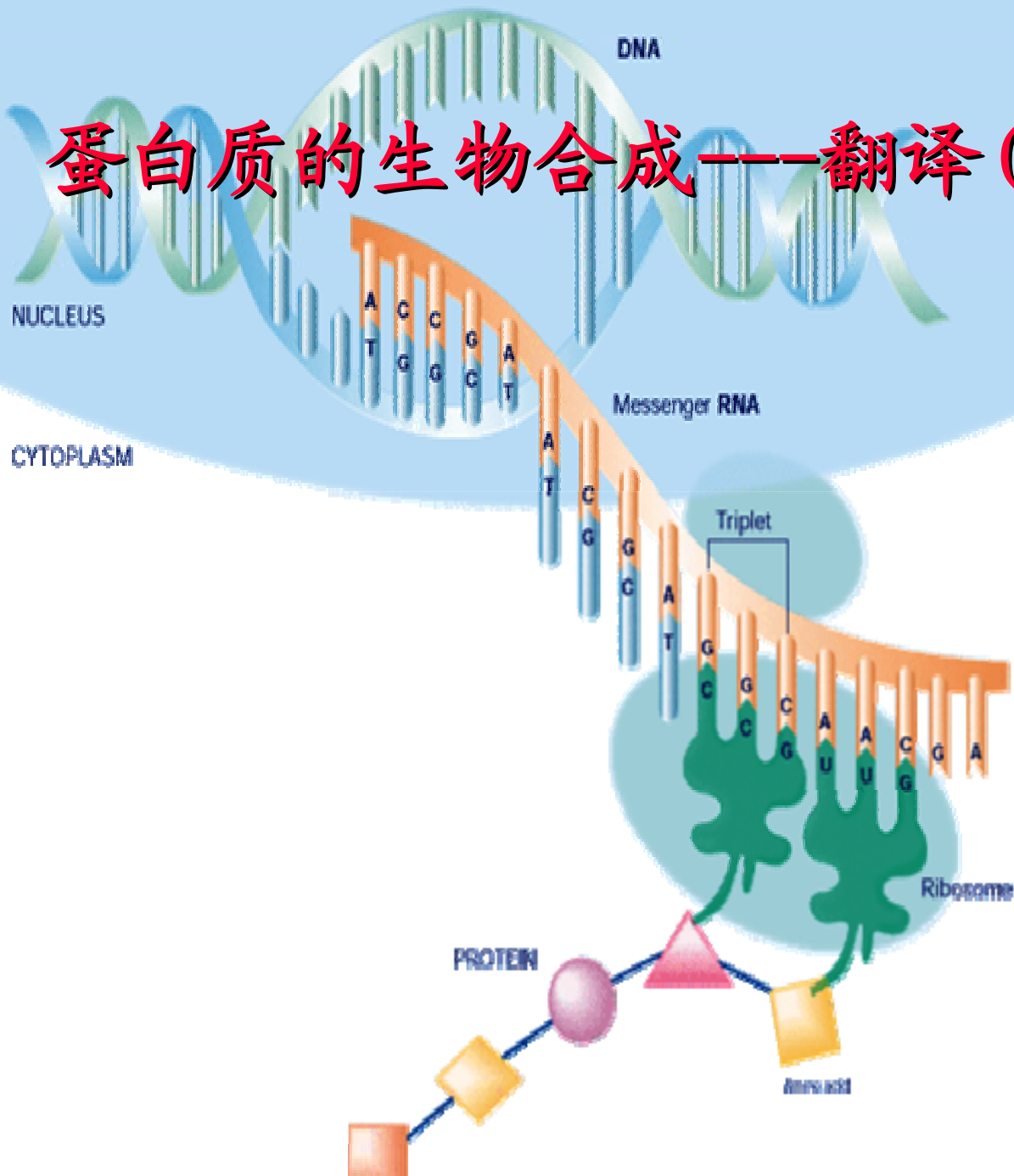


蛋白质的生物合成——翻译 (translation)



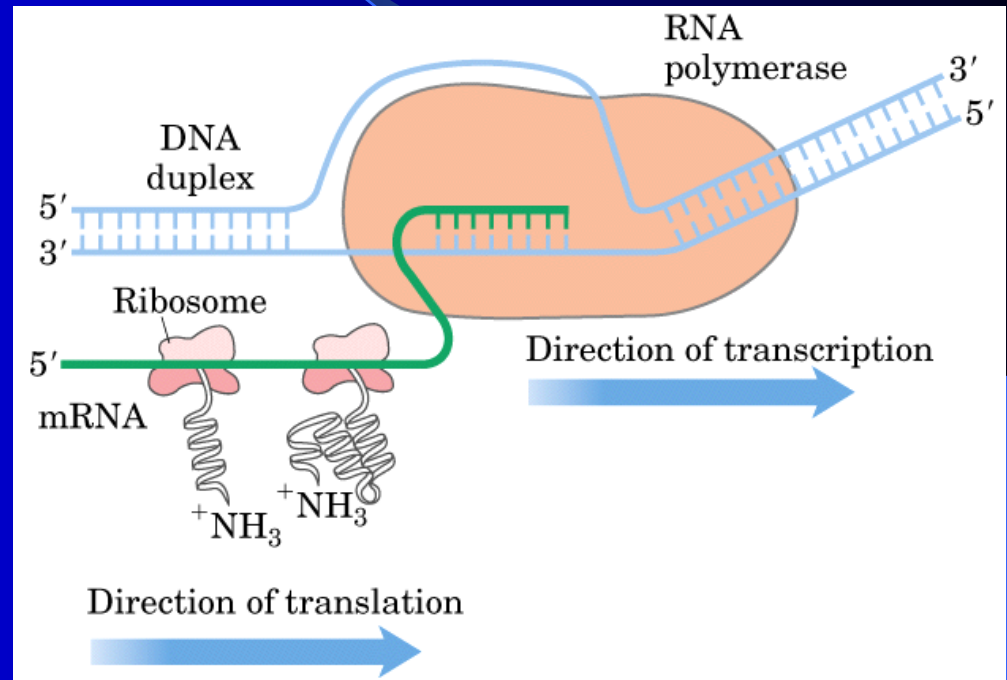
翻译（蛋白质的生物合成）：

- 以氨基酸为原料
- 以 *mRNA* 为模板
- 以 *tRNA* 为运载工具
- 以核糖体为合成场所
- 起始、延长、终止各阶段蛋白因子参与
- 合成后加工成为有活性蛋白质

第一节

参与蛋白质生物合成的物质

- 氨基酸
- mRNA
- tRNA
- 核糖体
- 酶及蛋白质因子
- ATP、GTP



一、 mRNA与遗传密码

- 遗传密码 (genetic code) - 共64个遗传密码

(DNA) mRNA 5' AUG UCC ACC GUA UAA 3'

蛋白质

Ser Thr Val

- 三联体 = 一个密码子/暗码子 ▶ 一个氨基酸
- 起始密码 ---- AUG
- 终止密码 ---- UAA/UGA/UAG

		Second letter of codon							
		U		C		A		G	
		U	C	U	C	U	A	U	G
First letter of codon (5' end)	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	

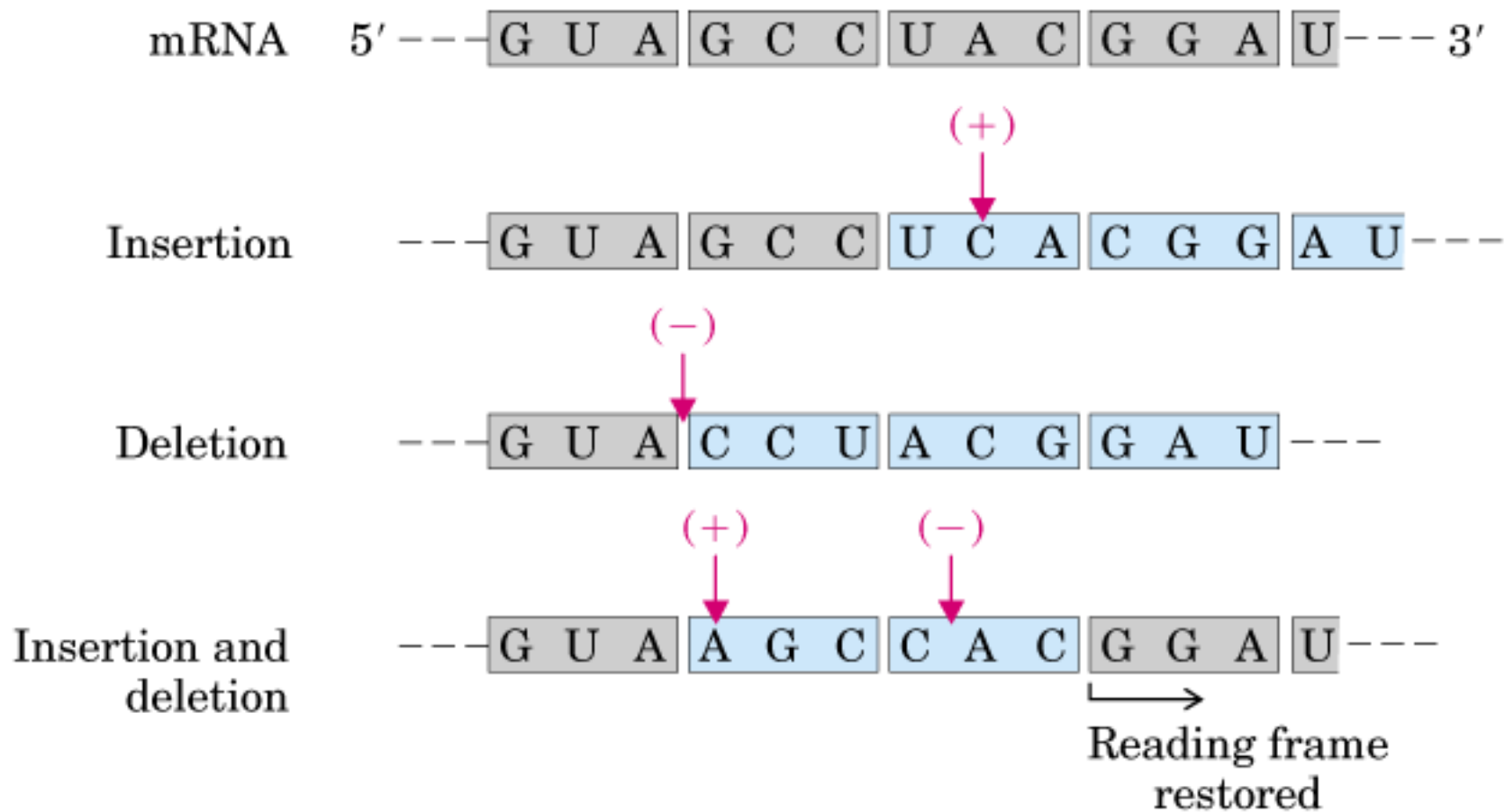
* 遗传密码的基本特点

● 方向性与无间隔性

- 连续阅读从mRNA 5' → 3'
肽链合成N端 → C端
- 阅读框移位 (frame shift) , 蛋白功能丧失

● 简并性

- 一个A. A有多个密码
- 密码上第一、二位上碱基不变, 第三位碱基可改变
- 如: UCU UCC UCA UCG
都代表Ser



- 兼职性

- AUG:
起始信号
Met的密码子

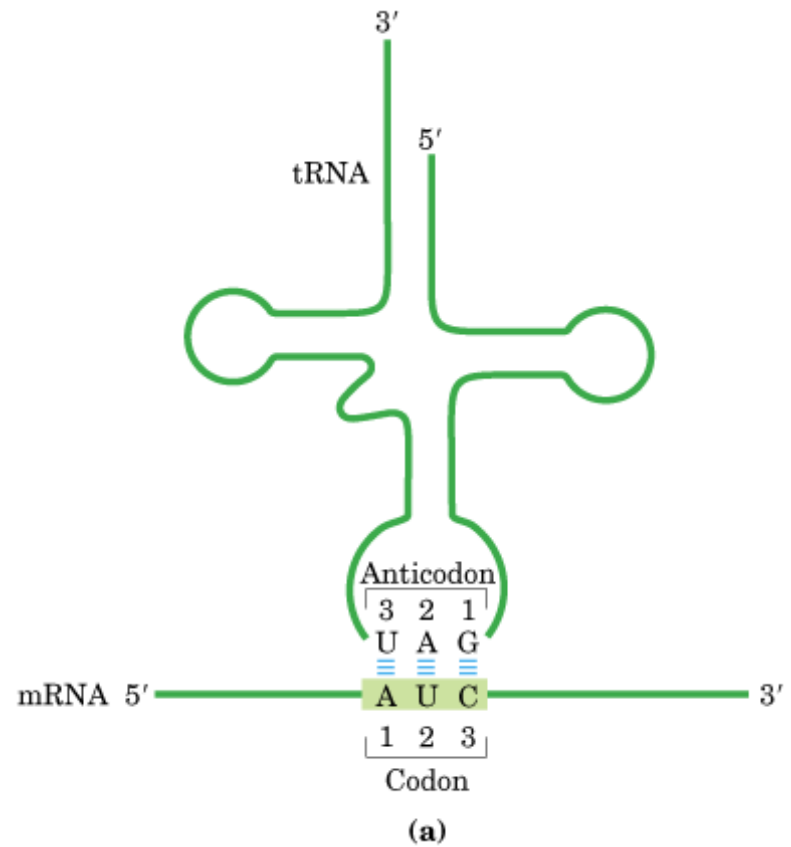
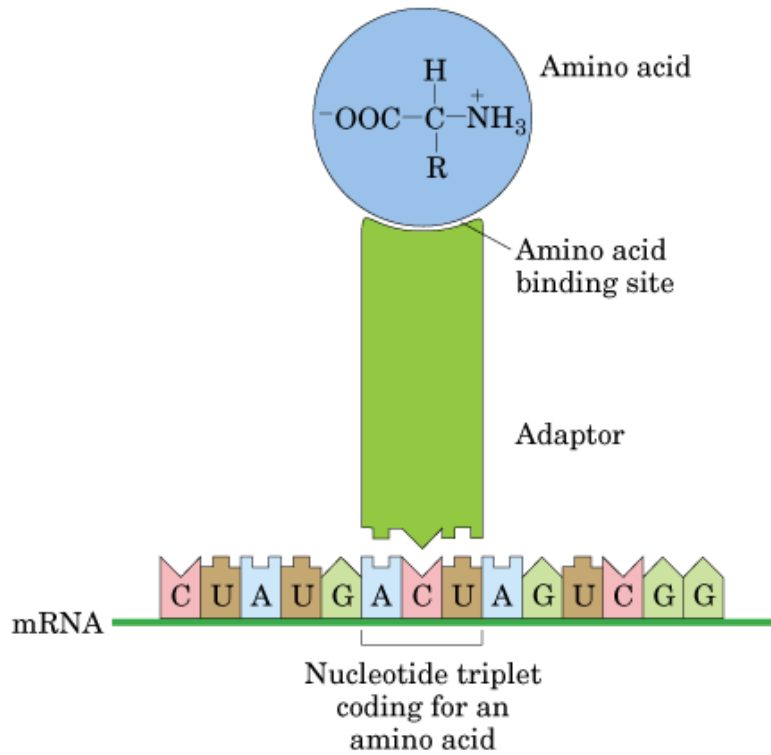
- 通用性

- 从最简单的生物（病毒）到人类，使用同一套遗传密码

二. 氨基酸的“搬运工具”-----tRNA

- 作用

- 是氨基酸的
特异“搬运工具”
1A.A----2~6特异 tRNA
- 起“接合器”作用
- 和 mRNA摆动配对



1、密码子与反密码子的摆动配对

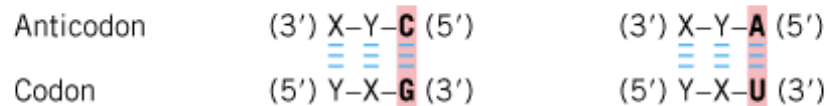
● 反密码子与密码子的相互作用

前二对 严格碱基配对

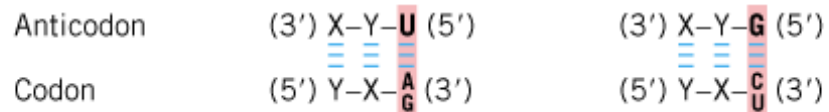
第三对 摆动配对

How the Wobble Base of the Anticodon Determines the Number of Codons a tRNA Can Recognize*

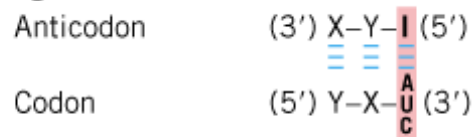
1. One codon recognized:

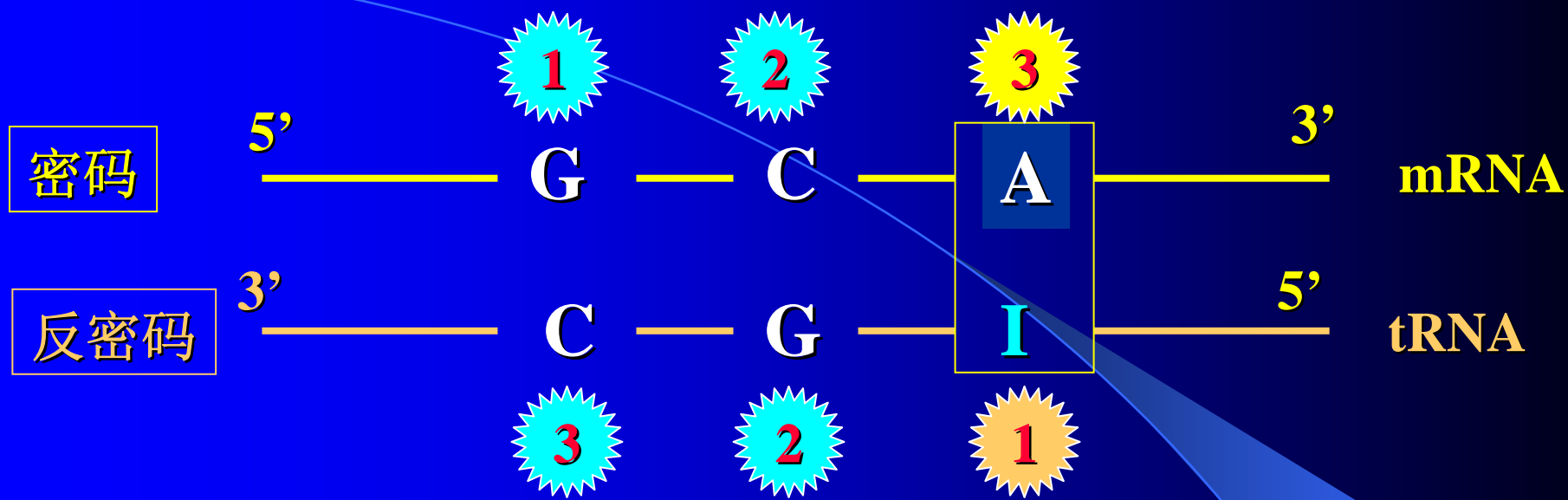


2. Two codons recognized:



3. Three codons recognized:





自由度的大小由tRNA反密码子第一位碱基的种类决定

tRNA的反密码子与mRNA分子上的密码子摆动配对

2、起始tRNA与普通tRNA

● 种类

- 起始tRNA—— $tRNA_{i}^{met}$
- 只能识别翻译起始信号AUG
- 只能结合于核糖体的肽位

- 普通tRNA—— $tRNA^{met}$
- 在翻译延长中发挥作用
- 只能结合于核糖体的氨基酰位

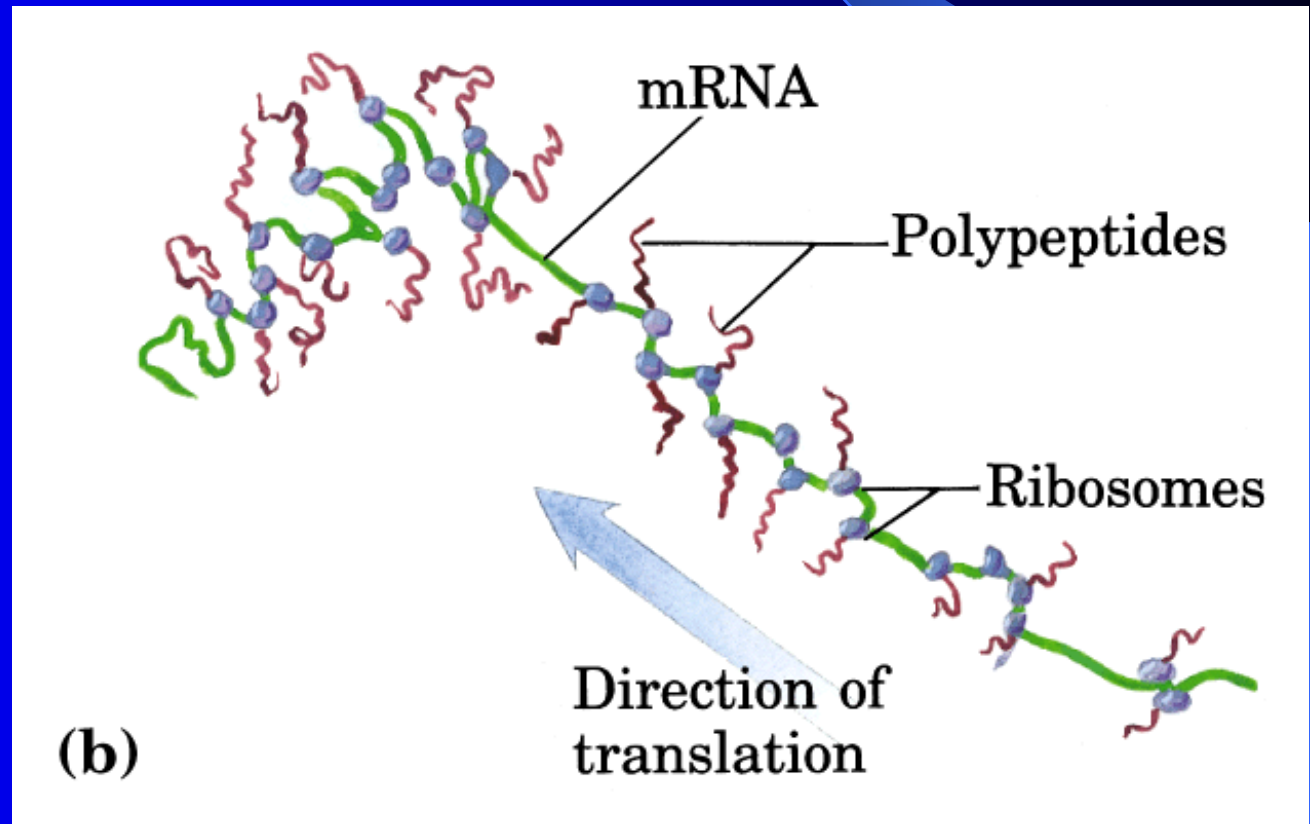
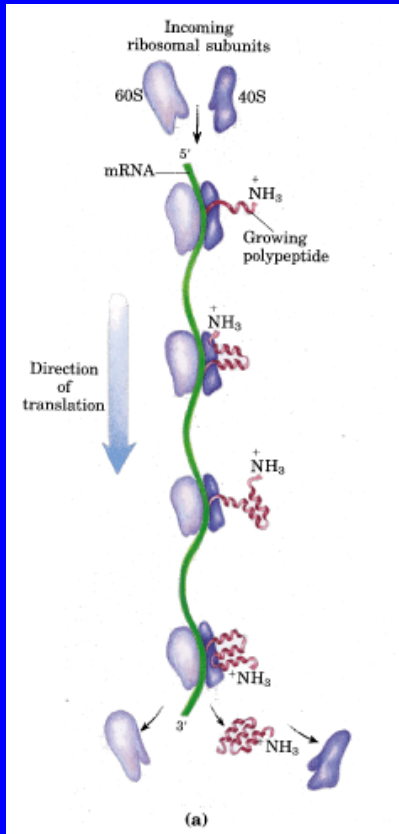
<ul style="list-style-type: none"> ● 原核生物 	
<ul style="list-style-type: none"> ● 起始tRNA ● 延长tRNA 	<ul style="list-style-type: none"> ● 起始密码只能辨认甲酰甲硫氨酸 (fMet) ● fMet-tRNA_i^{met} ● 延长识别 Met时为Met-tRNA^{met}
<ul style="list-style-type: none"> ● 真核生物 	
<ul style="list-style-type: none"> ● 起始tRNA ● 延长tRNA 	<ul style="list-style-type: none"> ● 起始密码只能辨认甲硫氨 (Met) ● Met-tRNA_i^{met} ● 延长识别Met时为Met-tRNA_e^{met}

三、 肽链合成的“装配机”——核糖体

<ul style="list-style-type: none">● 核糖体结构	<ul style="list-style-type: none">● 由大小二亚基组成● 给位 (P位, 肽位) : 起始时, $tRNA_{i}^{met}$ 结合于核糖体的肽位 延长成肽后, 肽链转到此位。● 受位 (A位, 氨基酰位) : 延长成肽时, 氨基酰tRNA就加入此位。
<ul style="list-style-type: none">● 核糖体种类 (胞质中)	<ul style="list-style-type: none">● 游离的核糖体——合成细胞固有蛋白● 与粗面内质网结合的核糖体 ——合成带有信号肽的分泌性蛋白质



- 多核糖体
- 一条mRNA链上同时具有许多个核糖体
(每隔80核苷酸有一个核糖体)
- 一条mRNA可同时合成多条多肽链



四、可溶性蛋白质因子

● 起始因子	● initiation factors IF ● eukaryote initiation factors eIF
● 延长因子	● elongation factors EF ● eukaryote elongation factors eEF
● 释放因子	● release factors RF

五、 能量与酶

ATP 、 GTP , 多种酶

第二节 蛋白质合成的过程

- 原核生物
 - 氨基酸的活化与转运
 - 肽链合成的起始
 - 肽链的延长
 - 肽链合成的终止
 - 蛋白质的加工、修饰
- “核糖体循环”

一、氨基酸的活化与转运

<ul style="list-style-type: none">● 酶	<ul style="list-style-type: none">● 氨基酰tRNA合成酶● 绝对专一性 1个A. A 1个氨基酰tRNA合成酶
<ul style="list-style-type: none">● 催化反应	<ul style="list-style-type: none">● 活化A. A——活化“-COOH” 消耗2个ATP● 活化A. A+tRNA → 氨基酰tRNA

- 酶的两个位点

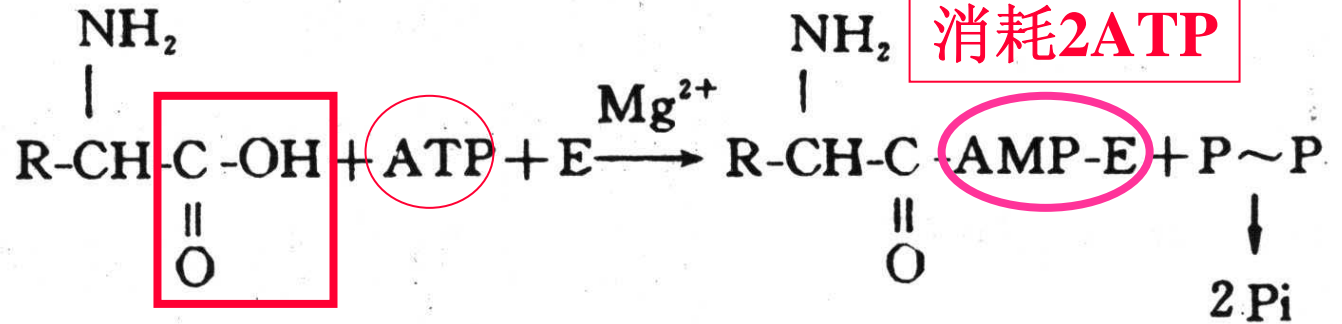
- 结合位点

- 结合正确的A. A \longrightarrow 活化

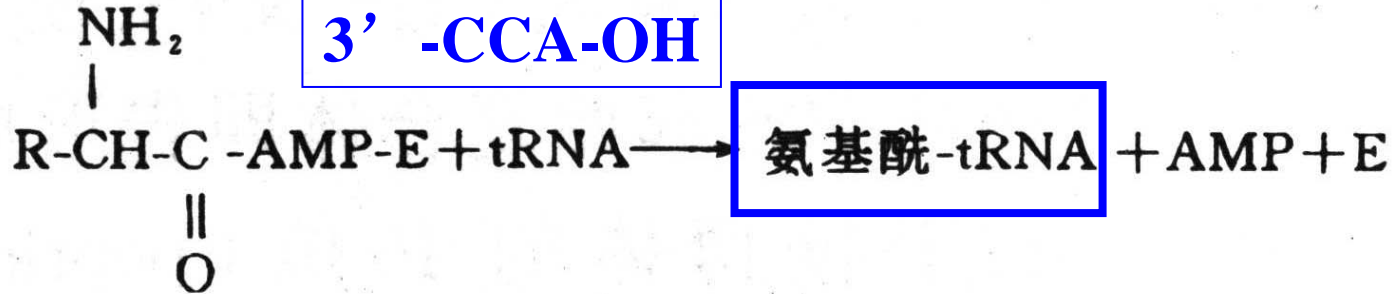
- 水解位点

- 保证A. A序列的正确性

第一步反应



第二步反应



第二步反应

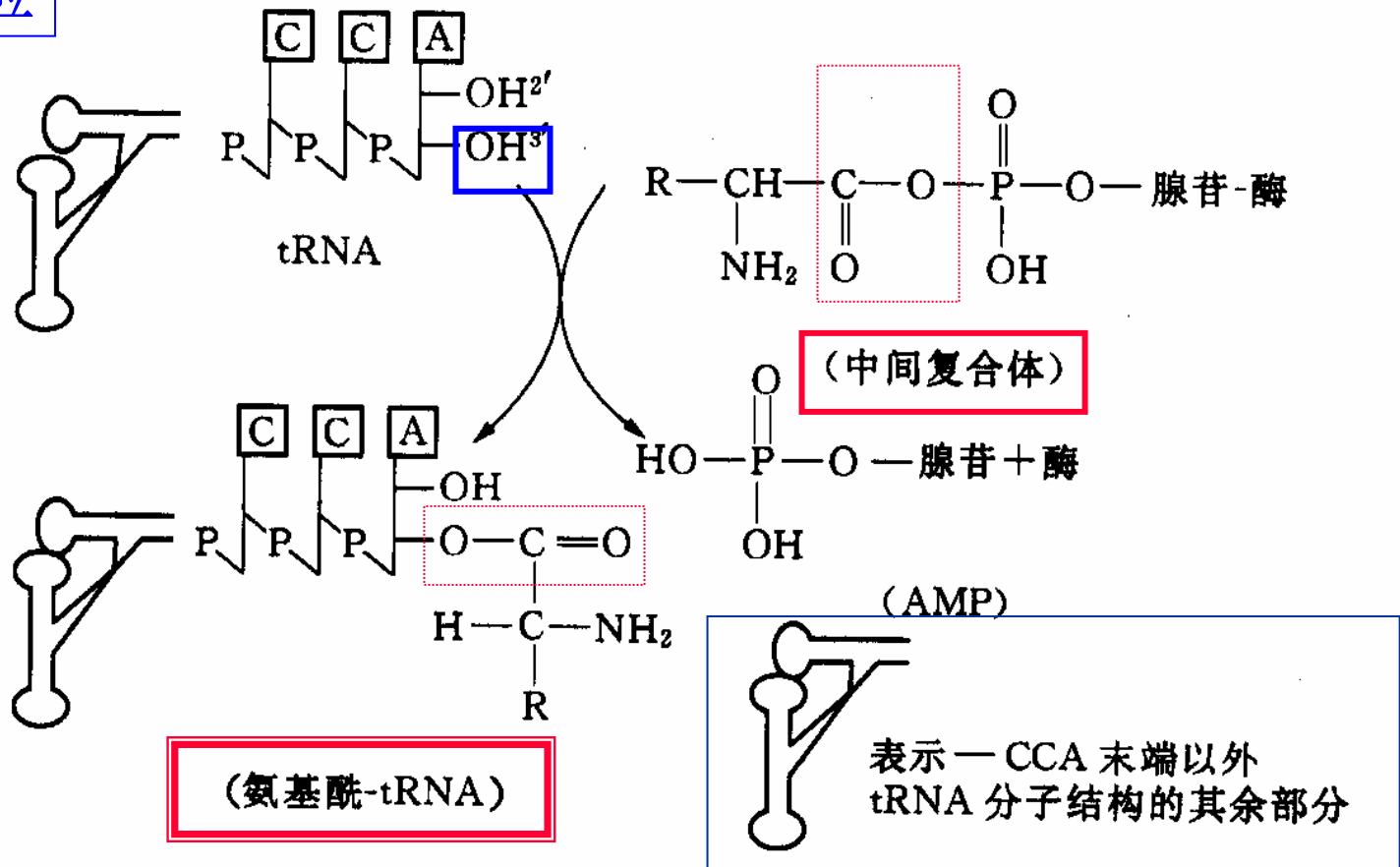


图 14-2 氨基酰 tRNA 的生成

二、肽链合成的起始

◀ 所需的条件

- 游离的核糖体大小亚基
- mRNA 5'端的起始信号
- 起始tRNA-- $tRNA_i^{met}$
- GTP
- 三种可溶性起始因子 (IF)

◀ 三种起始因子

● IF₁

● 辅助IF₃

● IF₂

● 有GTP酶活性

● 特异识别fmet-tRNA_i^{met}

● 形成fmet-tRNA_i^{met}-IF₂-GTP

● IF₃

● 促进30S小亚基结合mRNA

● 终止时：促使核糖体解离

◀ 30s起始复合物形成

1. 核糖体亚基的拆离

2. mRNA在小亚基上就位

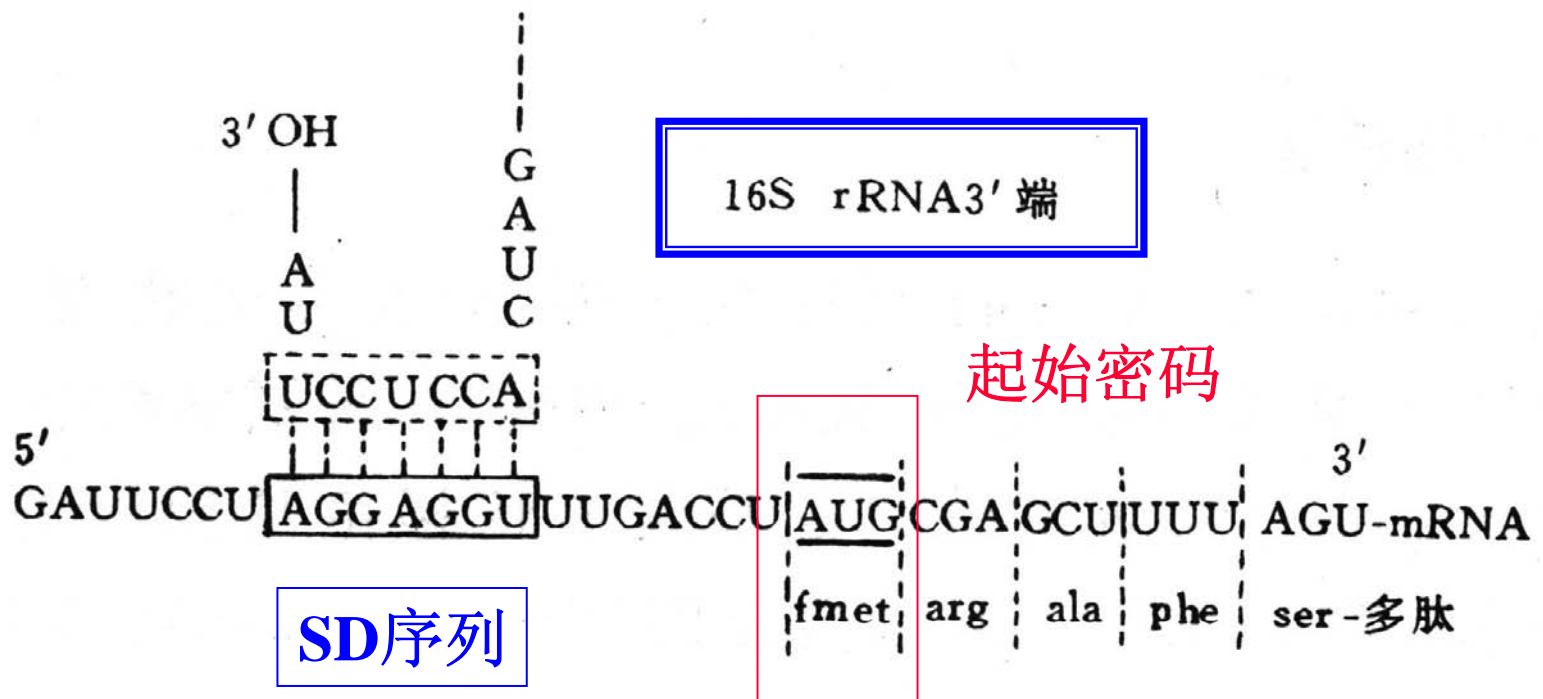
- 起始序列 (SD 序列)
- 30S小亚基与mRNA识别、结合
- IF₁、IF₃协助

3. fmet-tRNA_f^{met}的结合

- fmet-tRNA_f^{met} - IF₂ - GTP
通过其反密码与mRNA上的起始密码AUG相配对

SD序列 (shin-e-Dalgarno序列): ---原核生物

1. 位于起始密码上游25个核苷酸,
2. 序列富含嘌呤(如AGGA /GAGG)的一段序列。
3. 能和原核生物16s rRNA相应的富含嘧啶序列互补。
4. 在IF₃、IF₁促进下和30S亚基结合。



mRNA 的 Shine-Dalgarno 序列与 16S rRNA 3' 端碱基配对
 (此 mRNA 编码 R17 噬菌体 A 蛋白质)

◀ 70s起始复合物形成

1. IF₃脱落

2. 50S大亚基结合

3. GTP \longrightarrow GDP+P_i

4. IF₂、IF₁脱落

◀ 70s起始复合物组成

1. 大小亚基

2. mRNA

3. fmet-tRNA_i^{met}
(结合于核糖体的
给位<肽位>)

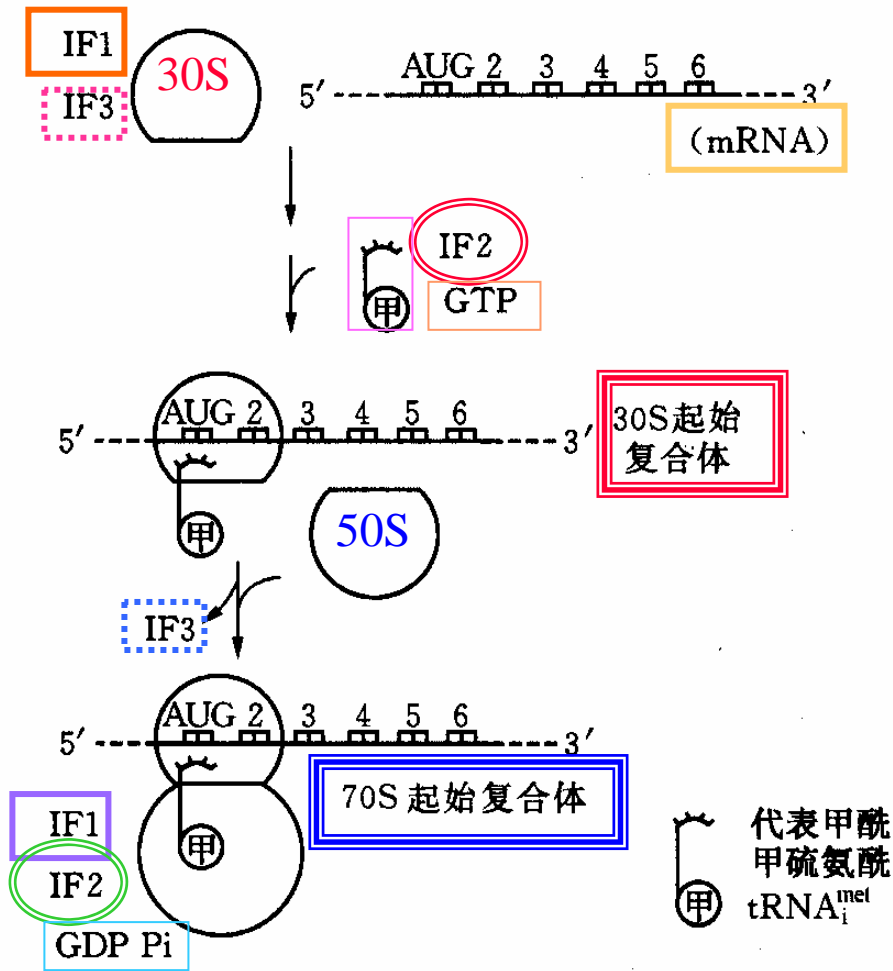
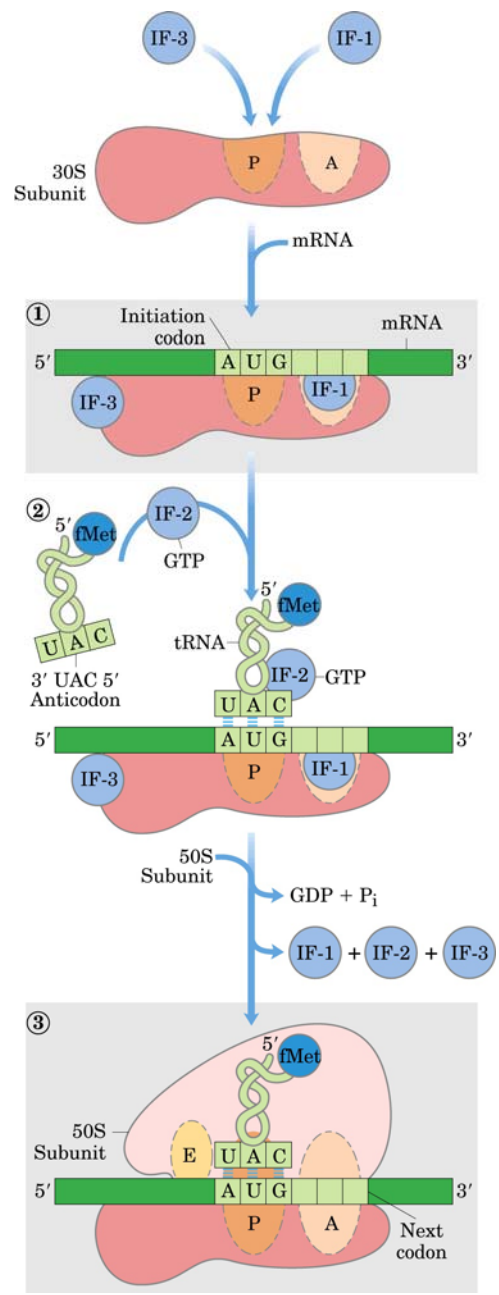


图 14-3 原核生物蛋白质合成的起始

IF1、IF2、IF3 为三种不同的起始因子



三. 肽链的延长（进位、成肽、移位）

◀ 所需的条件

- 70S起始复合物
- 延长tRNA转运氨基酸
- 延长因子(EF)
- GTP

1. 进位

氨基酰-tRNA根据遗传密码的指引，进入核糖体的受位。

<ul style="list-style-type: none">● 参与的延长因子	
<ul style="list-style-type: none">● EF-Tu	<ul style="list-style-type: none">● 协助AA-tRNA进入受位 具有GTP酶活性
<ul style="list-style-type: none">● EF-Ts	<ul style="list-style-type: none">● 促进EF-Tu的再利用

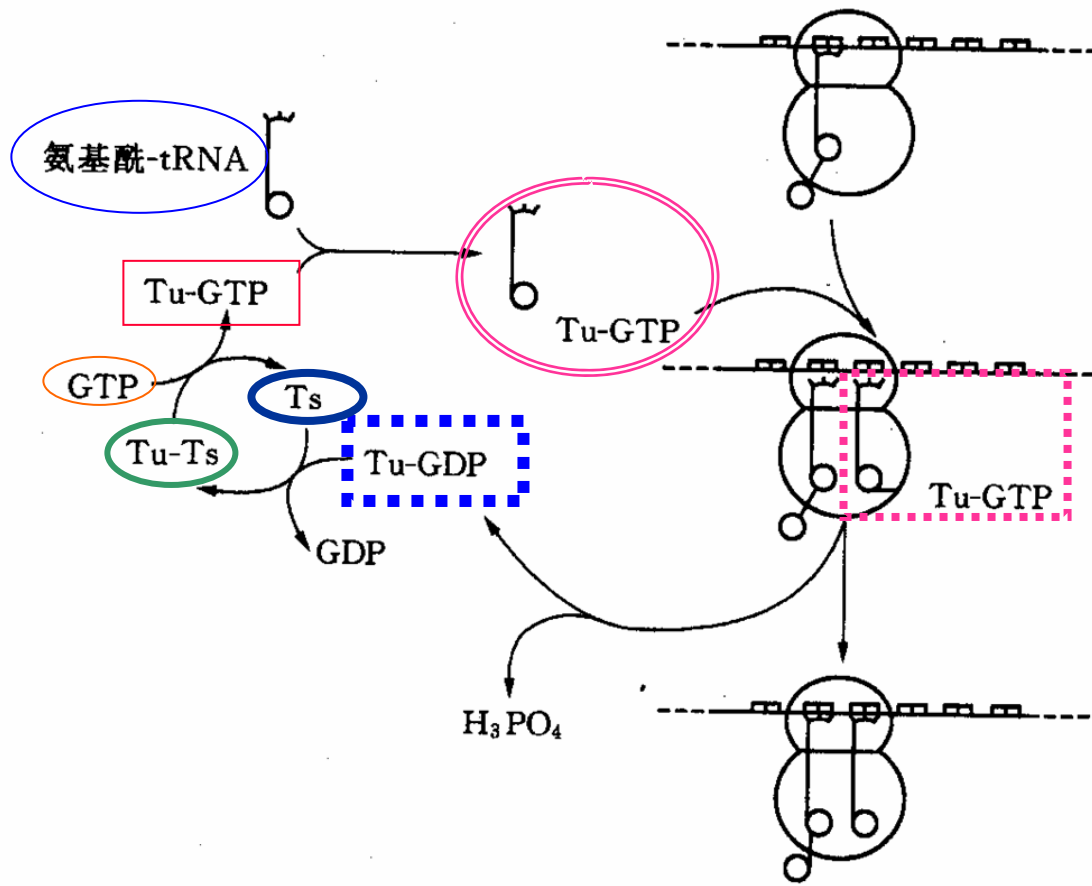
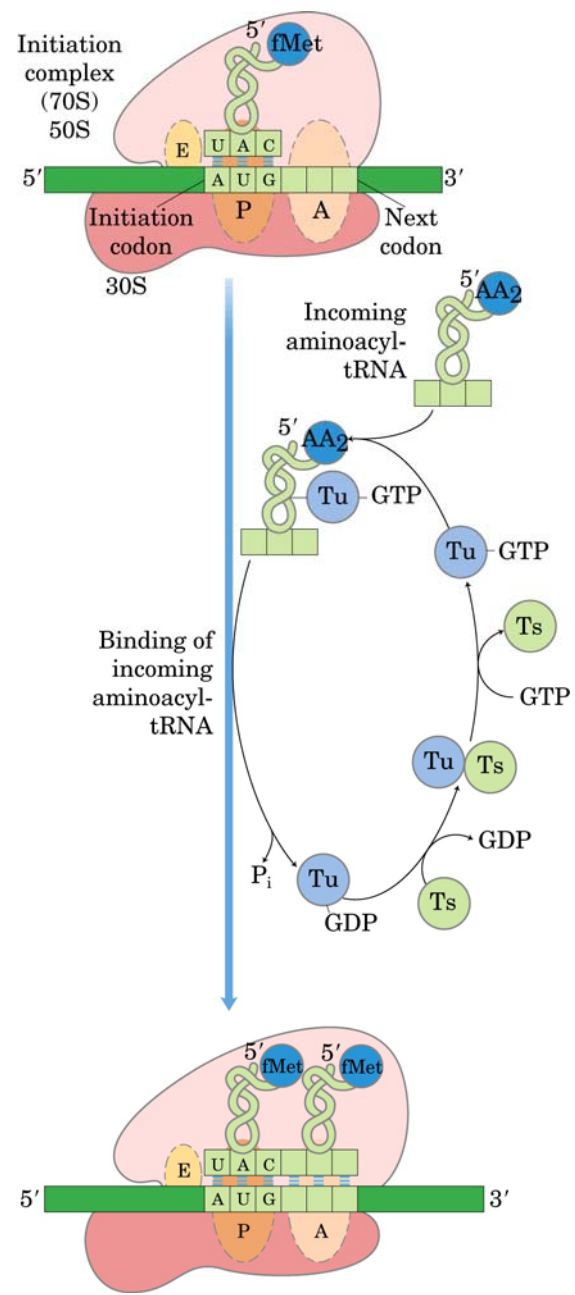


图 14-5 原核生物肽链延长因子 EFTu 与 EFTs 的作用原理



2. 转肽

● 酶	● 转肽酶（大亚基）催化形成肽键
● 肽键	● 给位：f-met-（肽酰）的 $\alpha\text{-COO}^-$ + 受位：氨基酰的 $\alpha\text{-NH}_4^+$ ↓ 形成肽键
● 位置	● 受位：反应在此位上进行 （给位上的f-met退至受位） 生成的二肽在受位上。 ● 给位：无负载tRNA

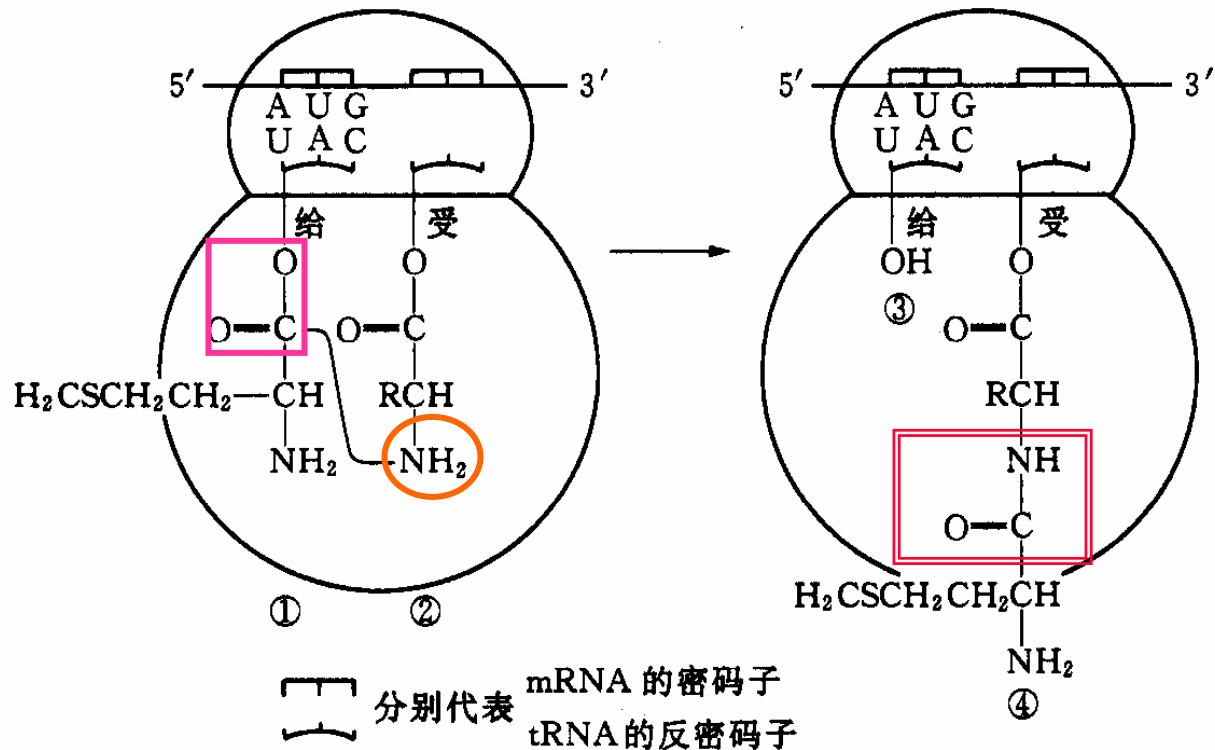


图 14-6 肽键的形成

①核糖体给位上的甲酰甲硫氨酰 tRNA^{met} (或肽酰 tRNA); ②核糖体受位上新进入的氨基酰 tRNA; ③失去甲酰甲硫氨酰 (或肽酰) 后, 即将在核糖体上脱落的 tRNA; ④接受甲酰甲硫氨酰 (或肽酰) 后, 携带肽链的 tRNA。

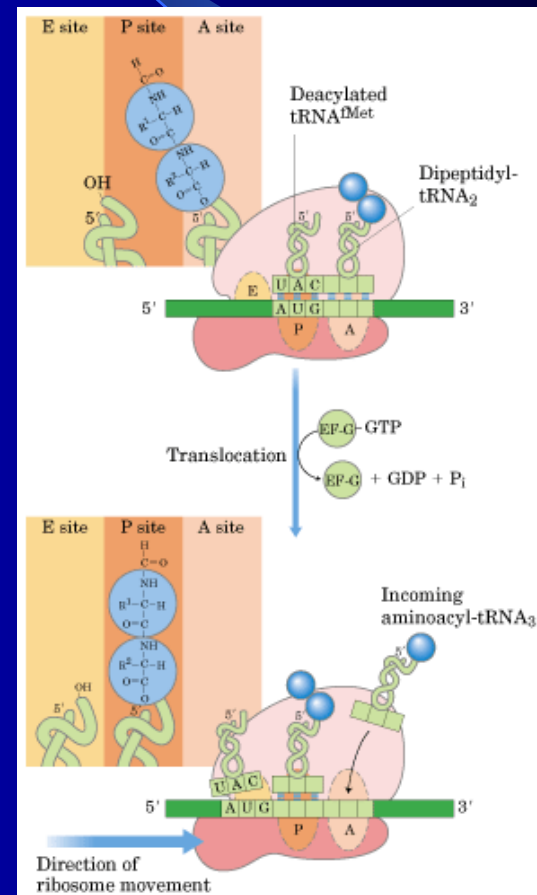
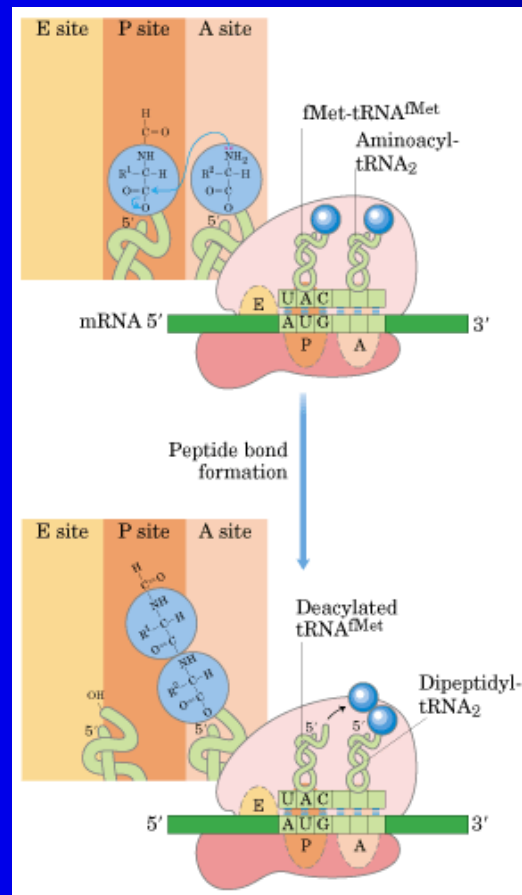
3. 移位

在受位的二肽链连同mRNA从受位进入给位

● 酶	<ul style="list-style-type: none">● 转位酶——EFG● 有GTP酶活性● 协助mRNA前移, 游离tRNA释放
● 位置	<ul style="list-style-type: none">● 给位: 肽-tRNA-mRNA● 受位: 空留, 下一个AA进入
● 方向	<ul style="list-style-type: none">● mRNA: 从5' → 3' 移动● 1个带有肽链的tRNA: 从受位 → 给位● 肽链合成: 从N端 → C端延长

4. 脱落:

给位上无负载的tRNA在肽键形成前从E位脱落。



5. 延长的特点:

<ul style="list-style-type: none">● “摇摆前进”	<ul style="list-style-type: none">● 保证蛋白质合成的连续性。● 防止肽酰tRNA脱落形成无活性的未成熟蛋白质。
<ul style="list-style-type: none">● 延长时的能量	<ul style="list-style-type: none">● 每合成一个肽键，消耗4个高能磷酸键● 活化：2个ATP● 进位：1个GTP● 移位：1个GTP

四. 肽链合成的终止

● 终止密码的辨认	● UAA、UAG、UGA
● 肽链从肽酰-tRNA水解出	● $GTP \longrightarrow GDP + P_i$
● mRNA从核糖体中分离及大小亚基的拆开	● IF_3 结合30小亚基
● 蛋白质因子的参与	● RF_1 : 作用于UAA、UAG ● RF_2 : 作用于UGA ● RF_3 : 促进释放 结合GTP/GTP酶活性

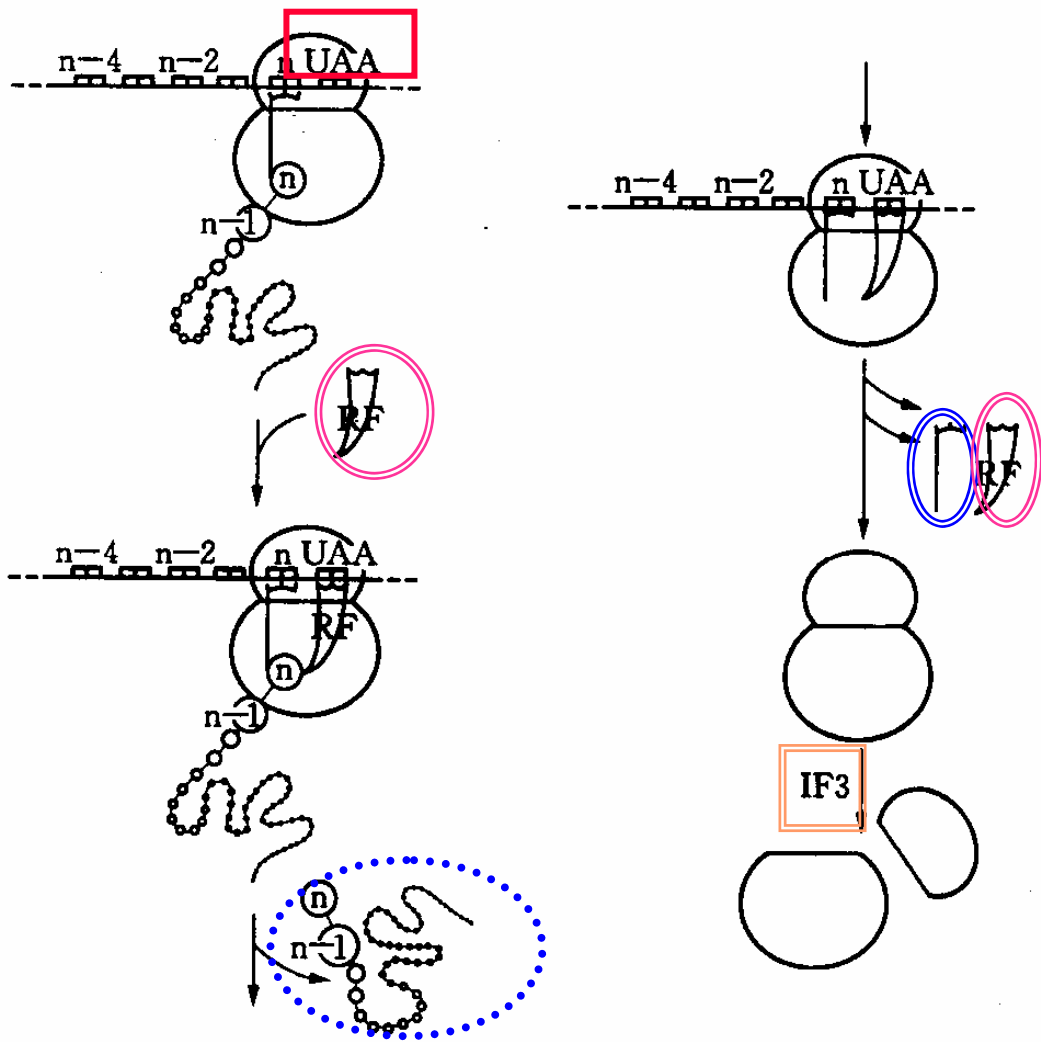
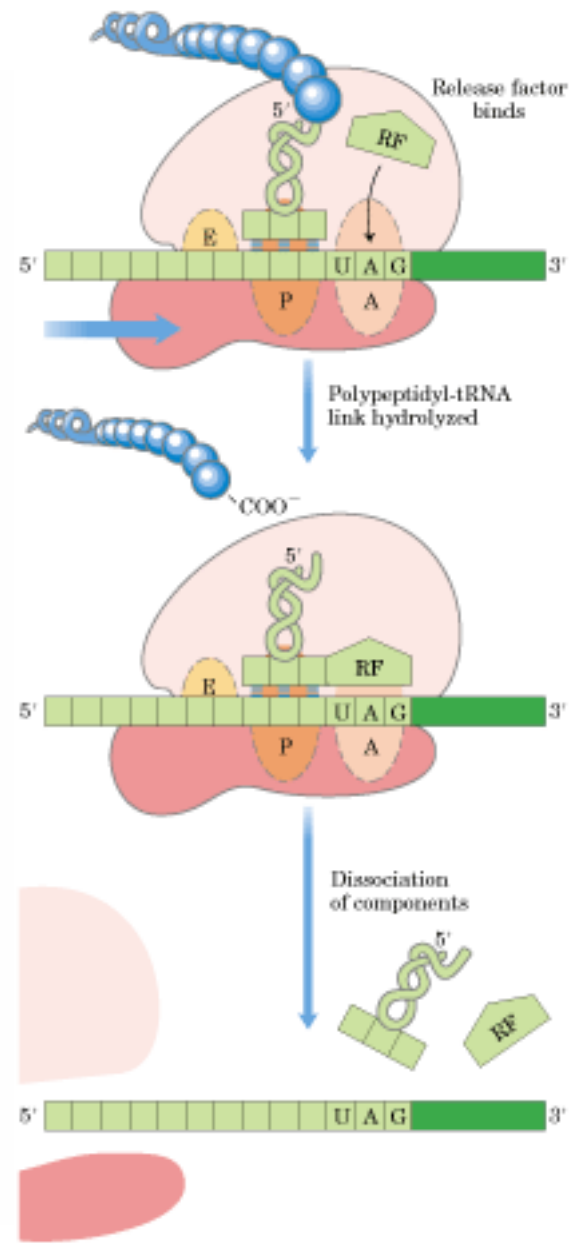


图 14-7 肽链合成的终止

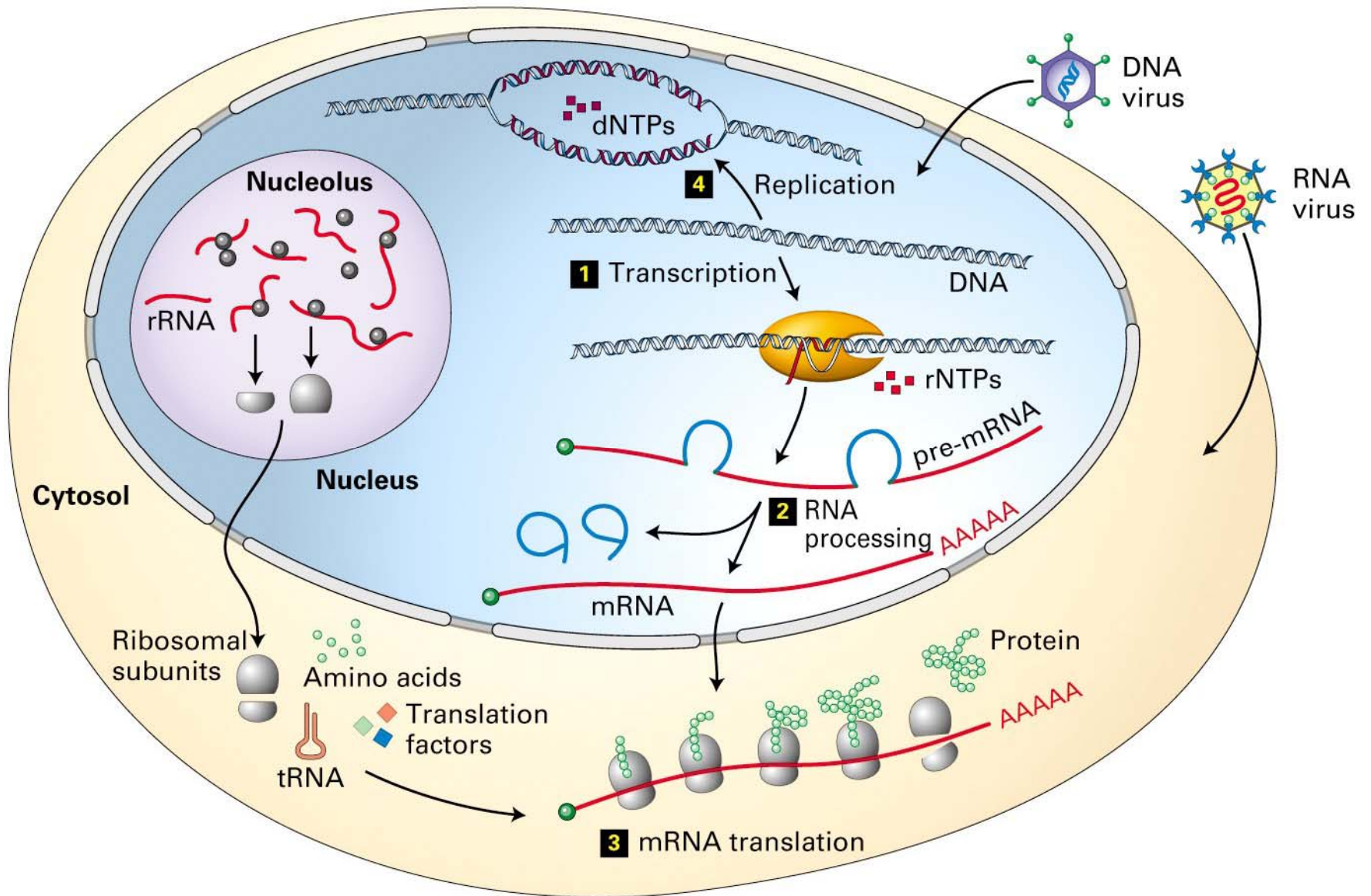


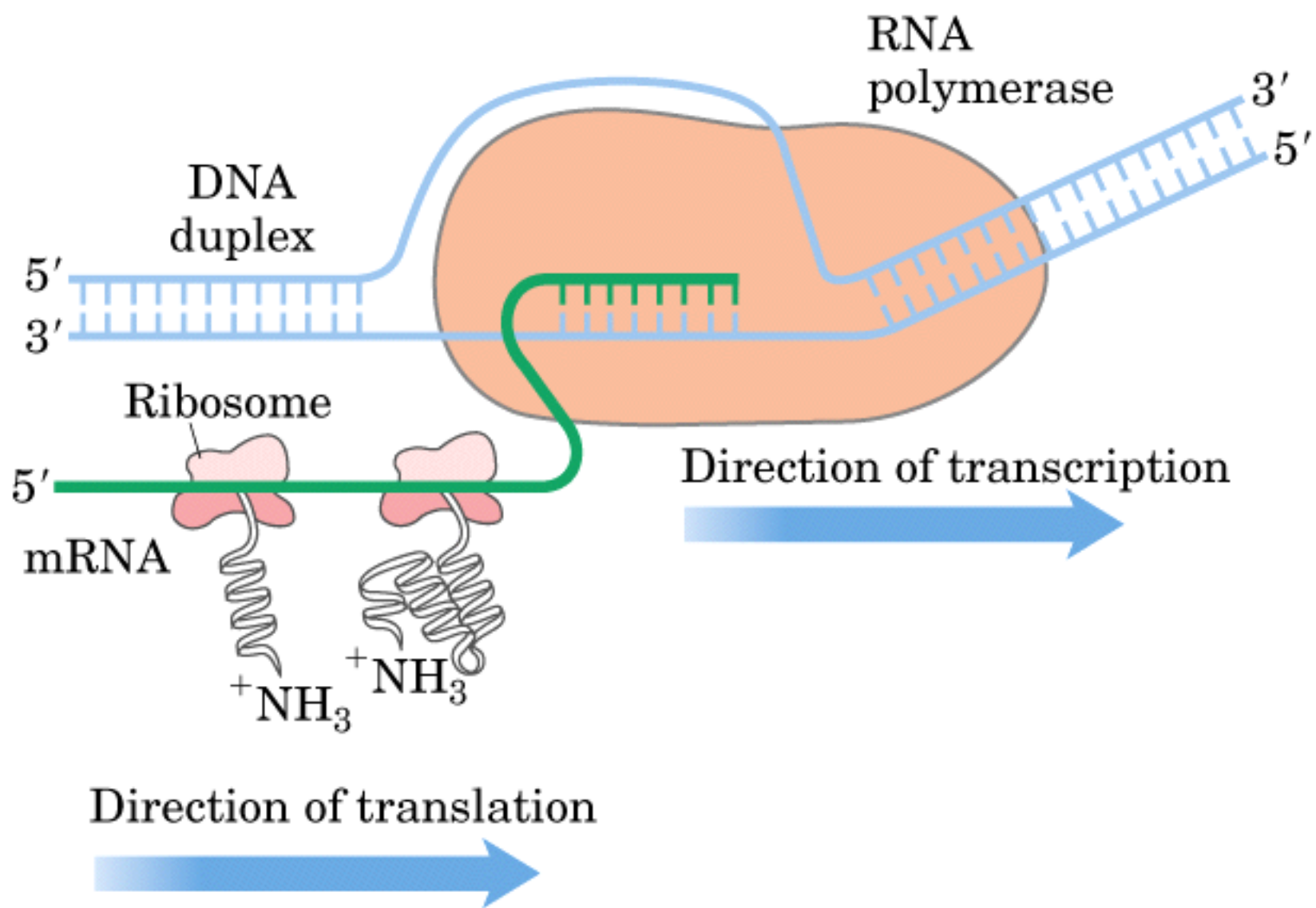
五. 真核生物翻译的特点:

	● 真核生物	● 原核生物
● 遗传密码	● 相同	● 相同
● 转录与翻译	● 不偶联, mRNA的前体要加工	● 偶联
● 起始因子	● 多、起始复杂	● 少
● mRNA	● 5'端: 帽子 ● 3'端: 尾巴 ● 单顺反子	● 无需加工 ● 多顺反子 ● 5'端: SD序列

五. 真核生物翻译的特点:

	● 真核生物	● 原核生物
● 核糖体	● 大而复杂	● 简单
● 起始tRNA	● Met-tRNA _i ^{met}	● fmet-tRNA _i ^{met}
● 合成过程	<ul style="list-style-type: none"> ● 需ATP ● 起始因子多 ● 延长因子少 (EFT₁、EFT₂) ● 一种释放因子 	<ul style="list-style-type: none"> ● 需ATP、GTP ● IF₁、IF₂、IF₃ ● EF-TU、EF-TS、EFG ● RF₁、RF₂、RF₃
● 线粒体	● 独立的蛋白质合成系统	





第三节 翻译后加工

一级结构的修饰:	
● N-端Met (fMet) 去除	
● 二硫键的形成	
● 个别氨基酸的修饰	<ul style="list-style-type: none">➤ 羟化作用: 羟脯氨酸 羟赖氨酸➤ 酶活性中心的磷酸化
● 蛋白质前体中不必要肽段的切除	<ul style="list-style-type: none">➤ 分泌性蛋白
● 多蛋白的加工	<ul style="list-style-type: none">➤ 一条合成后的多肽链经加工产生多种不同活性的蛋白质/多肽

● 分泌性蛋白的加工

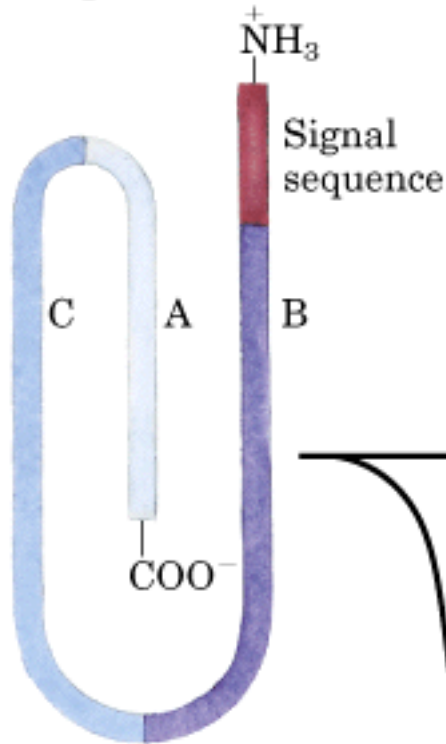
➤ 分泌性蛋白合成时带有“信号肽” (signal peptide)

➤ 有些蛋白质前体在合成结束后仍需切除其他肽段

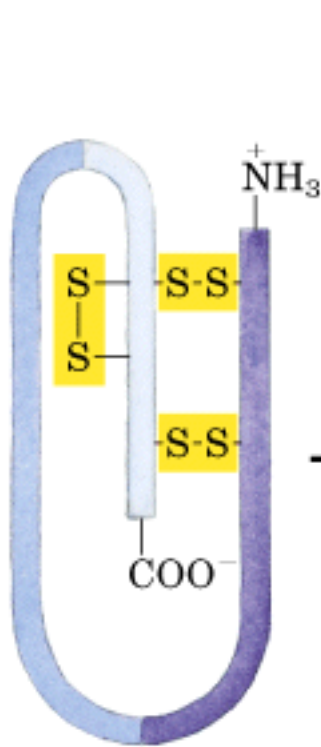
例如：胰岛素的加工

► 胰岛素的加工过程

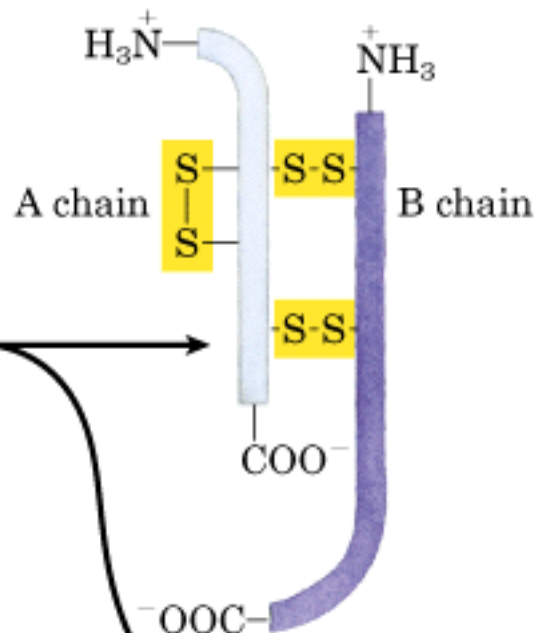
Preproinsulin



Proinsulin



Mature insulin



Signal sequence

C peptide

带有信号肽的分泌性蛋白的加工、分泌的过程

胞浆

带有信号肽的分泌蛋白

粗面内质网

信号肽颗粒识别、结合

通道识别

信号肽酶切除信号肽

高尔基体

肽链合并

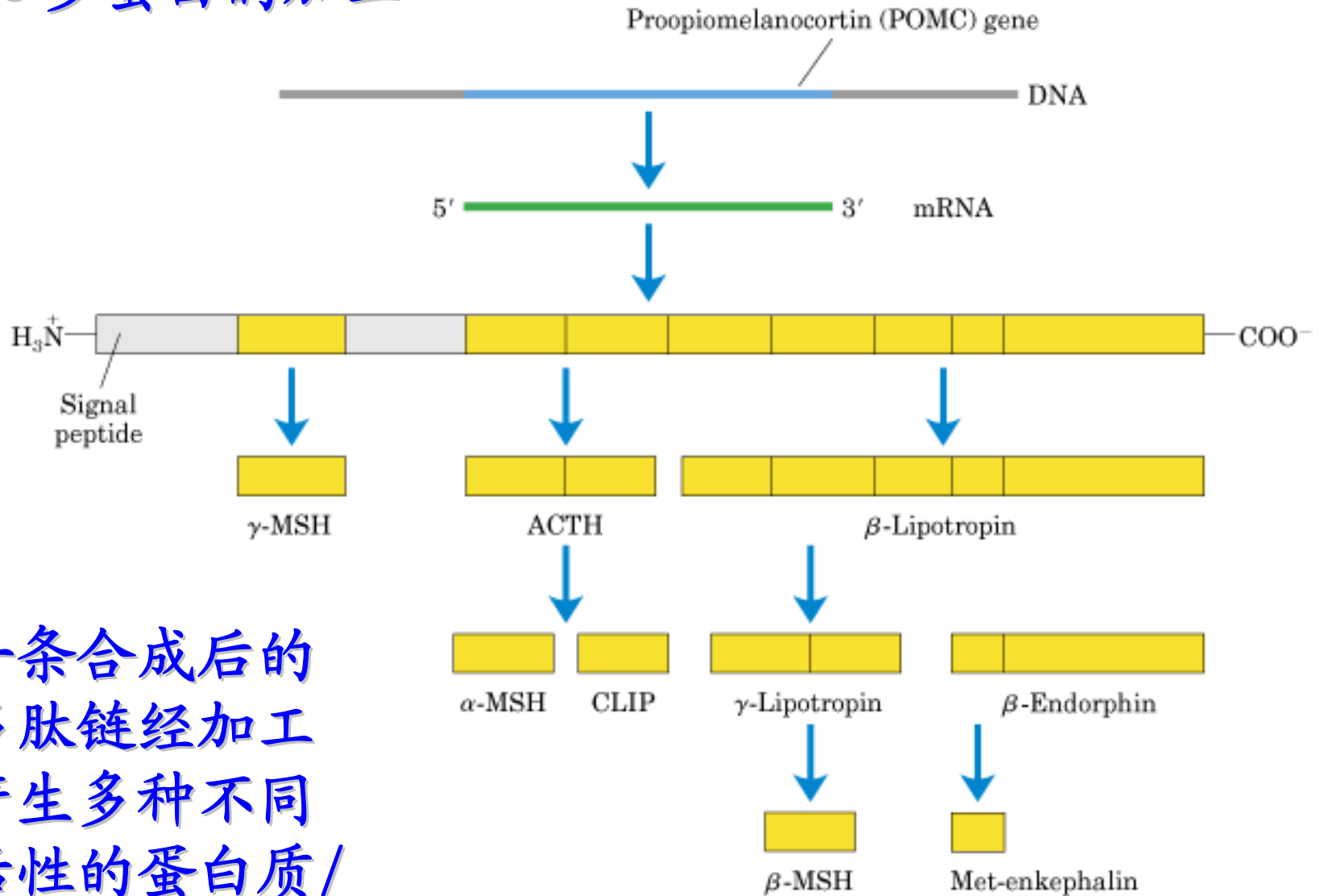
进一步加工

分泌出胞外

➤ 信号肽(signal peptide):

- (1) 在真核生物未成熟分泌性蛋白质中,可被细胞转运系统识别的特征性氨基酸序列,约15-30 AA(含疏水AA较多)。
- (2) 作用: 把合成的蛋白质移向粗面内质网膜
与粗面内质网膜结合(信号肽颗粒识别、结合)
把合成的蛋白质送入粗面内质网膜
- (3) 信号肽对靶向输送有决定作用。

● 多蛋白的加工



一条合成后的
多肽链经加工
产生多种不同
活性的蛋白质/
多肽

高级结构的修饰:

- 亚基的聚合

- HbA亚单位聚合

- 结合蛋白质的合成

- 糖蛋白的合成

- 辅基连接

- 辅基(辅酶)与肽链的结合

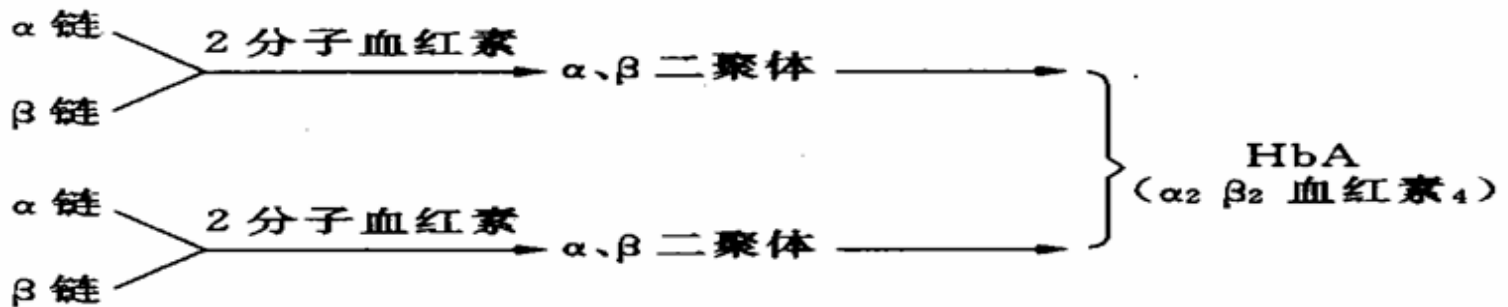
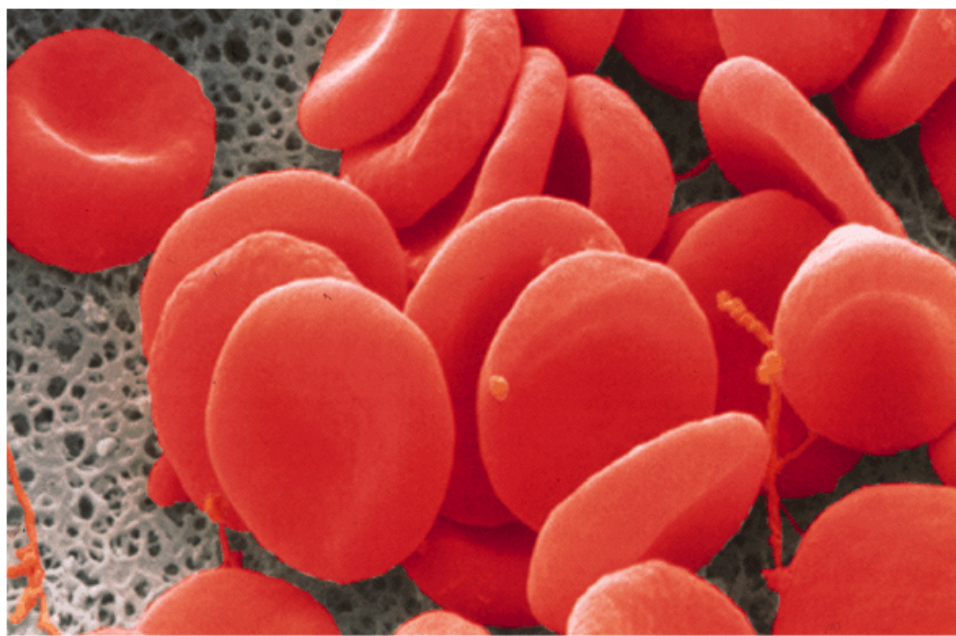


图 14-8 血红蛋白(HbA)的聚合过程

第四节 蛋白质合成与医学

一、分子病：

- 蛋白质分子中氨基酸序列异常的遗传病。
- 例如：镰刀红细胞贫血
- 原因：DNA中出现了一个碱基突变。



(a)

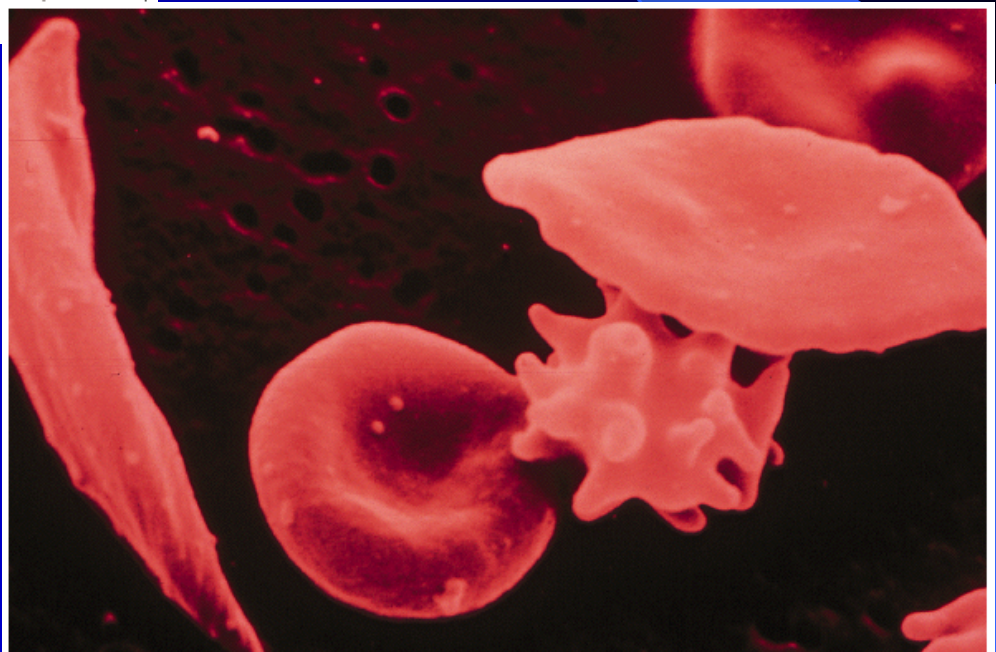
HbS: β 链N端第6个
氨基酸为Val

导致: HbS携氧能力
下降, 缺氧时RBC呈
镰刀状, 脆性增
加, 溶血

正常人

Hb (HbA):

β 链N端第6个
氨基酸为Glu



(b)

二、蛋白质生物合成的阻断剂

1、抗菌素类阻断剂（表14-5）

2、作为蛋白质合成阻断剂的毒素

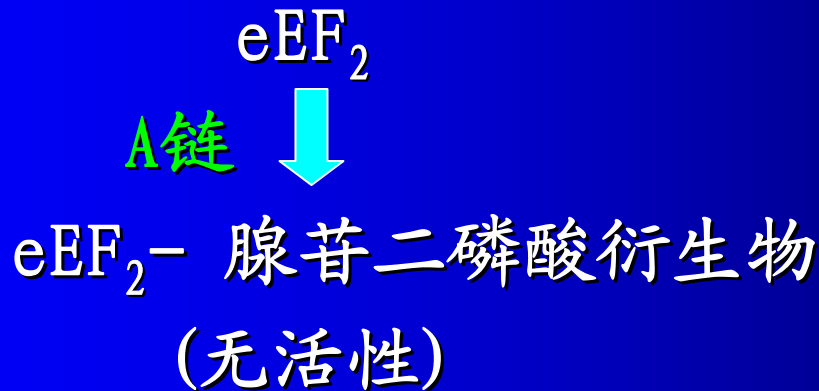
● 细菌毒素----白喉毒素

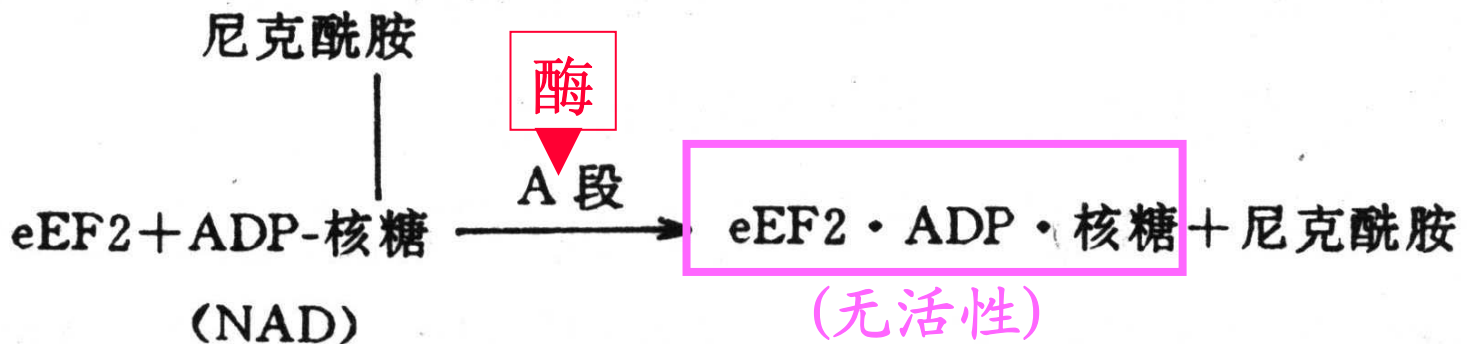
➤ 对真核生物有剧毒的毒素，

➤ 抑制蛋白质的合成。

● 白喉毒素

- 白喉杆菌产生的毒蛋白，A、B两条链组成。
- 本质：
A链——修饰酶
B链——识别受体，协助A链
- 作用机制：





(eEF₂的作用相当于EFG)

白喉杆菌素的作用机制

3、作为蛋白质合成阻断剂的其他蛋白质类物质

(1) 干扰素 (interferon)

● 干扰素

真核细胞感染病毒后分泌的具有抗病毒作用的蛋白质，抑制病毒的繁殖。

● 干扰素的抗病毒机制：



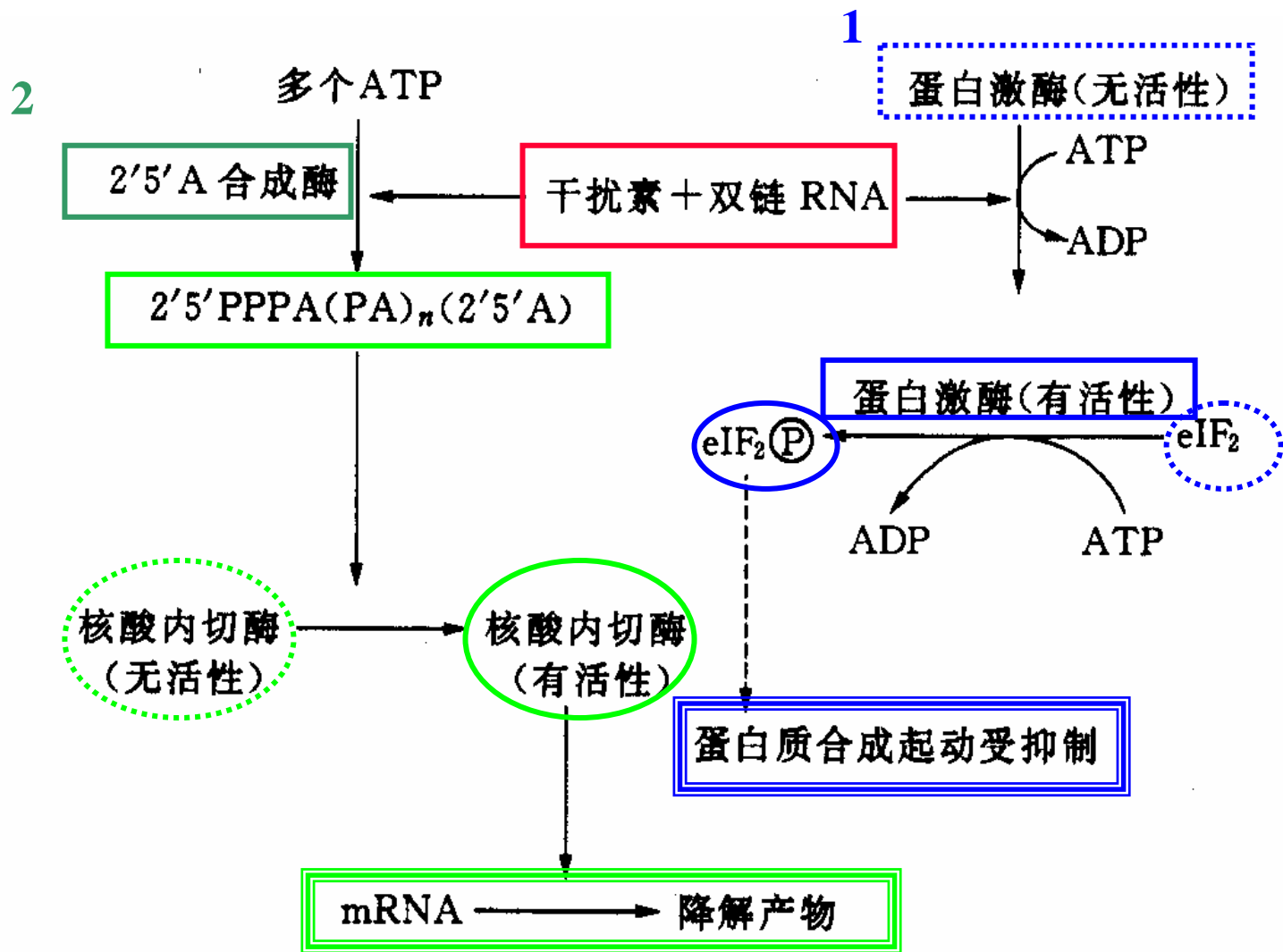
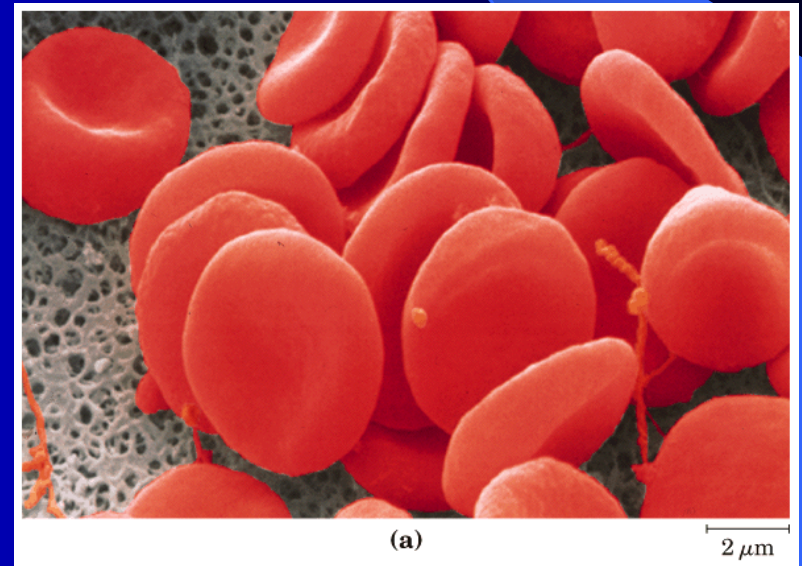


图 14-9 干扰素的作用原理

(2) eIF₂蛋白激酶

- 缺铁性贫血是网织红细胞蛋白合成障碍
- 机制： eIF₂蛋白激酶活化

eIF₂磷酸化



正常时： $eIF_2-GDP \xrightarrow{GEF} eIF_2-GTP$

缺铁性贫血：

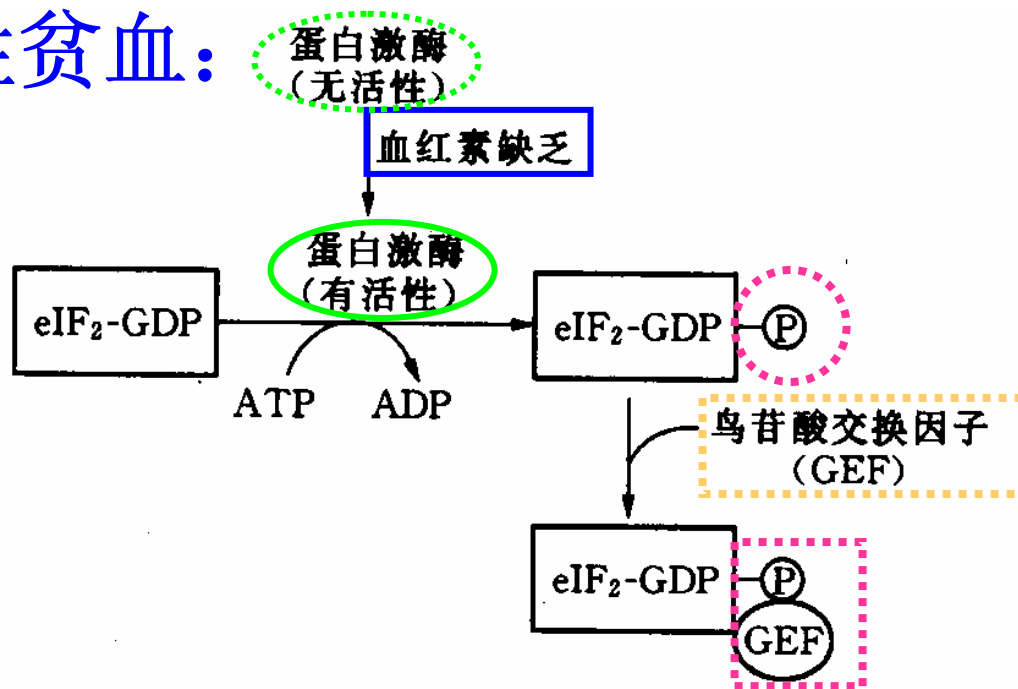


图 14-10 网织红细胞中血红蛋白缺乏引起蛋白质合成起始障碍的机制