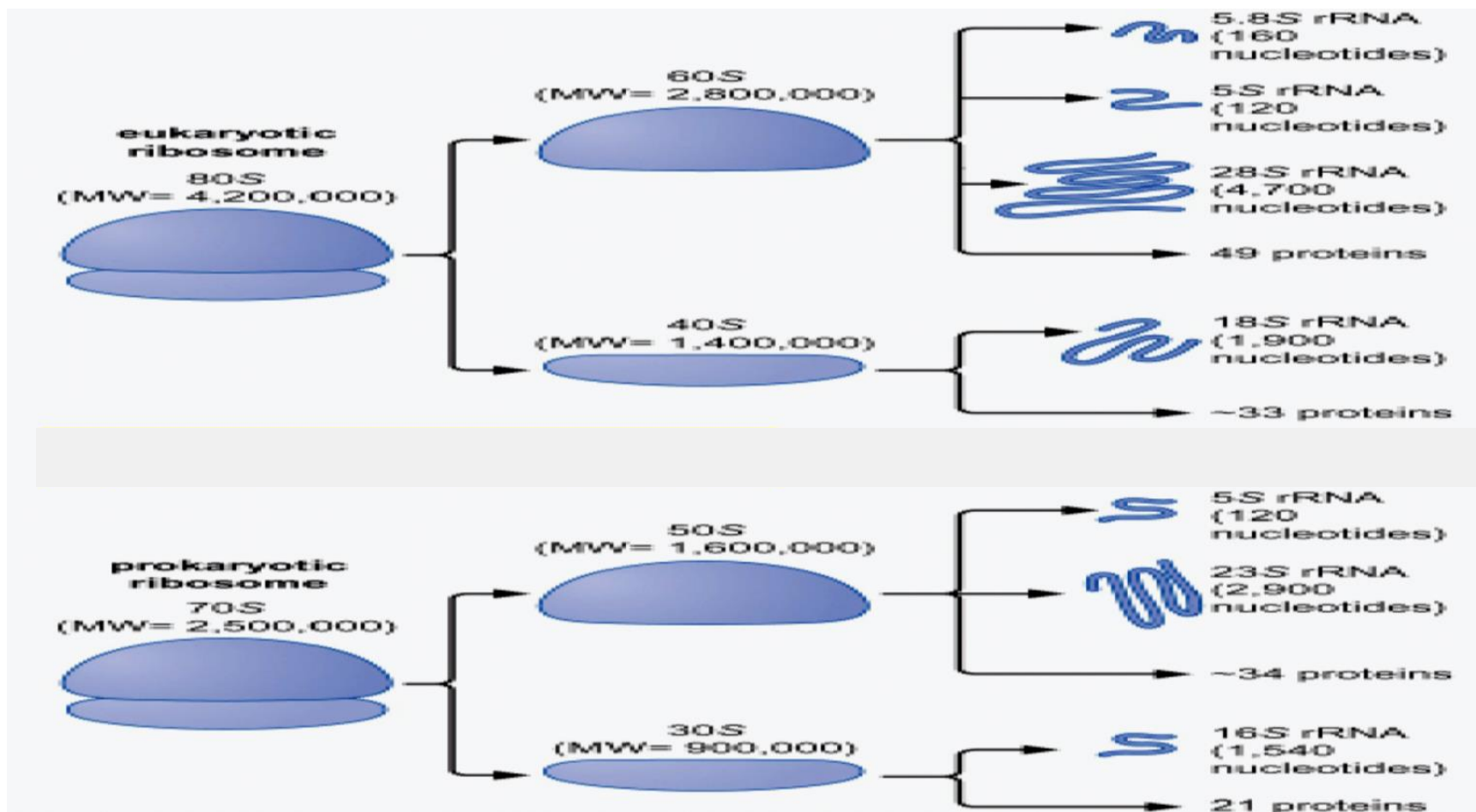
原核生物与真核生物的核糖体

大肠杆菌细胞中含有约20000个核糖体，真核细胞平均含有的核糖体数目更多。

	Prokaryote	Eucaryote
	70s	80s
Large subunit	23s,5s rRNA, L1-L33 50s	5s,5.8s,28s rRNA,50Proteins 60s
Small subunit	16s rRNA, S1-S21 30s	18s rRNA, 33Proteins 40s

古细菌核糖体类似于细菌核糖体，但有些包含与真核相同的特别亚基。

原核生物与真核生物的核糖体



rRNA 的几个特点

rRNA的GC含量在60%左右，其rDNA序列通常是中度重复序列。

5S rRNA与tRNA的T ψ C环存在部分序列同源，可以氢键配对的方式稳定氨基酰tRNA与核糖体的结合。

原核生物中16S rRNA的3'端具有CCU保守序列，可与mRNA5'端AGG的SD序列配对，以保证核糖体对蛋白质合成的准确起译。

真核生物的18S rRNA3'端序列尽管与原核生物高度同源，但没有富含CCU的保守序列，因为真核生物mRNA的5'端没有SD序列。

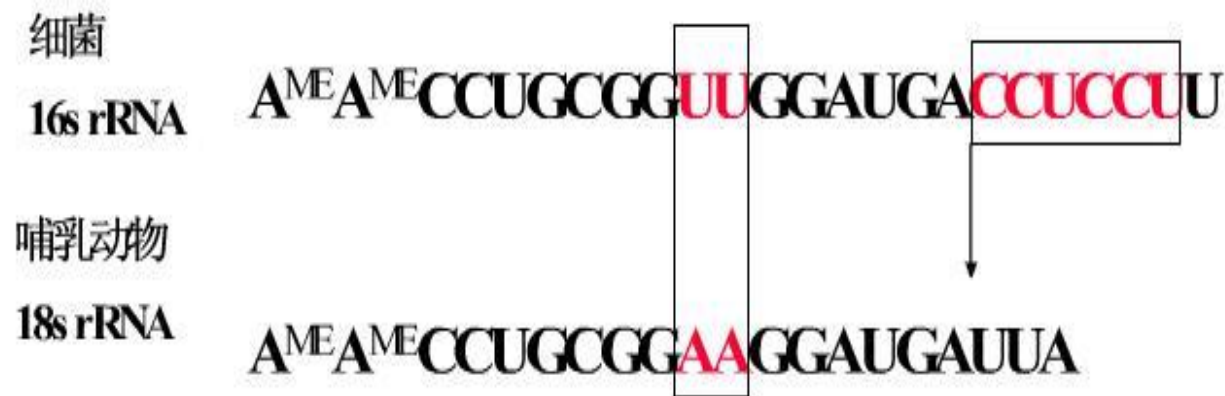


图 5-11 原核生物 16s rRNA 与真核生物 18s rRNA3' 端序列的比较

核糖体重要的功能域或位点

小亚基与mRNA的结合位点

大亚基与氨基酰tRNA结合的位点**A**

在肽链延长过程大亚基与肽链结合的位点**P**

空载tRNA离开核糖体的出口位点**E**

大亚基的肽基转移酶结合域，提供肽键形成的催化活性

延伸因子-氨基酰- tRNA-GTP复合体进入核糖体位点（EF-Tu site）

肽链转位因子结合位点（EF-G site）；

核糖体大亚基与5S rRNA结合位点。

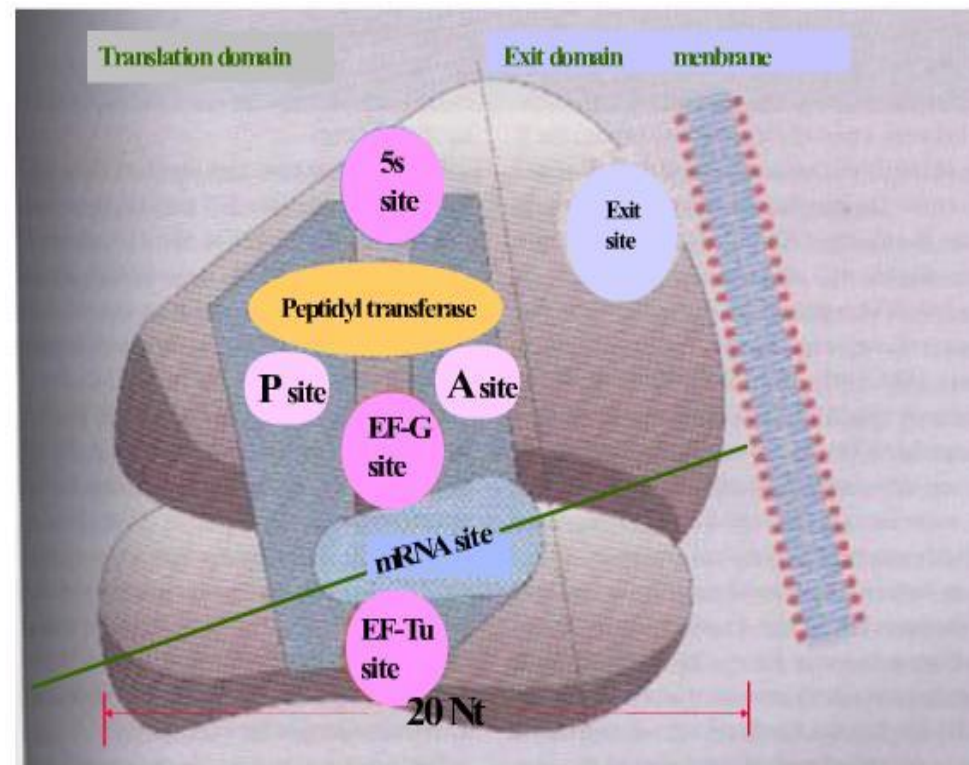
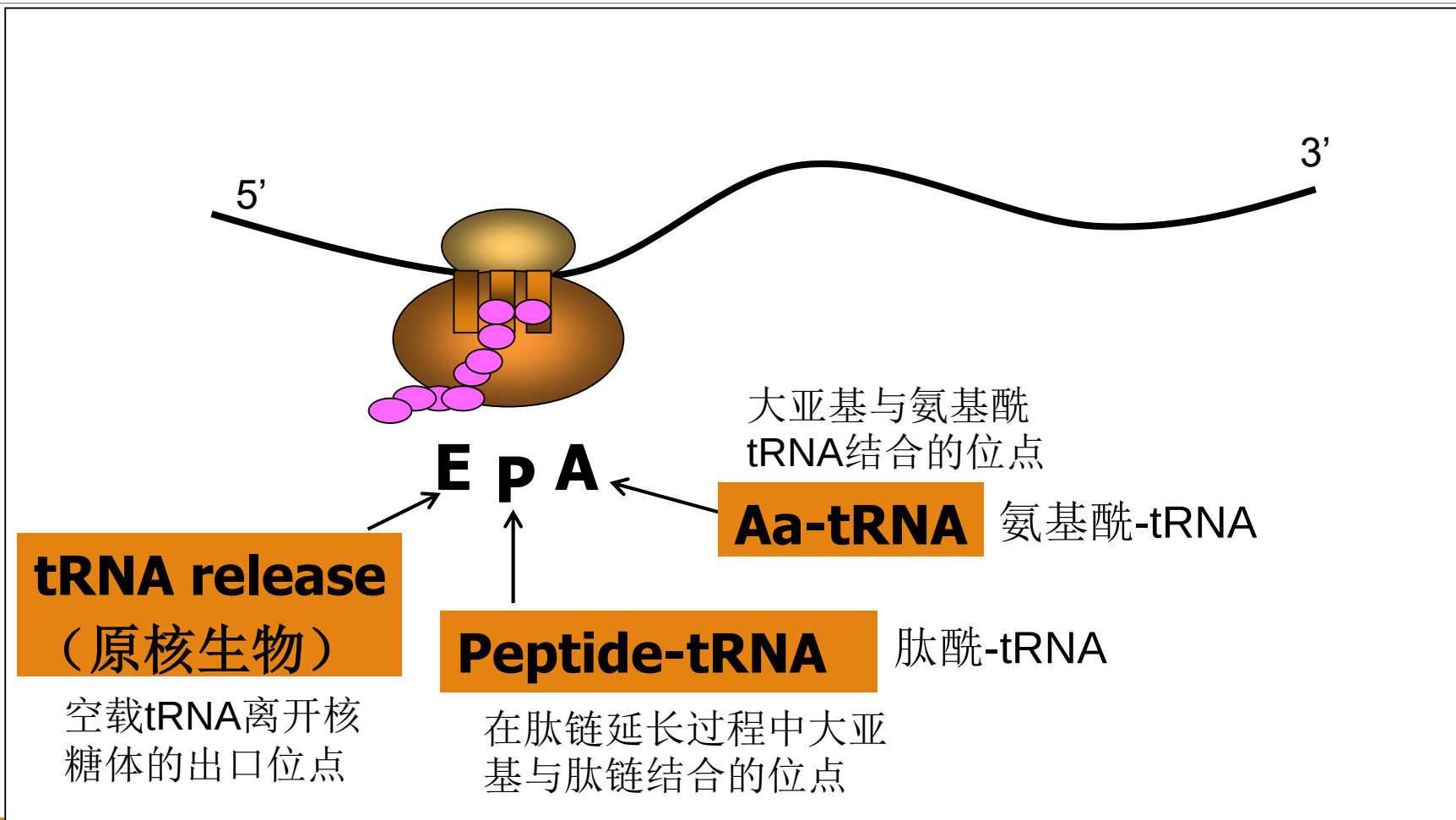


图 5-14 具有生物活性的核糖体的 8 个功能域位点

与mRNA结合的核糖体能覆盖约20个核苷酸区域

核糖体内的3个活性位点



核糖体的功能

核糖体的主要作用如下：

- ▣ 提供tRNA、mRNA和相关蛋白质因子的结合位置，使他们在核糖体上保持正确的相对位置。
- ▣ 包括rRNA在内的组分具有催化功能，能执行翻译过程中的许多关键化学反应。

核糖体在胞内除了以多聚核糖体形式参与蛋白质合成外，还有一部分以游离状态存在，游离状态的约占总数的**20%**左右。

核糖体通常被循环利用，核糖体库中的核糖体被释放出来后，与mRNA结合进行蛋白质合成，然后再回到库中准备进行下一个循环。