



第四讲 生物信息的传递

(下) 从**mRNA**到蛋白质



蛋白质是生物信息通路上的终产物，一个活细胞在任何发育阶段都需要数千种不同的蛋白质。因此，活细胞内时刻进行着各种蛋白质的合成、修饰、运转和降解反应。



4.1 遗传密码——三联子

所谓翻译是指将mRNA链上的核苷酸从一个特定的起始位点开始，按每3个核苷酸代表一个氨基酸的原则，依次合成一条多肽链的过程。这3个核苷酸就是一个密码子。

翻译从起始密码子AUG开始，沿mRNA 5' → 3' 方向连续阅读密码子，直至终止密码子为止，生成一条具有特定序列的多肽链——蛋白质。

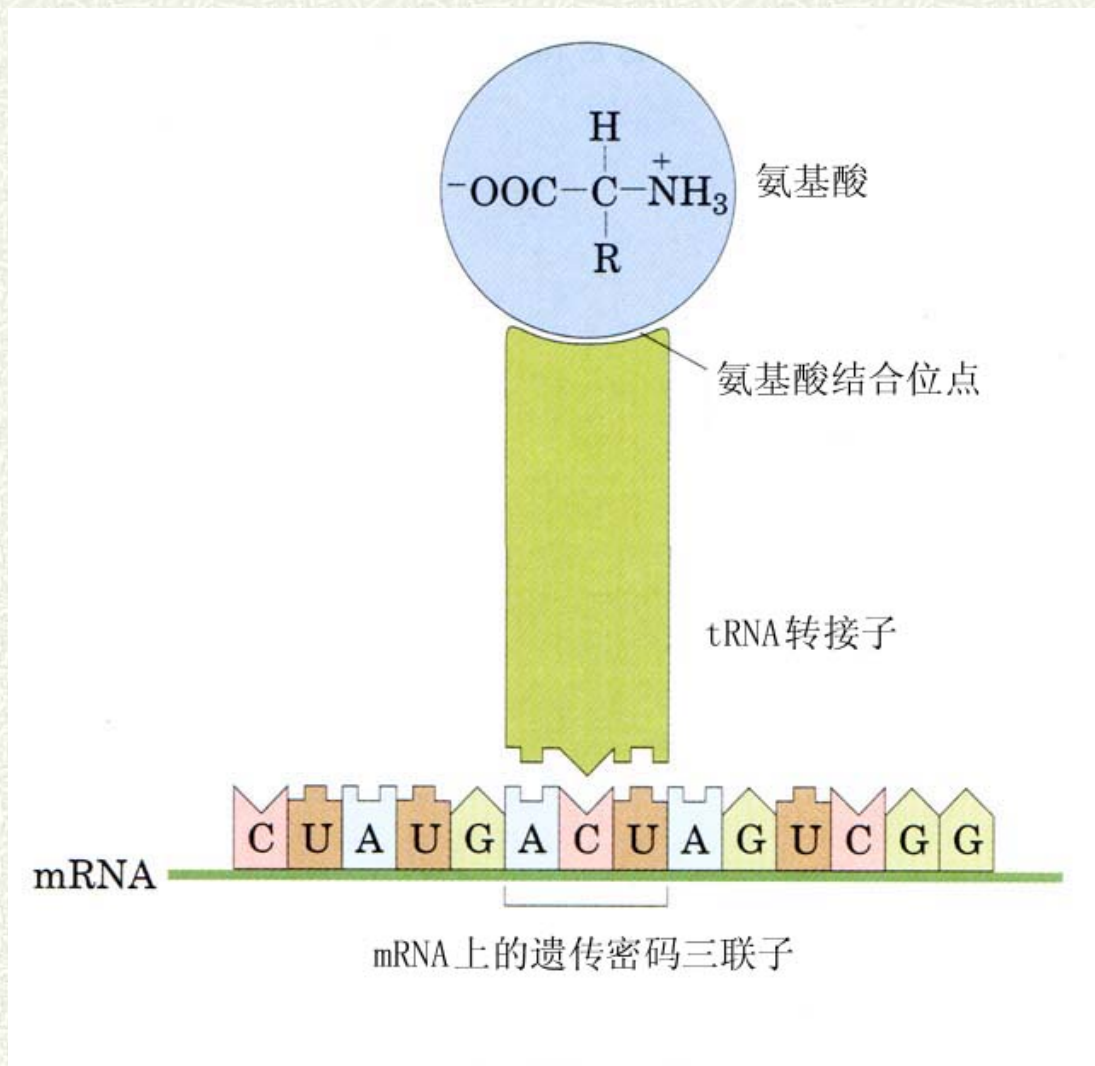


图4-1 Crick关于tRNA分子破译mRNA遗传密码三联子的原始构想



4.1.1 三联子密码及其破译

因为mRNA中只有4种核苷酸，而蛋白质中有20种氨基酸，以一种核苷酸代表一种氨基酸是不可能的。若以两种核苷酸作为一个氨基酸的密码（二联子），它们能代表的氨基酸也只有 $4^2=16$ 种。若以3个核苷酸代表一个氨基酸，有 $4^3=64$ 种密码子，满足了编码20种氨基酸的需要。

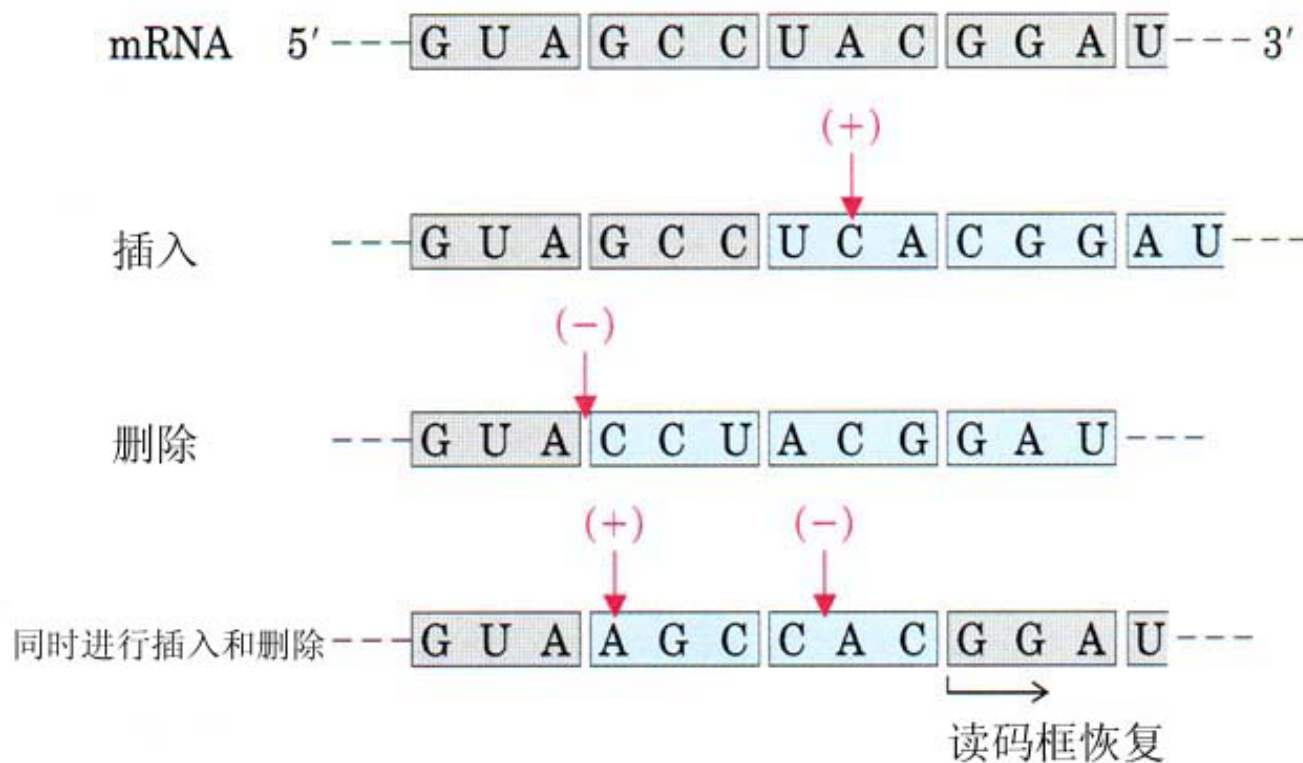


Crick等人发现**T4**噬菌体**rII**位点上两个基因的正确表达与它能否侵染大肠杆菌有关，用吡啶类试剂（诱导核苷酸插入或从**DNA**链上丢失）处理使**T4**噬菌体**DNA**发生移码突变（**frameshift mutation**），噬菌体就丧失感染能力。



若在模板 mRNA 中插入或删除一个碱基，会改变该密码子以后的全部氨基酸序列。

若同时对模板进行插入和删除试验，保证后续密码子序列不变，翻译得到的蛋白质序列就保持不变（除了发生突变的那个密码子所代表的氨基酸之外）。



(-) (-) (-)
 一次删去5'-GUA ↓ ↓ ↓ UAC GGA U.....3'
读码框不变

图4-2 用核苷酸的插入或删除实验证明mRNA模板上每三个核苷酸组成一个密码子



对烟草坏死卫星病毒的研究发现，其外壳蛋白亚基由**400**个氨基酸组成，而相应的**RNA**片段长约**1 200**个核苷酸，与假设的密码三联子体系正好相吻合。



1.以均聚物、随机共聚物和特定序列的共聚物为模板指导多肽的合成。

Nirenberg把多聚（U）作为模板加入到无细胞体系时发现，新合成的多肽链是多聚苯丙氨酸，确定UUU代表苯丙氨酸（**Phe**）。

以多聚（C）及多聚（A）做模板得到的分别是多聚脯氨酸和多聚赖氨酸。



以多聚UG为模板合成的是多聚Cys和Val，因为多聚（UG）中含Cys和Val的密码：

5'.....UGU GUG UGU GUG UGU
GUG.....3'

无论读码从U开始还是从G开始，都只能有UGU（Cys）及GUG（Val）两种密码子。



Nirenberg 及 Ochoa 等又用各种特定序列如只含 A、C 的共聚核苷酸作模板，任意排列时可出现 8 种三联子，即 CCC、CCA、CAC、ACC、CAA、ACA、AAC、AAA，获得由 Asn、His、Pro、Gln、Thr、Lys 等 6 种氨基酸组成的多肽。



以多聚 (UUC) 为模板，可能有3种起读方式：

5'.....UUC UUC UUC UUC UUC.....3'

或5'.....UCU UCU UCU UCU UCU.....3'

或5'.....CUU CUU CUU CUU CUU.....3'

产生UUC (Phe)、UCU (Ser) 或CUU (Leu)，得到多聚苯丙氨酸、多聚丝氨酸或多聚亮氨酸。因此，UUC、UCU、CUU分别是苯丙氨、丝氨酸及亮氨酸的密码子。



当然，也可能只合成2种均聚多肽，
如：

5'.....GUA GUA GUA GUA GUA.....3'

或**5'.....UAG UAG UAG UAG UAG.....3'**

或**5'.....AGU AGU AGU AGU AGU.....3'**

由第二种读码方式产生的密码子
UAG是终止密码，不编码任何氨基酸，因此，只产生2种密码子**GUA**（**Val**）或**AGU**（**Ser**），合成多聚缬氨酸或多聚丝氨酸。



2. 核糖体结合技术

以人工合成的三核苷酸如UUU、UCU、UGU等为模板，在含核糖体、AA-tRNA的适当离子强度的反应液中保温后通过硝酸纤维素滤膜。游离的AA-tRNA因相对分子质量小能自由过膜，与模板对应的AA-tRNA能与核糖体结合，体积超过膜上的微孔而被滞留。



若用**20种AA-tRNA**做**20组**同样的实验，每组都含**20种AA-tRNA**和各种三核苷酸，但只有一种氨基酸用 ^{14}C 标记，看哪一种**AA-tRNA**被留在滤膜上，进一步分析这一组的模板是哪个三核苷酸，从模板三核苷酸与氨基酸的关系可测知该氨基酸的密码子。



表4-1 三核苷酸密码子能使特定的氨基酰-tRNA结合到核糖体上

| 密码子 | 与核糖体相结合的 ¹⁴ C标记的氨基酰-tRNA | | |
|-----|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Phe-tRNA ^{Phe} | Lys-tRNA ^{Lys} | Pro-tRNA ^{Pro} |
| UUU | 4.6 * | 0 | 0 |
| AAA | 0 | 7.7 | 0 |
| CCC | 0 | 0 | 3.1 |

*数字代表特定氨基酰tRNA与带有模板三核苷酸的核糖体相结合的效率。



4. 1. 2 遗传密码的性质

1. 密码的简并性

4种核苷酸可组成**64**个密码子，现在已经知道其中**61**个是编码氨基酸的密码子，另外**3**个即**UAA**、**UGA**和**UAG**并不代表任何氨基酸，它们是终止密码子，不能与**tRNA**的反密码子配对，但能被终止因子或释放因子识别，终止肽链的合成。



表4-2 通用遗传密码及相应的氨基酸

| 第一位(5'端) 核苷酸 | 第二位(中间)核苷酸 | | | | 第三位(3'端) 核苷酸 |
|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | U | C | A | G | |
| U | 苯丙氨酸 (Phe, F) | 丝氨酸 (Ser, S) | 酪氨酸 (Tyr, Y) | 半胱氨酸 (Cys, C) | U |
| | 苯丙氨酸 (Phe, F) | 丝氨酸 (Ser, S) | 酪氨酸 (Tyr, Y) | 胱氨酸 (Cys, C) | C |
| | 亮氨酸 (Leu, L) | 丝氨酸 (Ser, S) | 终止 (Stop) | 终止 (Stop) | A |
| | 亮氨酸 (Leu, L) | 丝氨酸 (Ser, S) | 终止 (Stop) | 色氨酸 (Trp, W) | G |



| | | | | | |
|----------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------|
| C | 亮氨酸 (Leu, L) | 脯氨酸 (Pro, P) | 组氨酸 (His, H) | 精氨酸 (Arg, R) | U |
| | 亮氨酸 (Leu, L) | 脯氨酸 (Pro, P) | 组氨酸 (His, H) | 精氨酸 (Arg, R) | C |
| | 亮氨酸 (Leu, L) | 脯氨酸 (Pro, P) | 谷氨酰胺 (Gln, Q) | 精氨酸 (Arg, R) | A |
| | 亮氨酸 (Leu, L) | 脯氨酸 (Pro, P) | 谷氨酰胺 (Gln, Q) | 精氨酸 (Arg, R) | G |



| | | | | | |
|----------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------|
| A | 异亮氨酸 (Ile, I) | 苏氨酸 (Thr, T) | 天冬酰胺 (Asn, N) | 丝氨酸 (Ser, S) | U |
| | 异亮氨酸 (Ile, I) | 苏氨酸 (Thr, T) | 天冬酰胺 (Asn, N) | 丝氨酸 (Ser, S) | C |
| | 异亮氨酸 (Ile, I) | 苏氨酸 (Thr, T) | 赖氨酸 (Lys, K) | 精氨酸 (Arg, R) | A |
| | 甲硫氨酸 (Met, M) | 苏氨酸 (Thr, T) | 赖氨酸 (Lys, K) | 精氨酸 (Arg, R) | G |



| | | | | | |
|----------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------|
| G | 缬氨酸 (Val, V) | 丙氨酸 (Ala, A) | 天冬氨酸 (Asn, N) | 甘氨酸 (Gly, G) | U |
| | 缬氨酸 (Val, V) | 丙氨酸 (Ala, A) | 天冬氨酸 (Asn, N) | 甘氨酸 (Gly, G) | C |
| | 缬氨酸 (Val, V) | 丙氨酸 (Ala, A) | 谷氨酸 (Glu, E) | 甘氨酸 (Gly, G) | A |
| | 缬氨酸 (Val, V) | 丙氨酸 (Ala, A) | 谷氨酸 (Glu, E) | 甘氨酸 (Gly, G) | G |



除色氨酸（**UGG**）只有一个密码子外，其他氨基酸都有一个以上的密码子。**9**种氨基酸有**2**个密码子，**1**种氨基酸有**3**个密码子，**5**种氨基酸有**4**个密码子，**3**种氨基酸有**6**个密码子（表**4-3**）。



由一种以上密码子编码同一个氨基酸的现象称为简并（**degeneracy**），对应于同一氨基酸的密码子称为同义密码子（**synonymous codon**）。

AUG和**GUG**既是甲硫氨酸及缬氨酸的密码子又是起始密码子。



表4-3 密码子的兼并性

| 氨基酸 | 密码子个数 | 氨基酸 | 密码子个数 |
|-------|-------|------|-------|
| 丙氨酸 | 4 | 亮氨酸 | 6 |
| 精氨酸 | 6 | 赖氨酸 | 2 |
| 天门冬酰胺 | 2 | 甲硫氨酸 | 1 |
| 天门冬氨酸 | 2 | 苯丙氨酸 | 2 |
| 半胱氨酸 | 2 | 脯氨酸 | 4 |
| 谷氨酰胺 | 2 | 丝氨酸 | 6 |
| 谷氨酸 | 2 | 苏氨酸 | 4 |
| 甘氨酸 | 4 | 色氨酸 | 1 |
| 组氨酸 | 2 | 酪氨酸 | 2 |
| 异亮氨酸 | 3 | 缬氨酸 | 4 |

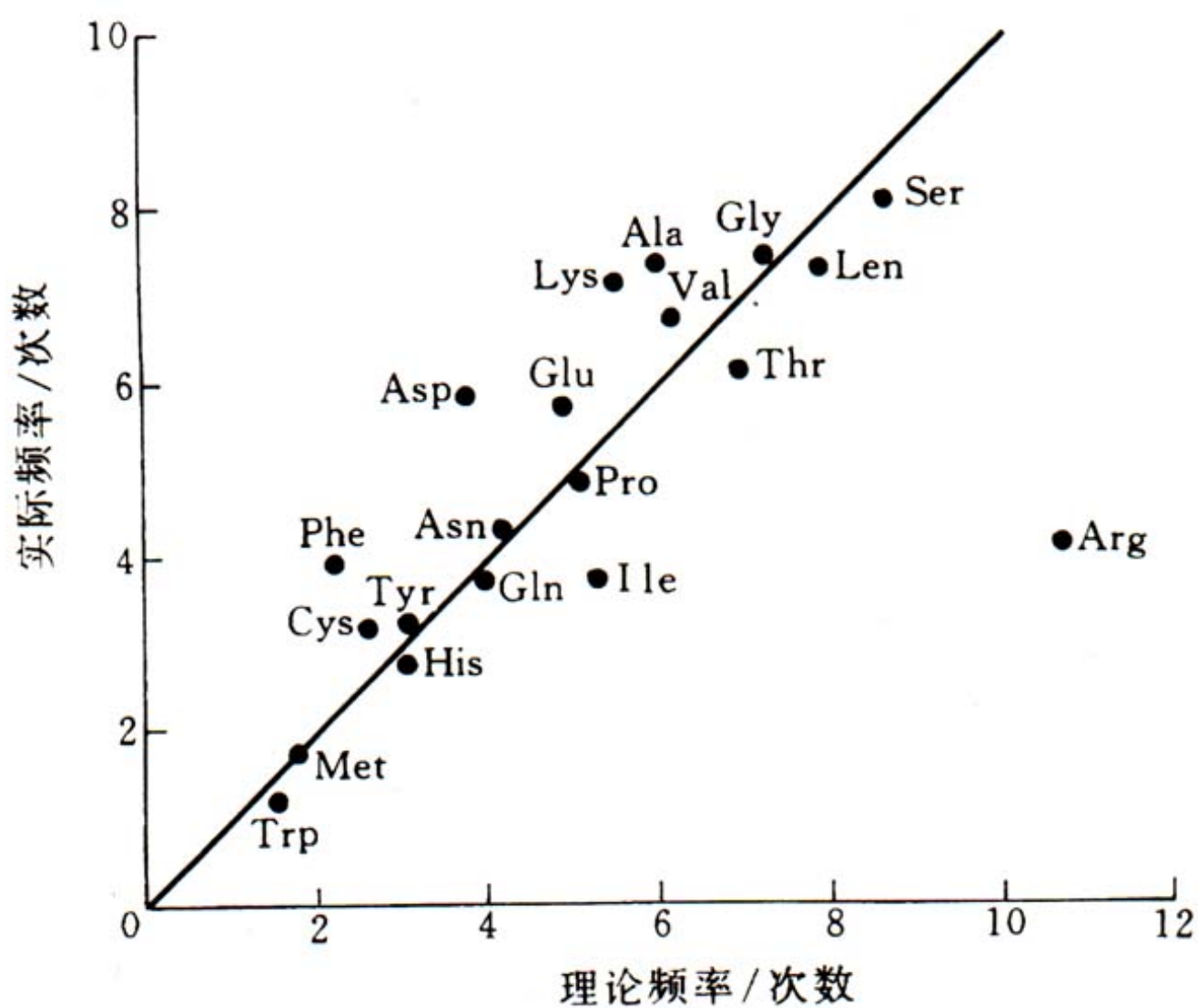


图4-3 除了 Arg 以外，编码某一特定氨基酸的密码子个数与该氨基酸在蛋白质中的出现频率是相吻合的



3. 密码子与反密码子的相互作用

tRNA的反密码子在核糖体内是通过碱基的反向配对与**mRNA**上的密码子相互作用的。1966年，**Crick**提出摆动假说（**wobble hypothesis**），解释了反密码子中某些稀有成分（如I）的配对，以及许多氨基酸有2个以上密码子的问题。

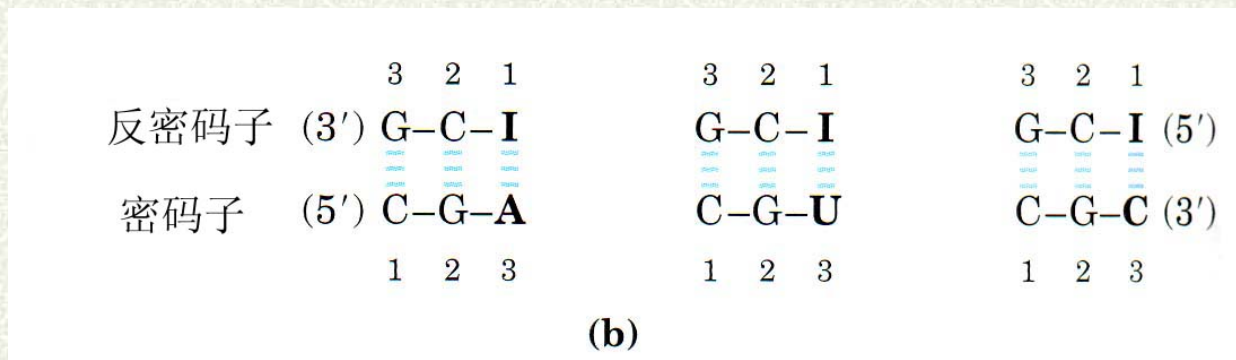
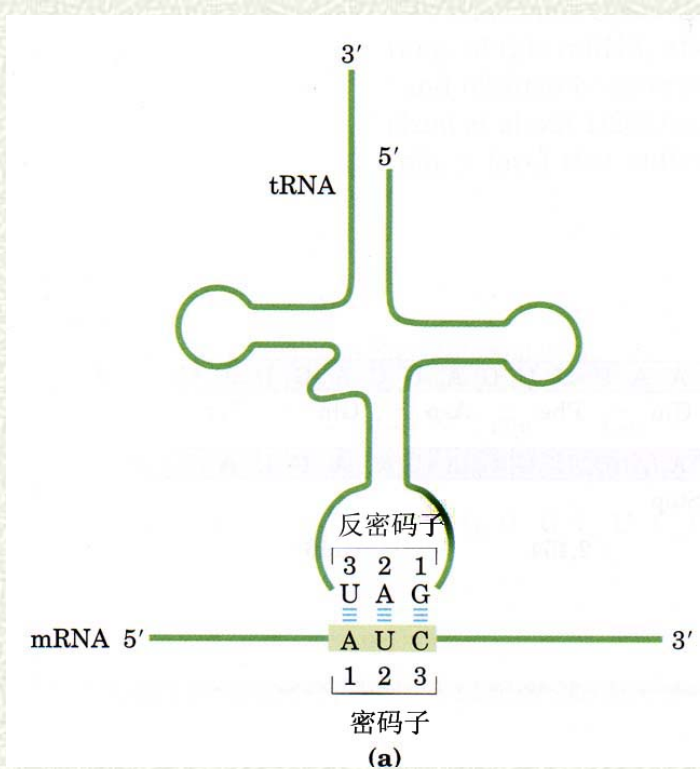


图4-4 mRNA上的密码子与tRNA上的反密码子配对示意图。
a. 密码子与tRNA反密码子臂上相应序列配对； b. 当反密码子第一位是I时，密码子第三位可以是A、U或C。



在密码子与反密码子的配对中，前两对严格遵守碱基配对原则，第三对碱基有一定的自由度，可以“摆动”，因而使某些tRNA可以识别1个以上的密码子。



一个**tRNA**究竟能识别多少个密码子是由反密码子的第一位碱基的性质决定的，反密码子第一位为**A**或**C**时只能识别**1**种密码子，为**G**或**U**时可以识别**2**种密码子，为**I**时可识别**3**种密码子。



表4-5 tRNA上的反密码子与mRNA上密码子的配对与“摆动”分析

| | | |
|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 1. 反密码子第一位是C或A时，只能识别一种密码子。 | | |
| 反密码子 | (3') X-Y-C (5') | (3') X-Y-A (5') |
| 密码子 | (5') Y-X-G (3') | (5') Y-X-U (3') |
| 2. 反密码子第一位是U或G时，可分别识别两种密码子。 | | |
| 反密码子 | (3') X-Y-U (5') | (3') X-Y-G (5') |
| 密码子 | (5') Y-X-A/G (3') | (5') Y-X-C/U (3') |
| 3. 反密码子第一位是I时，可识别3种密码子 | | |
| 反密码子 | (3') X-Y-I (5') | |
| 密码子 | (5') Y-X-A/U/C (3') | |



多个密码子同时编码一个氨基酸，凡是第一、二位碱基不同的密码子都对应于各自独立的**tRNA**。

原核生物中大约有**30-45**种**tRNA**，真核细胞中可能存在**50**种**tRNA**。



4.2 tRNA

tRNA不但为每个三联密码子翻译成氨基酸提供了接合体，还为准确无误地将所需氨基酸运送到核糖体上提供了运送载体，所以，它又被称为第二遗传密码。



不同**tRNA**在结构上存在大量的共性，由小片段碱基互补配对形成三叶草形分子结构，有4条根据结构或已知功能命名的手臂。

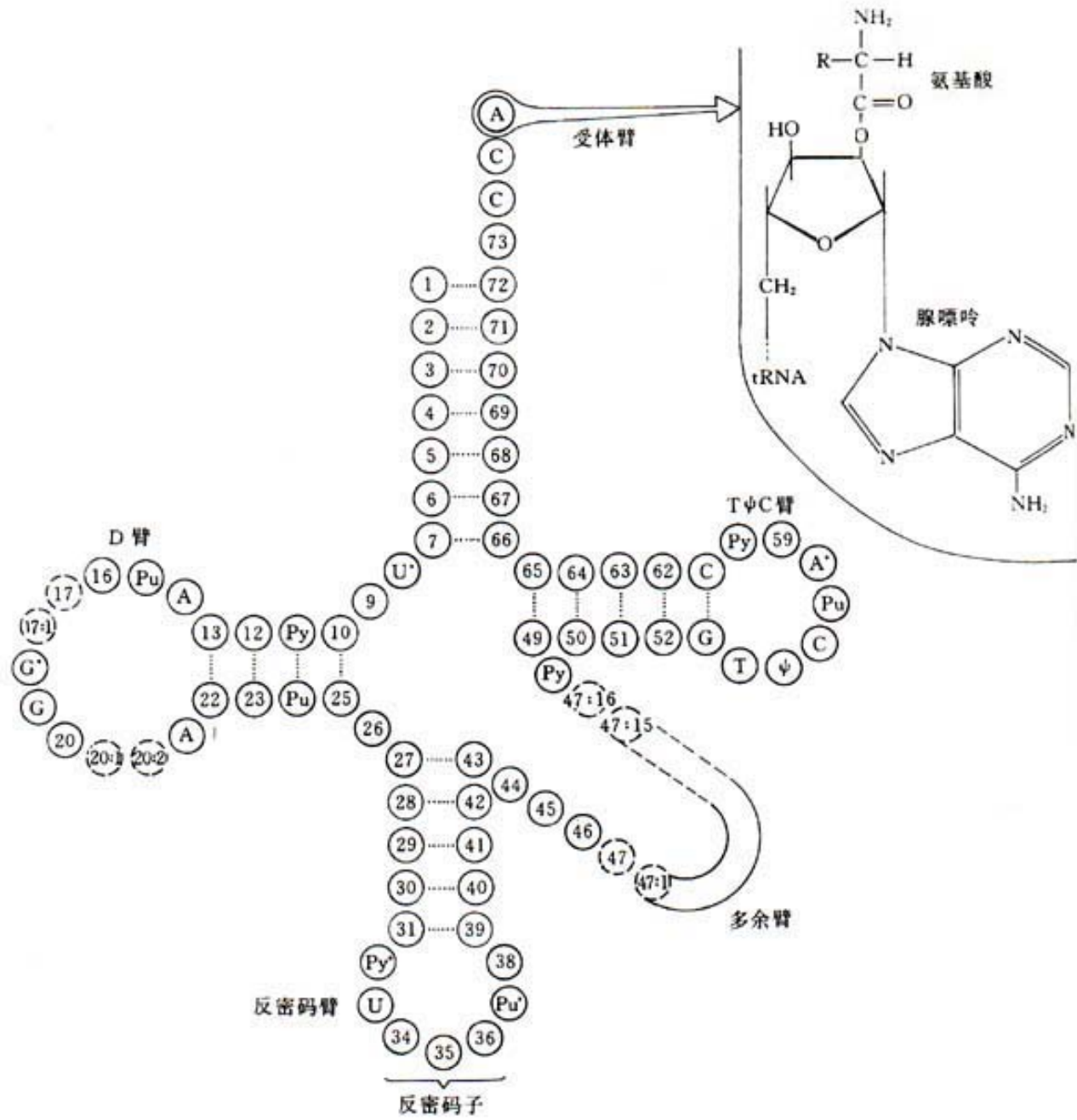


图 4-5 tRNA 的三叶草形二级结构



最常见tRNA分子有76个碱基，相对分子质量约为 2.5×10^4 ，不同的tRNA分子可有74~95个核苷酸不等。

D臂中存在多至3个可变核苷酸位点，17: 1及20: 1、20: 2。最常见的D臂缺失这3个核苷酸，而最小的D臂中第17位核苷酸也缺失了。



受体臂 (**acceptor arm**) 由链两端序列配对形成的杆状结构和3'端未配对的3~4个碱基所组成, 其3'端的最后3个碱基序列永远是**CCA**, 最后一个碱基的3'或2'自由羟基 (**—OH**) 可以被氨酰化。

。



T ψ C臂是根据3个核苷酸命名的，其中 ψ 表示拟尿嘧啶；

反密码子臂是根据位于套索中央的三联反密码子命名的；

D臂是根据它含有二氢尿嘧啶 (**dihydrouracil**) 命名的。



tRNA的稀有碱基含量非常丰富，约有**70**余种。每个**tRNA**分子至少含有**2**个稀有碱基，最多有**19**个，多数分布在非配对区，特别是在反密码子**3'**端邻近部位出现的频率最高。



4.2.1 tRNA的L-形三级结构

研究酵母tRNA^{Phe}、tRNA^{fMet}和大肠杆菌tRNA^{fMet}、tRNA^{Arg}等的三级结构，发现都呈L形折叠式（图4-6）。

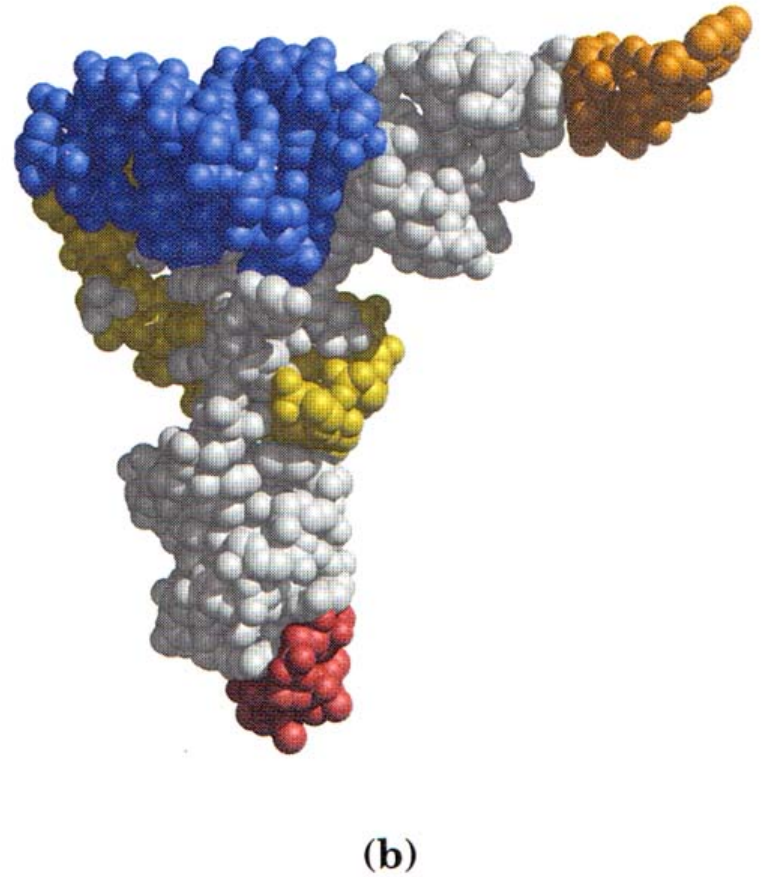
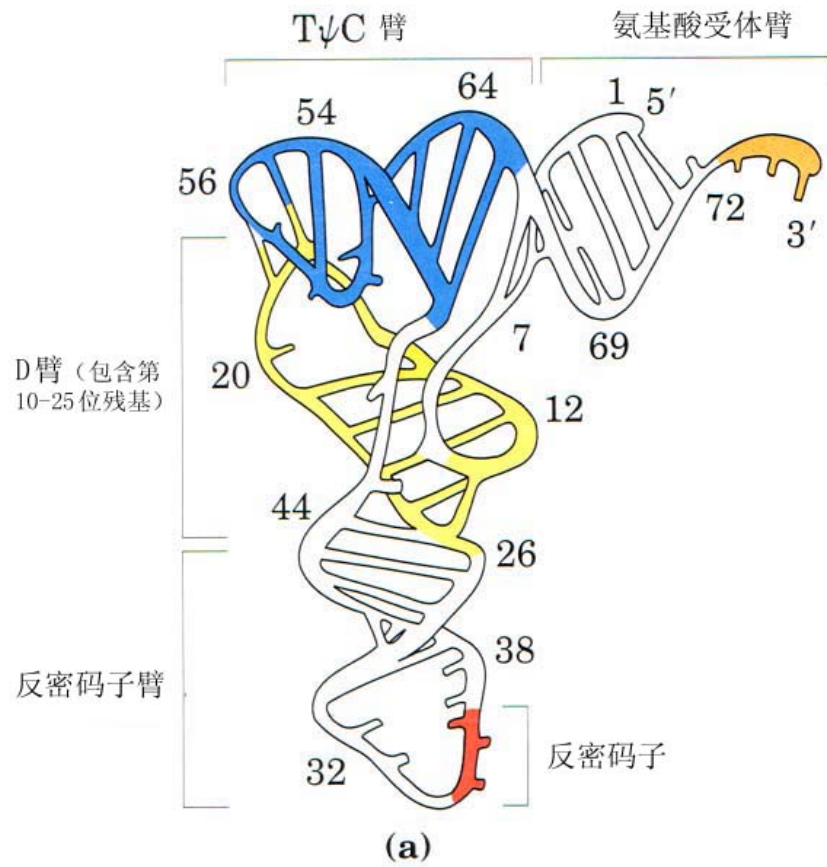


图4-6 酵母tRNA^{phe}的三级结构示意图（根据X-射线衍射数据绘制）。a和b表示用不同方法构建的模型。



在L形三级结构中，受体臂和T ψ C臂的杆状区域构成了第一个双螺旋，D臂和反密码子臂的杆状区域形成了第二个双螺旋。

T ψ C臂和D臂的套索状结构位于“L”的转折点，受体臂顶端的碱基位于“L”的一个端点，反密码子臂的套索状结构生成了“L”的另一个端点（图4-7）。

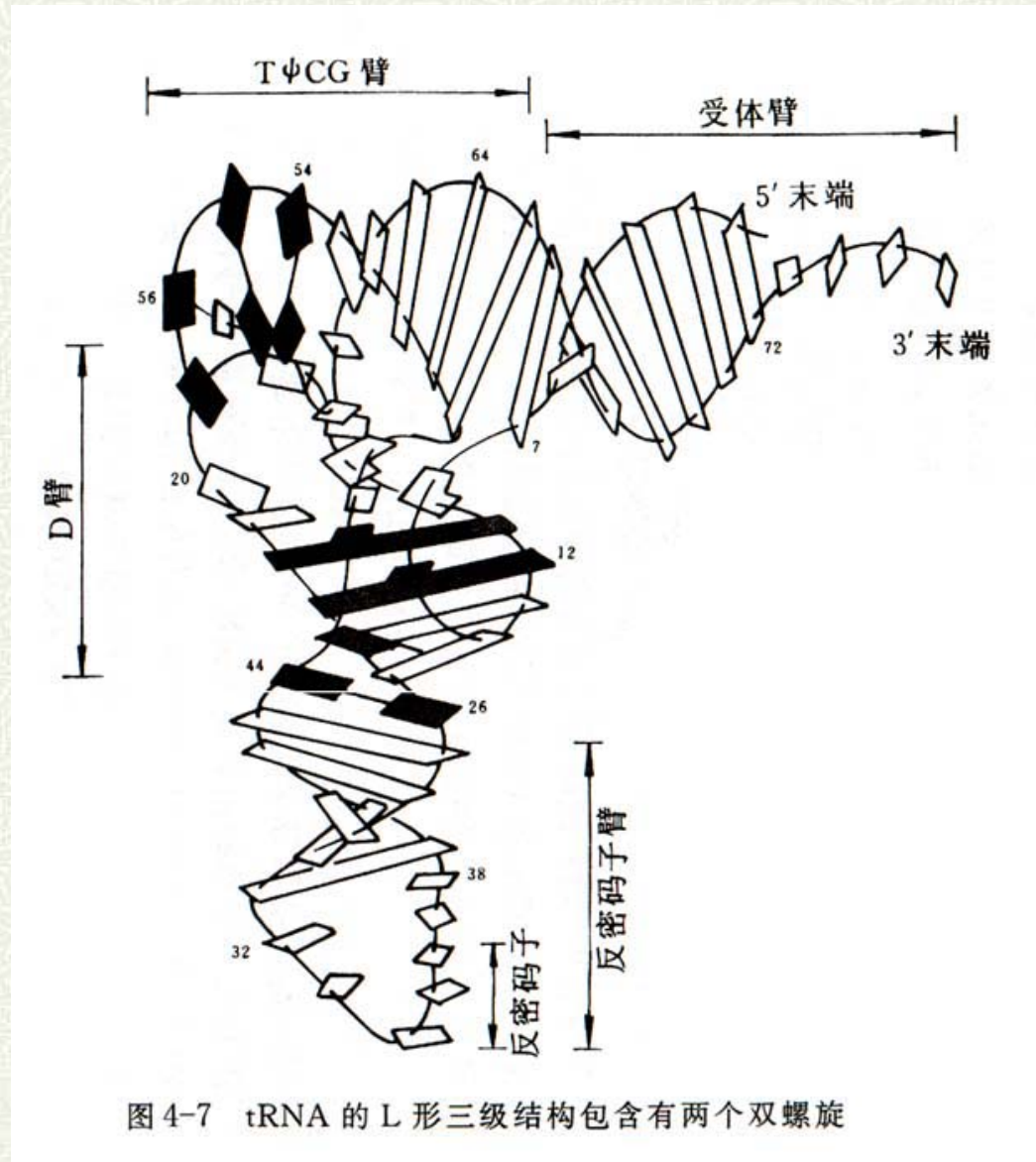


图 4-7 tRNA 的 L 形三级结构包含有两个双螺旋



tRNA上所运载的氨基酸必须靠近位于核糖体大亚基上的多肽合成位点，而**tRNA**上的反密码子必须与小亚基上的**mRNA**相配对，所以分子中两个不同的功能基团是最大限度分离的。



4.2.2 tRNA的功能

转录过程是信息从一种核酸分子（**DNA**）转移到另一种结构上极为相似的核酸分子（**RNA**）的过程，信息转移靠的是碱基配对。



翻译阶段遗传信息从**mRNA**分子转移到结构极不相同的蛋白质分子，信息是以能被翻译成单个氨基酸的三联密码子形式存在的，在这里起作用的是**tRNA**的解码机制。



只有**tRNA**上的反密码子能与**mRNA**上的密码子相互识别并配对，而氨基酸本身不能识别密码子，只有结合到**tRNA**上生成**AA-tRNA**，才能被带到**mRNA-核糖体**复合物上，插入到正在合成的多肽链的适当位置上。



用 ^{14}C 标记的半胱氨酸与 tRNA^{Cys} 结合后生成 $[^{14}\text{C}]$ -半胱氨酸- tRNA^{Cys} ，经Ni催化可生成 $[^{14}\text{C}]$ -Ala- tRNA^{Cys} ，再把 $[^{14}\text{C}]$ -Ala- tRNA^{Cys} 加入到蛋白质合成系统中，发现 $[^{14}\text{C}]$ -Ala- tRNA^{Cys} 插入了血红蛋白分子中通常由半胱氨酸占据的位置上，表明起识别作用的是 tRNA 。



4.2.3 tRNA的种类

1. 起始tRNA和延伸tRNA

能特异性识别mRNA模板上起始密码子的tRNA叫起始tRNA，其他tRNA统称为延伸tRNA。真核生物起始tRNA携带甲硫氨酸（Met），原核生物起始tRNA携带甲酰甲硫氨酸（fMet），Met-tRNA^{fMet}必须首先甲酰化生成fMet-tRNA^{fMet}才能参与蛋白质的生物合成。



2.同工tRNA

将代表相同氨基酸的不同tRNA称为同工tRNA。在一个同工tRNA组内，所有tRNA均专一于相同的氨基酰-tRNA合成酶。同工tRNA既要有不同的反密码子以识别该氨基酸的各种同义密码，又要有某种结构上的共同性，能被AA-tRNA合成酶识别。



3.校正tRNA

结构基因中某个核苷酸的改变可能产生终止密码子（**UAG**、**UGA**、**UAA**），使蛋白质合成提前终止，合成无功能的或无意义的多肽，这种突变称为无义突变，而校正tRNA通过改变反密码子区校正无义突变（表4-7）。



表4-7 大肠杆菌无义突变的校正tRNA

| 位点 | tRNA | 野生型 | | 校正基因 | |
|------|------|------|----------|------|----------|
| | | 识别密码 | 反密码 ← | 识别密码 | 反密码 ← |
| supD | Ser | UCG | CGA | UAG | CUA |
| supE | Gln | CAG | CUG | UAG | CUA |
| supC | Tyr | UAC | GUA | UAG | CUA |
| supG | Lys | AAA | UUU | UAA | UUA |
| supU | Trp | UGG | CCA | UGA | UCA |



如某大肠杆菌色氨酸合成酶基因中的一个甘氨酸密码子GGA突变成了AGA(编码精氨酸),指导合成错误的多肽。甘氨酸校正tRNA的校正基因突变使其反密码子从CCU变成UCU,它仍然是甘氨酸的反密码子,单不结合GGA而能与突变后的AGA相结合,把甘氨酸放到原来的位置上。



4.2.4 AA-tRNA合成酶

AA-tRNA合成酶是一类催化氨基酸与tRNA结合的特异性酶，其反应式如下：





它实际上包括两步反应：第一步是氨基酸活化生成酶-氨基酰腺苷酸复合物。



第二步是氨酰基转移到tRNA 3' 末端腺苷残基的2' 或3'-羟基上。





异亮氨酸-tRNA合成酶对异亮氨酸的亲和力比对缬氨酸大**225**倍，体内缬氨酸的浓度比异亮氨酸高**5**倍，缬氨酸被错误渗入到异亮氨酸位点上去的机率应是**1/40**，但实际误差率只有约**1/10 000**。



研究发现，被错误活化的缬氨酸不会被结合到 tRNA^{Ile} 上，而是被酶本身水解，即活化阶段产生的误差在下一阶段被再次校正了（表4-8）。



表4-8 活化tRNA^{Ile}合成酶的准确性受双重控制

| | 错误率 |
|---------------------------------|--|
| 缬氨酸活化阶段 | 1/225 |
| 缬氨酸-tRNA ^{Ile} 的 释放 | 1/270 |
| 总误差率 | $1/225 \times 1/270 \div 5 = 1/12,000$ |



4.3 核糖体

核糖体是由几十种蛋白质和多种核糖体RNA (**ribosomal RNA, rRNA**) 所组成的亚细胞颗粒。

一个细菌细胞内约有**20 000**个核糖体，而真核细胞内可达 **10^6** 个。这些颗粒既可以游离状态存在于细胞内，也可与内质网结合，形成微粒体。



核糖体蛋白约占原核细胞总蛋白量的**9-10%**，占细胞内总**RNA**量的**70-80%**。在真核细胞内，核糖体所占的比重虽然有所下降，但仍然占总**RNA**的绝大部分，是细胞总蛋白的一个重要组成部分。



表4-9 核糖体及其他组分在大肠杆菌细胞内的分布

| 组分 | 占细胞总量 | 细胞内数量 |
|-------|-------|-------------------|
| 细胞壁 | 10% | 1 |
| 细胞膜 | 10% | 2 |
| DNA | 2% | 1 |
| mRNA | 2% | 3.5×10^3 |
| tRNA | 3% | 1.6×10^5 |
| rRNA | 21% | 8×10^5 |
| 核糖体蛋白 | 9% | 2×10^4 |
| 可溶性蛋白 | 40% | 10^6 |
| 小分子 | 3% | 7.5×10^6 |



真核生物中，所有正在进行蛋白质合成的核糖体都不是在细胞质内自由漂浮，而是直接或间接与细胞骨架结构有关联或者与内质网膜结构相连的（图4-8）。

细菌核糖体大都通过与mRNA相互作用，被固定在核基因组上。

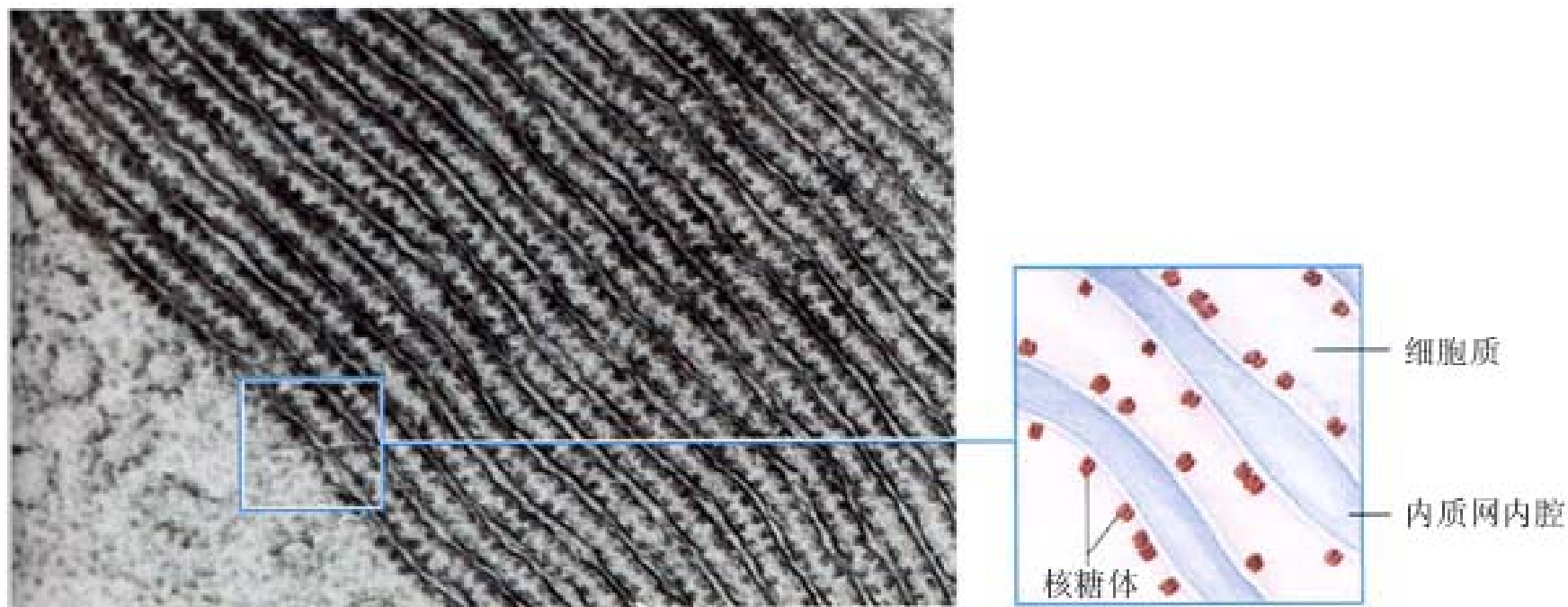


图4-8 结合在内质网上的核糖体。左，电镜下看到的胰腺细胞粗糙内质网；右，局部放大后的草图。



表4-10 大肠杆菌核糖体基本成分

| | 核糖体 | 小亚基 | 大亚基 |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 沉降系数 | 70S | 30S | 50S |
| 总体相对分子质量 | 2.52×10^6 | 9.30×10^5 | 1.59×10^6 |
| 主要rRNA (碱基数) | | 16S (1 541) | 23S (2 904) |
| 主要rRNA (碱基数) | | | 5S (120) |
| RNA相对分子质量 | 1.66×10^6 | 5.60×10^5 | 1.10×10^6 |
| RNA所占比例 | 66% | 60% | 70% |
| 蛋白质数量 | | 21 | 36 |
| 蛋白质相对分子质量 | 8.57×10^5 | 3.70×10^5 | 4.87×10^5 |
| 蛋白质所占比例 | 34% | 40% | 30% |



4.3.1 核糖体的结构

核糖体是一个致密的核糖核蛋白颗粒，可解离为两个亚基，每个亚基都含有一个相对分子质量较大的**rRNA**和许多不同的蛋白质分子。



原核生物核糖体由约 $2/3$ 的RNA及 $1/3$ 的蛋白质组成。真核生物核糖体中RNA占 $3/5$ ，蛋白质占 $2/5$ 。原核生物、真核生物细胞质及细胞器中的核糖体存在着很大差异（表4-11）。



表4-11 几种不同生物核糖体及rRNA的组成

| 核糖体 | 来源 | 大亚基 | | 小亚基 | |
|-----|----------|------|--------|------|--------|
| | | 沉降系数 | RNA | 沉降系数 | RNA |
| 80S | 脊椎动物 | 60S | 28S | 40S | 18S |
| | | | 5S | | |
| | | | 5.8S | | |
| 80S | 无脊椎动物、植物 | 60S | 25S | 40S | 16~18S |
| | | | 5S | | |
| | | | 5.8S | | |
| 70S | 原核生物 | 50S | 23S | 30S | 16S |
| 55S | 脊椎动物线粒体 | 40S | 16~17S | 30S | 10~13S |

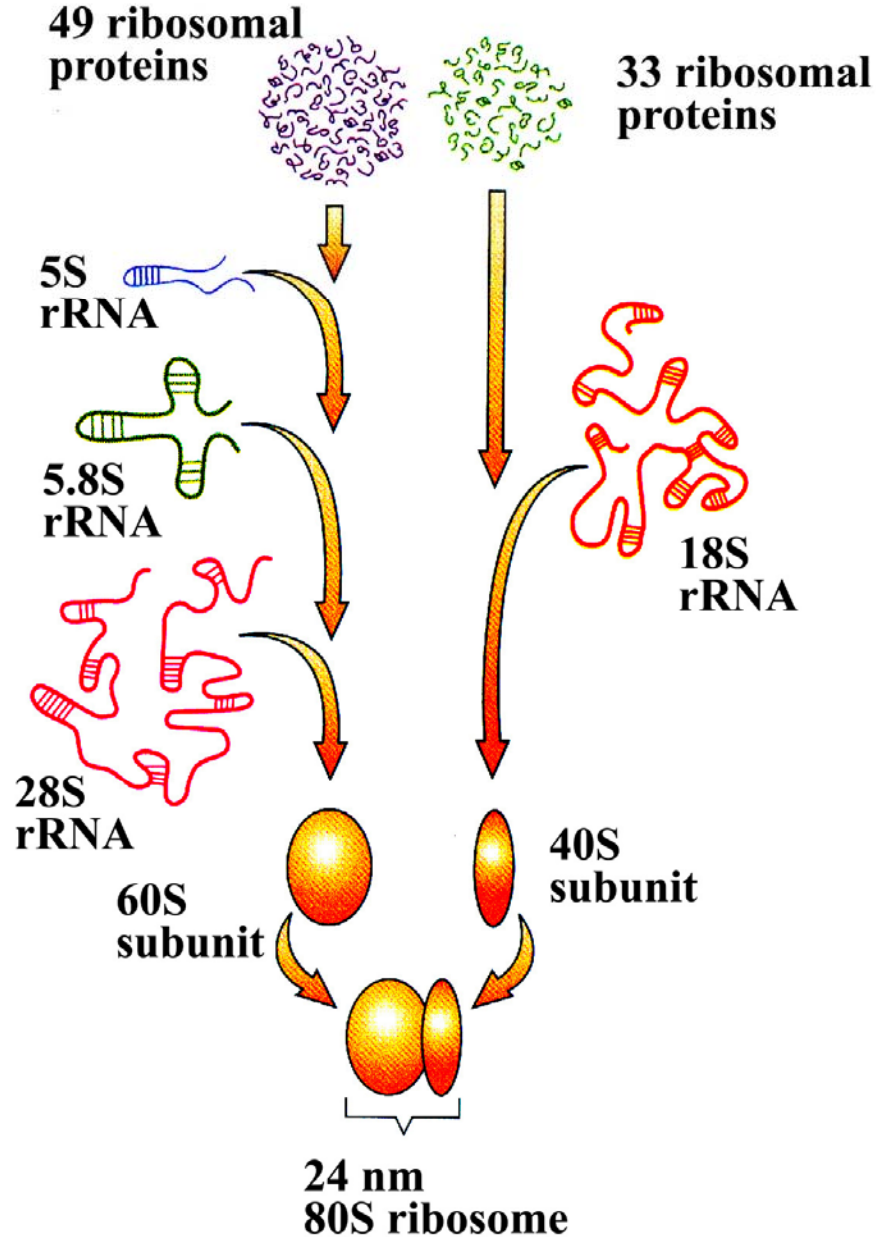


大肠杆菌核糖体小亚基由**21**种蛋白质组成，分别用**S¹.....S²¹**表示，大亚基由**36**种蛋白质组成，分别用**L¹.....L³⁶**表示。

真核生物细胞核糖体蛋白质中，大亚基含有**49**种蛋白质，小亚基有**33**种蛋白质，它们的相对分子质量在 **$8 \times 10^3 \sim 4.0 \times 10^4$** 之间。



Eukaryotic (mammalian) ribosome



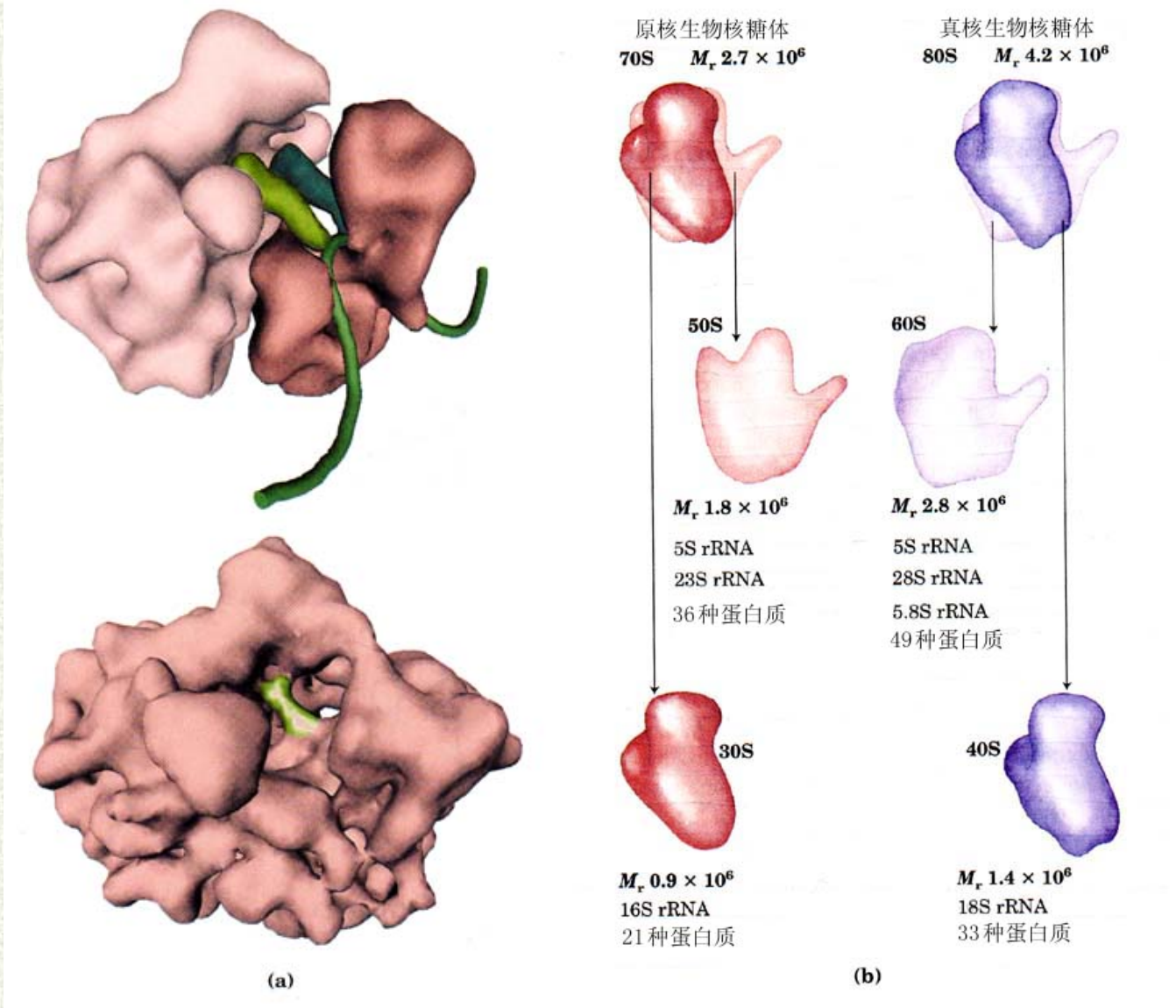
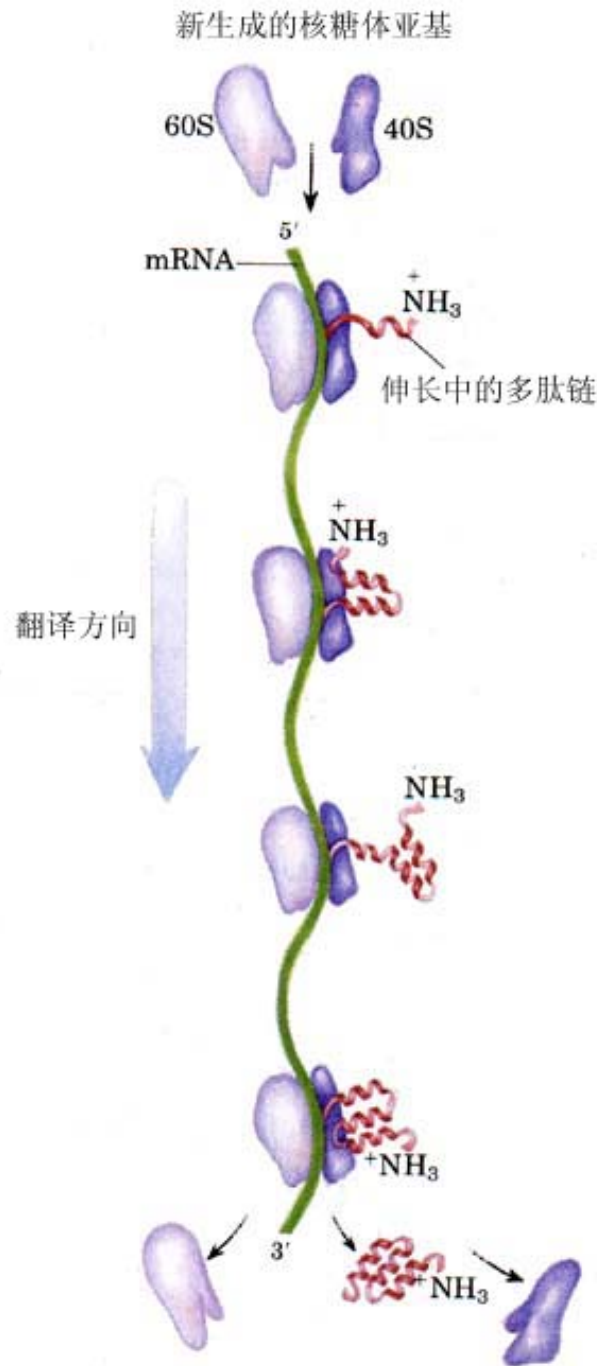


图4-9 核糖体结构模型及原核与真核细胞核糖体大小亚基比较。



图4-10 真核生物细胞中发现的多聚核糖体现象。



核糖体分子中可容纳两个 tRNA 和约 40bp 长的 mRNA。



4.3.2 rRNA

1. 5S rRNA

细菌**5S rRNA**含有**120**个核苷酸（革兰氏阴性菌）或**116**个核苷酸（革兰氏阳性菌）。

5S rRNA有两个高度保守的区域，其中一个区域含有保守序列**CGAAC**，这是与**tRNA**分子**T ψ C**环上的**GT ψ CG**序列相互作用的部位，是**5S rRNA**与**tRNA**相互识别的序列。



另一个区域含有保守序列 **GCGCCGAAUGGUAGU**，与 **23S rRNA** 的中一段序列互补，可能是 **5S rRNA** 与 **50S** 核糖体大亚基相互作用的位点。



2. 16S rRNA

长约1 475~1 544个核苷酸之间，含有少量修饰碱基，位于30S小亚基内。16S rRNA的结构十分保守，其中3'端一段ACCUCCUUA的保守序列，与mRNA 5'端翻译起始区中的SD序列互补。

16S rRNA靠近3'端处还有一段与23S rRNA互补的序列，在30S与50S亚基的结合中起作用。



3. 23S rRNA

23S rRNA基因有2 904个核苷酸，第1984~2001核苷酸之间存在能与tRNA^{Met}序列互补的片段，表明核糖体大亚基23S rRNA可能与tRNA^{Met}的结合有关。

第143~157位核苷酸之间有一段12个核苷酸的序列与5S rRNA上第72~83位核苷酸互补，表明在50S大亚基上这两种RNA之间可能存在相互作用。



4.3.3 核糖体的功能

在多肽合成过程中，由不同的**tRNA**将相应的氨基酸带到蛋白质合成部位，并与**mRNA**进行专一性的相互作用，以选择对信息专一的**AA-tRNA**。核糖体还必须能同时容纳另一种携带肽链的**tRNA**，即**肽基tRNA (peptidyl-tRNA)**，并使之处于肽键易于生成的位置上。



核糖体上至少有5个活性中心，即**mRNA**结合部位、结合或接受**AA-tRNA**部位（**A**位）、结合或接受**肽基tRNA**的部位、**肽基转移**部位（**P**位）及形成**肽键**的部位（**转肽酶中心**）。此外，还应有负责**肽链延伸**的各种**延伸因子**的结合位点。



核糖体小亚基负责对模板 **mRNA** 进行序列特异性识别，大亚基负责携带氨基酸及 **tRNA** 的功能，肽键的形成、**AA-tRNA**、肽基-**tRNA** 的结合等，**A**位、**P**位、转肽酶中心等主要在大亚基上。



4.4 蛋白质合成的生物学机制

核糖体是蛋白质合成的场所，mRNA是蛋白质合成的模板，转移RNA是模板与氨基酸之间的接合体。

蛋白质合成是一个需能反应。真核生物中可能有近300种生物大分子参与蛋白质的生物合成，这些组分约占细胞干重的35%。



细胞用来进行合成代谢总能量的90%消耗在蛋白质合成过程中。

大肠杆菌只需要5-6秒钟就能合成一条由100个氨基酸组成的多肽。

蛋白质的生物合成包括氨基酸活化、肽链的起始、延伸、终止以及新合成多肽链的折叠和加工。



表4-13 蛋白质合成各阶段的主要成分简表

| 阶 段 | 必 需 组 分 |
|-----------|-------------------------|
| 1. 氨基酸的活化 | 20种氨基酸 |
| | 20种氨基酰-tRNA合成酶 |
| | 20种或更多的tRNA |
| | ATP, Mg ²⁺ |
| 2. 肽链的起始 | mRNA |
| | N-甲酰甲硫氨酰-tRNA |
| | mRNA上的起始密码子 (AUG) |
| | 核糖体小亚基 |
| | 核糖体大亚基 |
| | GTP, Mg ²⁺ |
| 3. 肽链的延伸 | 起始因子 (IF-1, IF-2, IF-3) |
| | 功能核糖体 (起始复合物) |
| | AA-tRNA |
| | 伸长因子 |
| | GTP, Mg ²⁺ |
| 4. 肽链的终止 | 肽基转移酶 |
| | ATP |
| | MRNA上的终止密码子 |
| | 释放因子 (RF-1, RF-2, RF-3) |
| 5. 折叠和加工 | 参与起始氨基酸的切除、修饰等加工过程的酶 |



4.4.1 氨基酸的生物学特性与生物合成

高等动物不能合成大约一半氨基酸，只能从食物中获取这些必需氨基酸（**Essential**）。

表18-1 人体必需氨基酸

| 非必需 | 必需 |
|------------|---------------|
| Alanine | Arginine* |
| Asparagine | Histidine |
| Aspartate | Isoleucine |
| Cysteine | Leucine |
| Glutamate | Lysine |
| Glutamine | Methionine |
| Glycine | Phenylalanine |
| Proline | Threonine |
| Serine | Tryptophan |
| Tyrosine | Valine |

*. 哺乳期至幼儿期必需。



表4-14 参与蛋白质合成的20种氨基酸主要特征分析

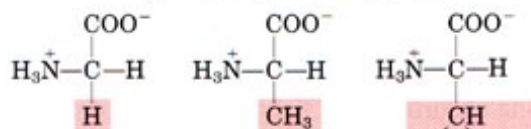
| 氨基酸 | 简称 | | 分子量 | pI | 疏水性指数 | 出现频率 |
|--------------------|-----------------|----------|------------|-------------|-------------|------------|
| 非极性 带脂肪族R基 团 | | | | | | |
| 甘氨酸 | Gly | G | 75 | 5.97 | -0.4 | 7.2 |
| 丙氨酸 | Ala | A | 89 | 6.01 | 1.8 | 7.8 |
| 缬氨酸 | Val | V | 117 | 5.97 | 4.2 | 6.6 |
| 亮氨酸 | Leu | L | 131 | 5.98 | 3.8 | 9.1 |
| 异亮氨酸 | Ile | I | 131 | 6.02 | 4.5 | 5.3 |
| 甲硫氨酸 | Me t | M | 149 | 5.74 | 1.9 | 2.3 |
| 带芳香族R基 团 | | | | | | |
| 苯丙氨酸 | Phe | F | 165 | 5.48 | 2.8 | 3.9 |
| 酪氨酸 | Tyr | Y | 181 | 5.66 | -1.3 | 3.2 |
| 色氨酸 | Trp | W | 204 | 5.89 | -0.9 | 1.4 |



| | | | | | | |
|----------------------|------------|----------|------------|--------------|-------------|------------|
| 极性 R基团呈中型 | | | | | | |
| 丝氨酸 | Ser | S | 105 | 5.68 | -0.8 | 6.8 |
| 脯氨酸 | Pro | P | 115 | 6.48 | 1.6 | 5.2 |
| 苏氨酸 | Thr | T | 119 | 5.87 | -0.7 | 5.9 |
| 半胱氨酸 | Cys | C | 121 | 5.07 | 2.5 | 1.9 |
| 天门冬酰胺 | Asn | N | 132 | 5.41 | -3.5 | 4.3 |
| 谷氨酰胺 | Gln | Q | 146 | 5.65 | -3.5 | 4.2 |
| R基团带正电荷 | | | | | | |
| 赖氨酸 | Lys | K | 146 | 9.74 | -3.9 | 5.9 |
| 组氨酸 | His | H | 155 | 7.59 | -3.2 | 2.3 |
| 精氨酸 | Arg | R | 174 | 10.76 | -4.5 | 5.1 |
| R基团带负电荷 | | | | | | |
| 天门冬氨酸 | Asp | D | 133 | 2.77 | -3.5 | 5.3 |
| 谷氨酸 | Glu | E | 147 | 3.22 | -3.5 | 6.3 |

图4-11 20种氨基酸的结构

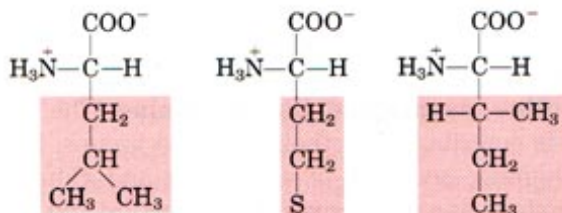
Nonpolar, aliphatic R groups



Glycine

Alanine

Valine

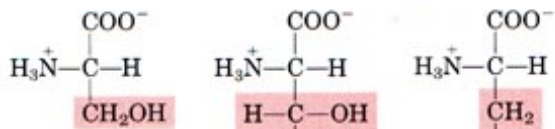


Leucine

Methionine

Isoleucine

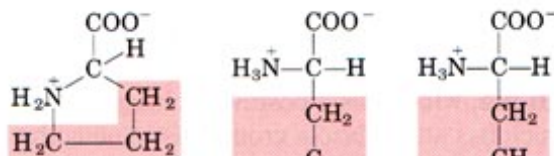
Polar, uncharged R groups



Serine

Threonine

Cysteine

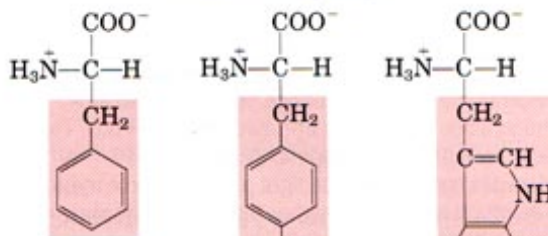


Proline

Asparagine

Glutamine

Aromatic R groups

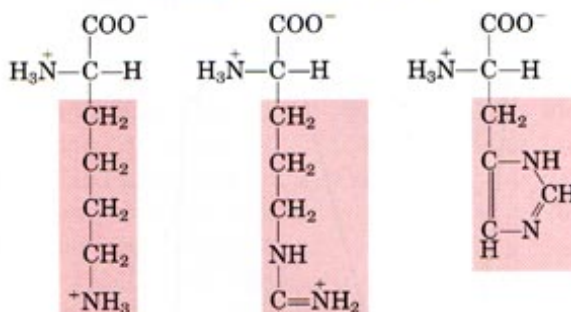


Phenylalanine

Tyrosine

Tryptophan

Positively charged R groups

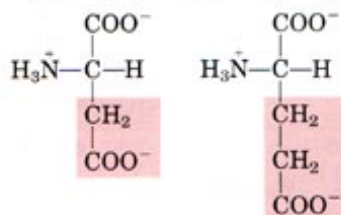


Lysine

Arginine

Histidine

Negatively charged R groups



Aspartate

Glutamate

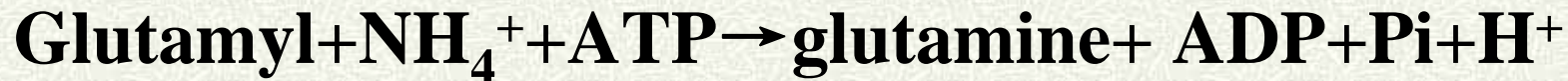


谷氨酰胺合成酶是氮代谢中的主要调控位点。

铵通过谷氨酸→谷氨酰胺被结合到有机物质中。
主要有两步反应：



总结：



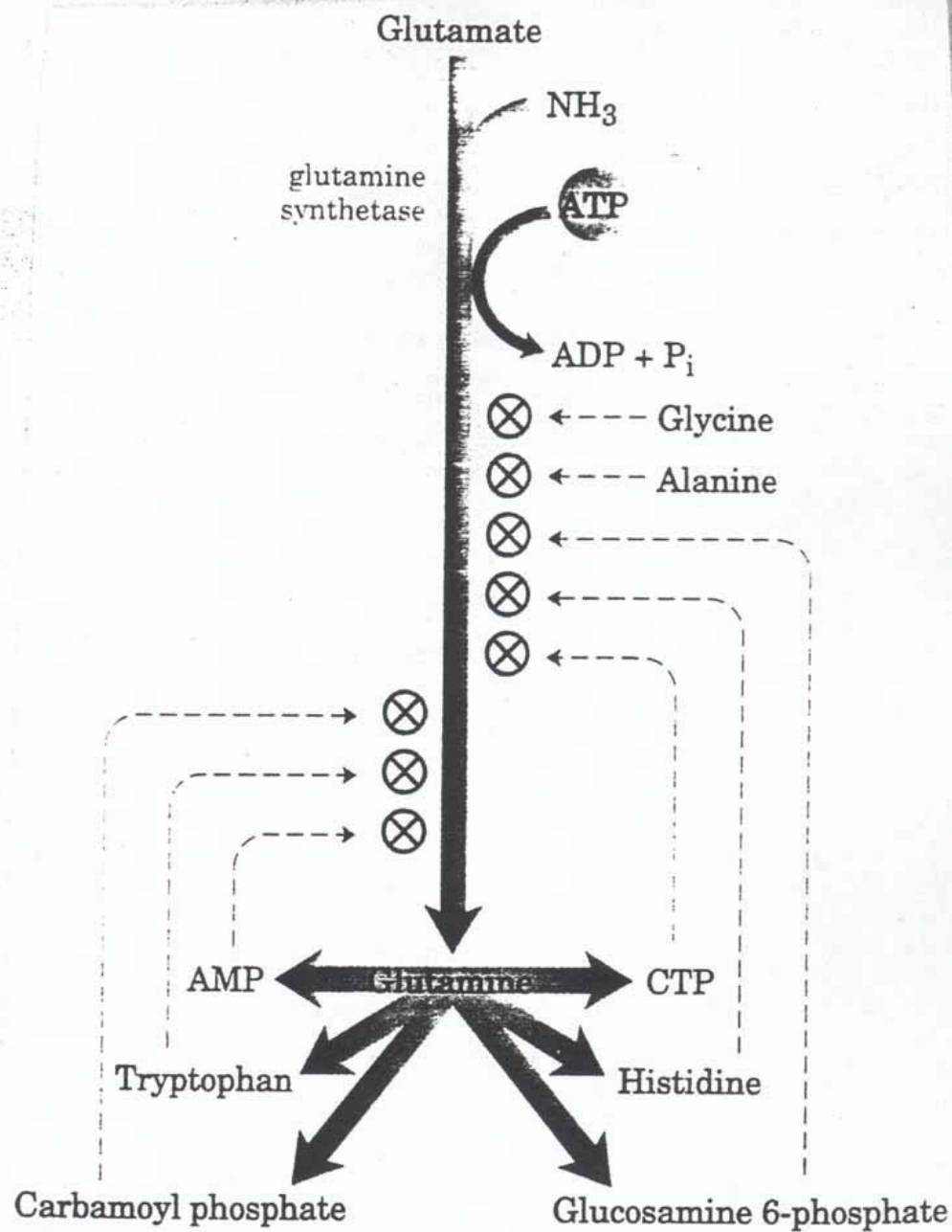


figure 22-6

Allosteric regulation of Glutamine synthetase



在大肠杆菌中，**GS**由**12**个相同的亚基（**50kDa**）聚合而成，其活性既通过构象变化，也能通过共价修饰的方式得到调节。

Alanine，**Glycine**和其它至少**6**种**gln**代谢产物都是**GS**活性的变构抑制剂，每个抑制剂都只有部分抑制作用。



除了 **Allosteric regulation** 之外，**Glutamine synthetase** 的活性还受共价修饰的调节——**Inhibition by Adenylylation**。

Addition of AMP to Tyr³⁹⁷.

P_{ii}-UMP stimulates deadenylylation while

P_{ii} alone stimulates adenylylation of GS.

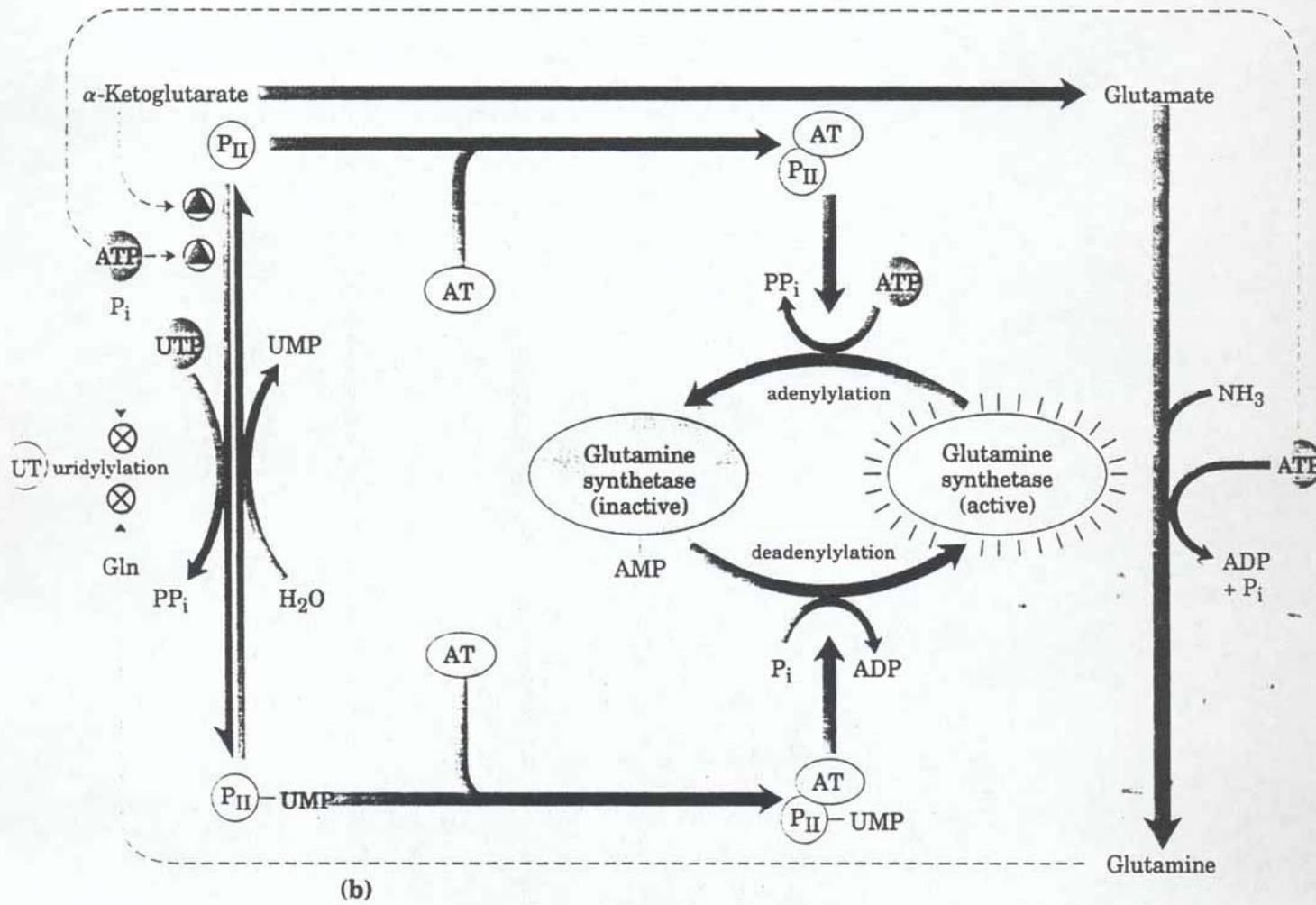
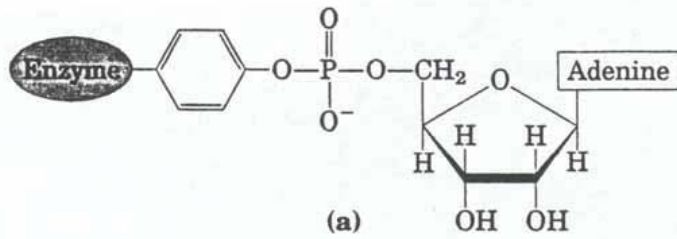


figure 22-7



表22-1 氨基酸合成的六条主要途径

| | |
|----------------------|---------|
| α -酮戊二酸 途径 | 丙酮酸途径 |
| 谷氨酸 | Alanine |
| 谷氨酰胺 | Valine |
| 脯氨酸 | Leucine |
| 精氨酸 | |



| | |
|---------------|--------------------|
| | |
| 3 -磷酸甘油 途径 | 磷酸烯醇或丙酮 酸和磷酸赤藓糖 |
| Serine | Tryptophan |
| Glycine | Phenylalanine |
| Cysteine | Tyrosine |



| | |
|------------|-----------|
| 草酰乙酸途径 | 核糖-5-磷酸途径 |
| Aspartate | Histidine |
| Asparagine | |
| Methionine | |
| Threonine | |
| Lysine | |
| Isoleucine | |



4. 4. 2 氨基酸的活化

蛋白质合成的起始是指在模板mRNA编码区5'端形成核糖体-mRNA-起始tRNA复合物并将甲酰甲硫氨酸放入核糖体P位点。

原核生物中30S小亚基首先与mRNA模板相结合，再与fMet-tRNA^{fMet}结合，最后与50S大亚基结合。



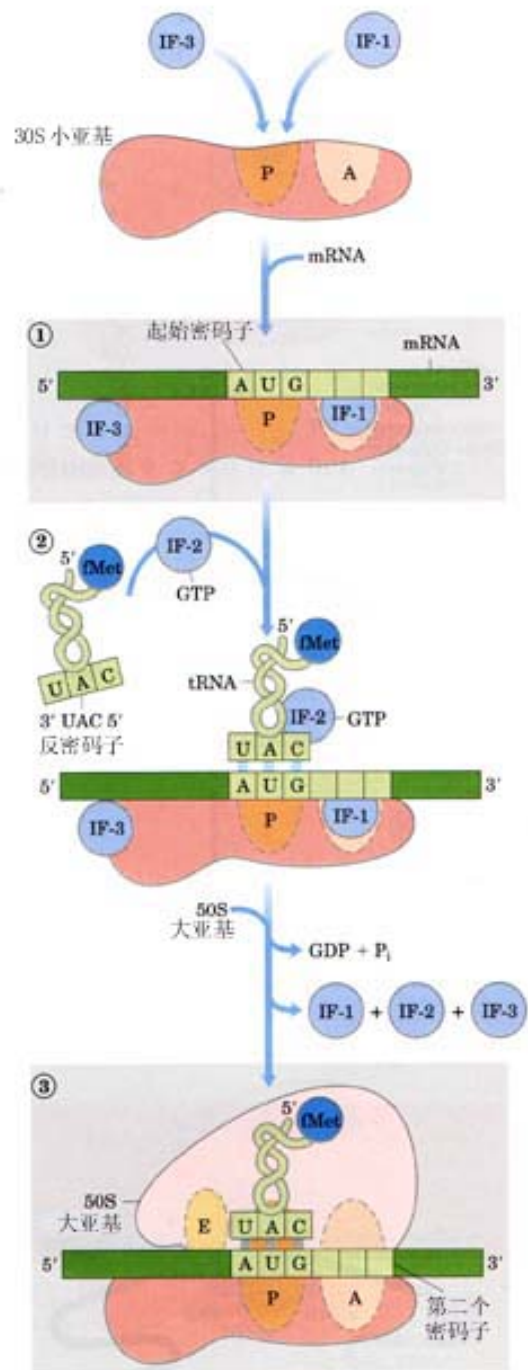
真核生物中，**40S**小亚基首先与**Met-tRNA^{Met}**相结合，再与模板**mRNA**结合，最后与**60S**大亚基结合生成**80S·mRNA·Met-tRNA^{Met}**起始复合物。

起始复合物的生成除了**GTP**外，还需要**Mg²⁺**、**NH₄⁺**及**3**个起始因子（**IF-1**、**IF-2**、**IF-3**）。



4. 4. 3 翻译的起始

图4-12 翻译起始复合物的形成。





第一步，**30S**小亚基与翻译起始因子**IF-1**，**IF-3**结合，通过**SD**序列与**mRNA**模板相结合。

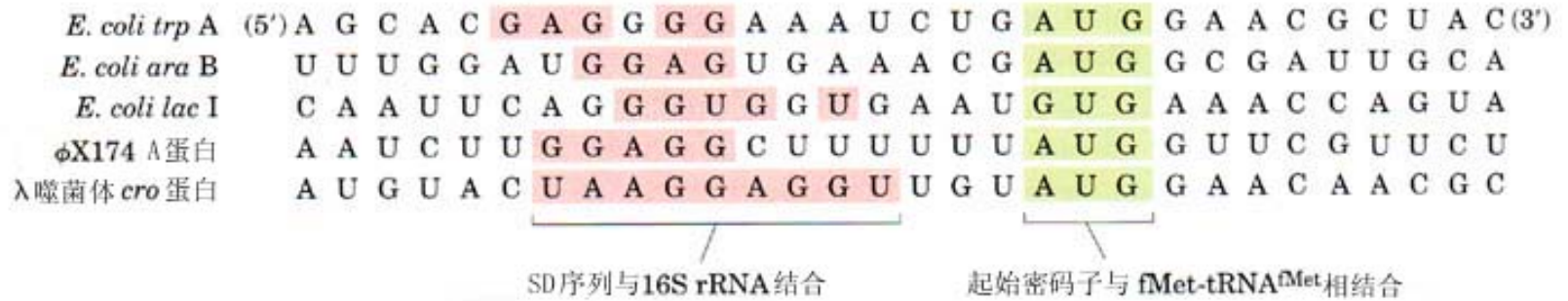
第二步，**fMet-tRNA^{fMet}**在**IF-2**的协同下进入小亚基的**P**位，**tRNA**上的反密码子与**mRNA**上的起始密码子配对。

第三步，带有**tRNA**、**mRNA**、三个翻译起始因子的小亚基复合物与**50S**大亚基结合，释放翻译起始因子。



30S亚基具有专一性的识别和选择 mRNA 起始位点的性质，IF3 协助该亚基完成这种选择。

Shine 及 Dalgarno 等证明几乎所有原核生物 mRNA 上都有一个 5'-AGGAGGU-3' 序列，这个富嘌呤区与 30S 亚基上 16S rRNA 3' 末端的富嘧啶区 5'-GAUCACCUCCUUA-3' 相互补。



(a)



(b)

图4-13 细菌mRNA分子上往往存在一个与16S rRNA 3'末端相互补的SD序列。



细菌核糖体上一般存在三个与氨基酸-tRNA结合的位点，即A位点（aminoacyl site），P位点（peptidyl site）和E位点（Exit site）。只有fMet-tRNA^{fMet}能与第一个P位点相结合，其它所有tRNA都必须通过A位点到达P位点，再由E位点离开核糖体。



真核生物蛋白质生物合成的起始基本与原核生物相同，只不过其核糖体较大，有较多的起始因子，mRNA具有 $m^7GpppNp$ 帽子结构，Met-tRNA^{Met} 不甲酰化，mRNA分子5'端的“帽子”和3'端的多聚A都参与形成翻译起始复合物（图4-14）。

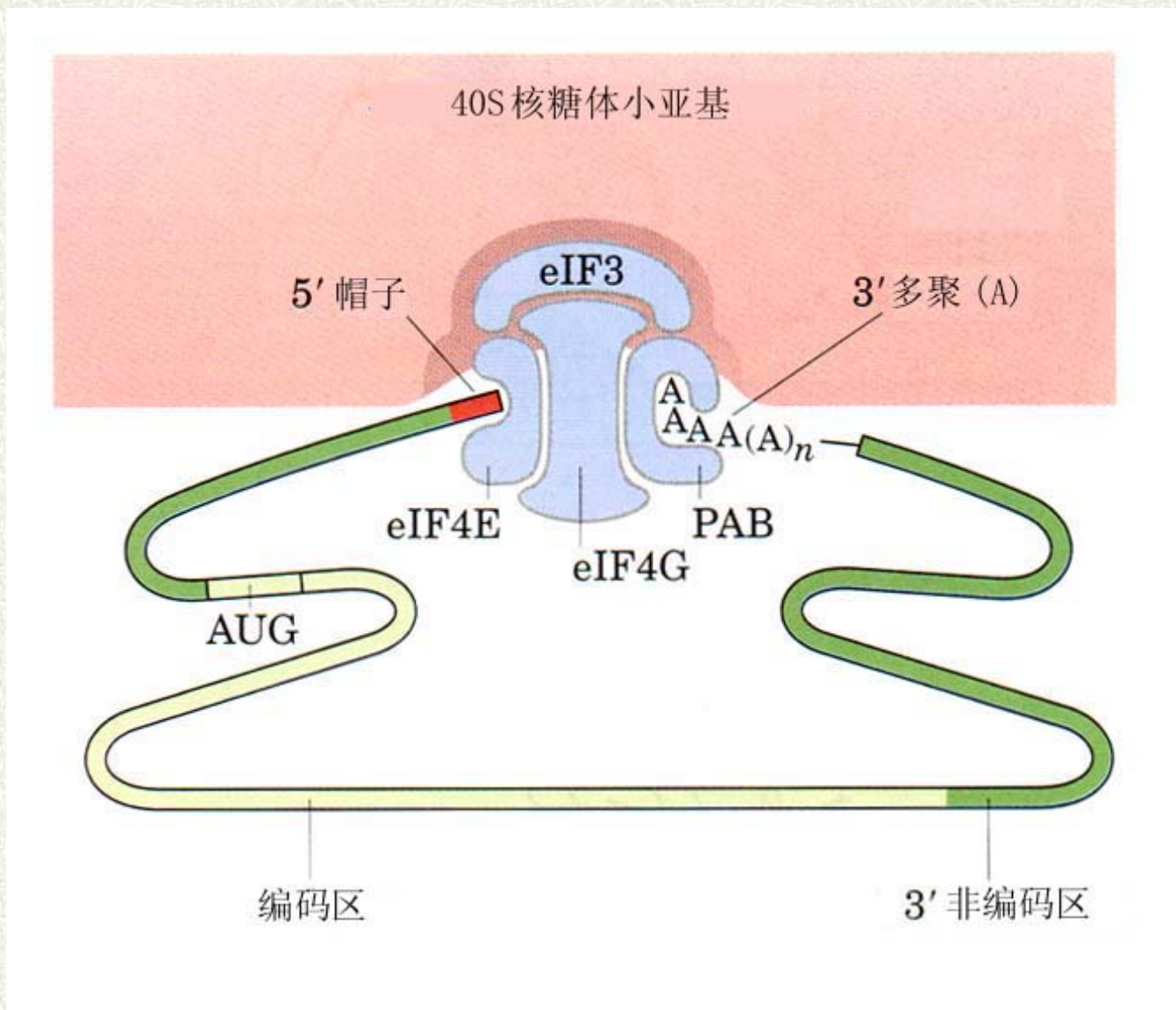


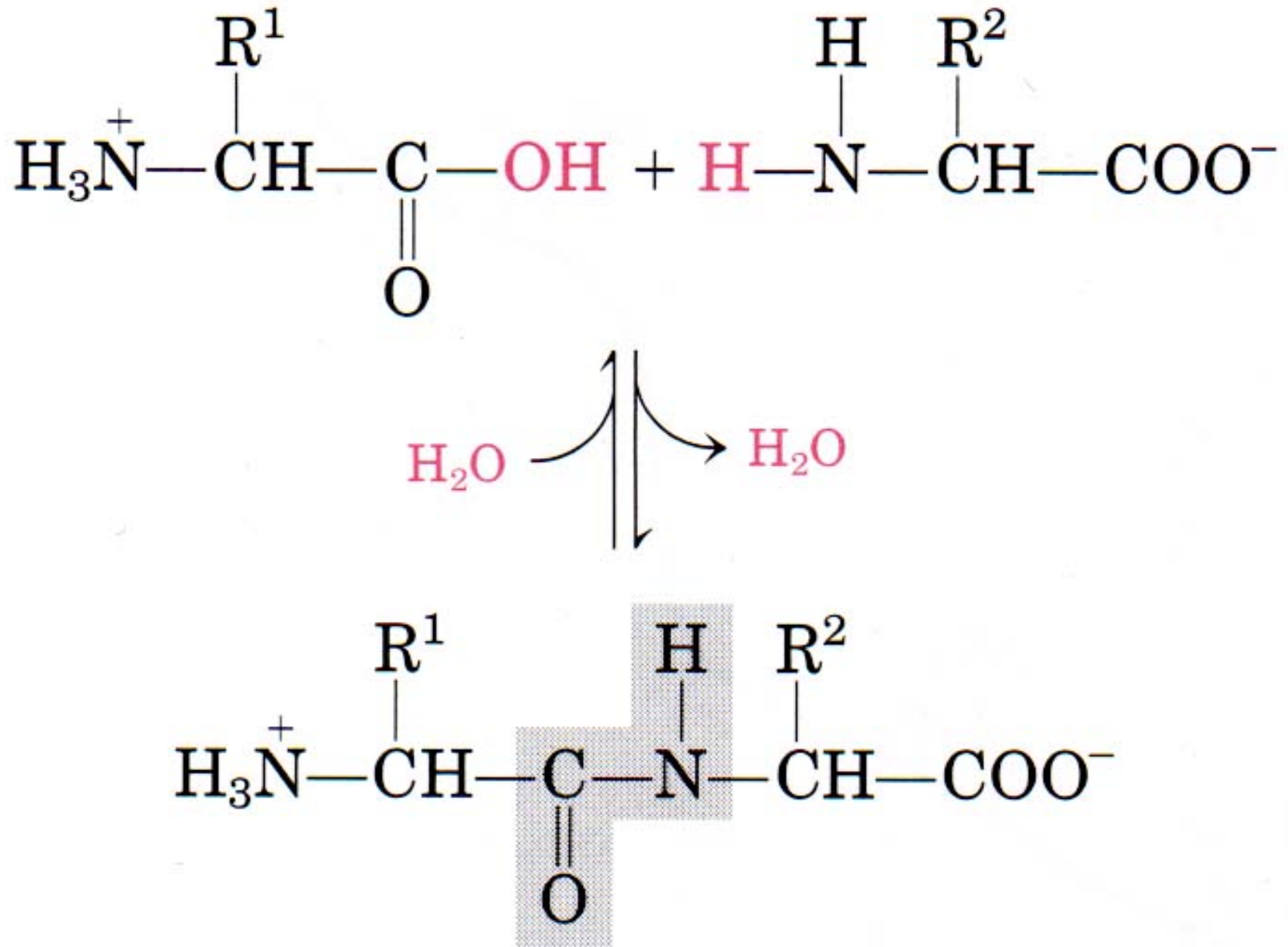
图4-14 真核生物翻译起始复合物的形成。



4.4.4 肽链的延伸

生成起始复合物，第一个氨基酸（**fMet/Met-tRNA**）与核糖体结合以后，肽链开始伸长。按照**mRNA**模板密码子的排列，氨基酸通过新生肽键的方式（图**4-15**）被有序地结合上去。肽链延伸中的每个循环都包括**AA-tRNA**与核糖体结合、肽键的生成和移位三步。

图4-15 多肽链上肽键的形成——缩合反应。





1. 后续AA-tRNA与核糖体结合

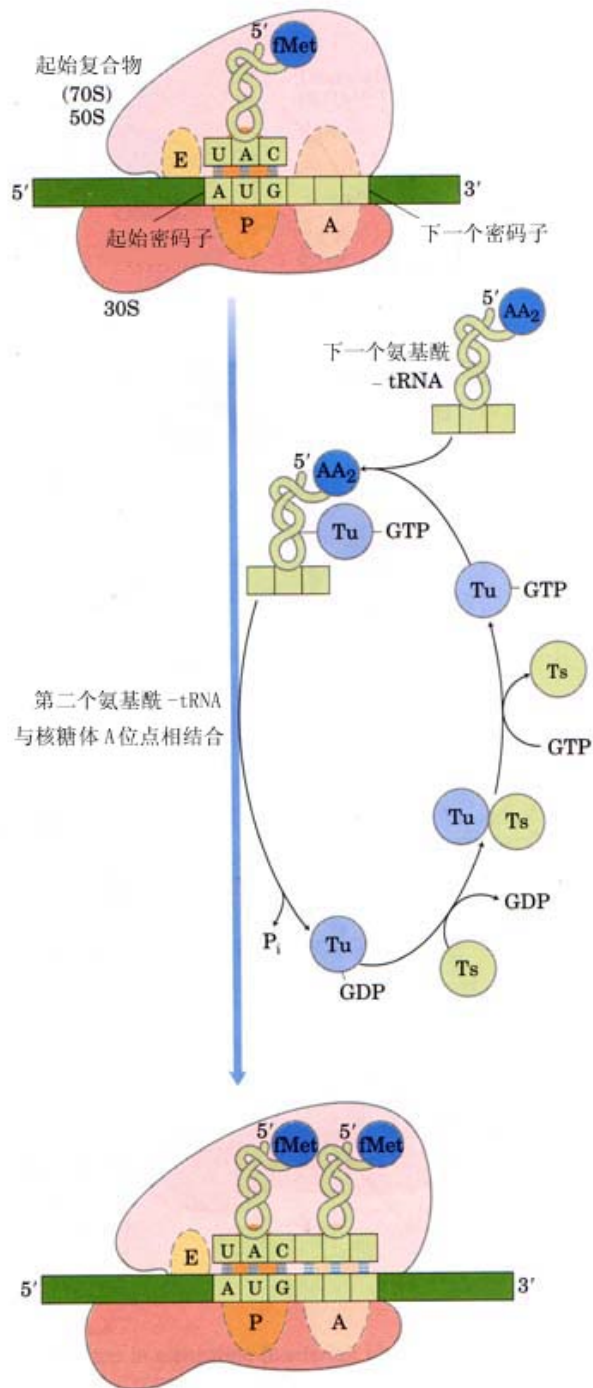
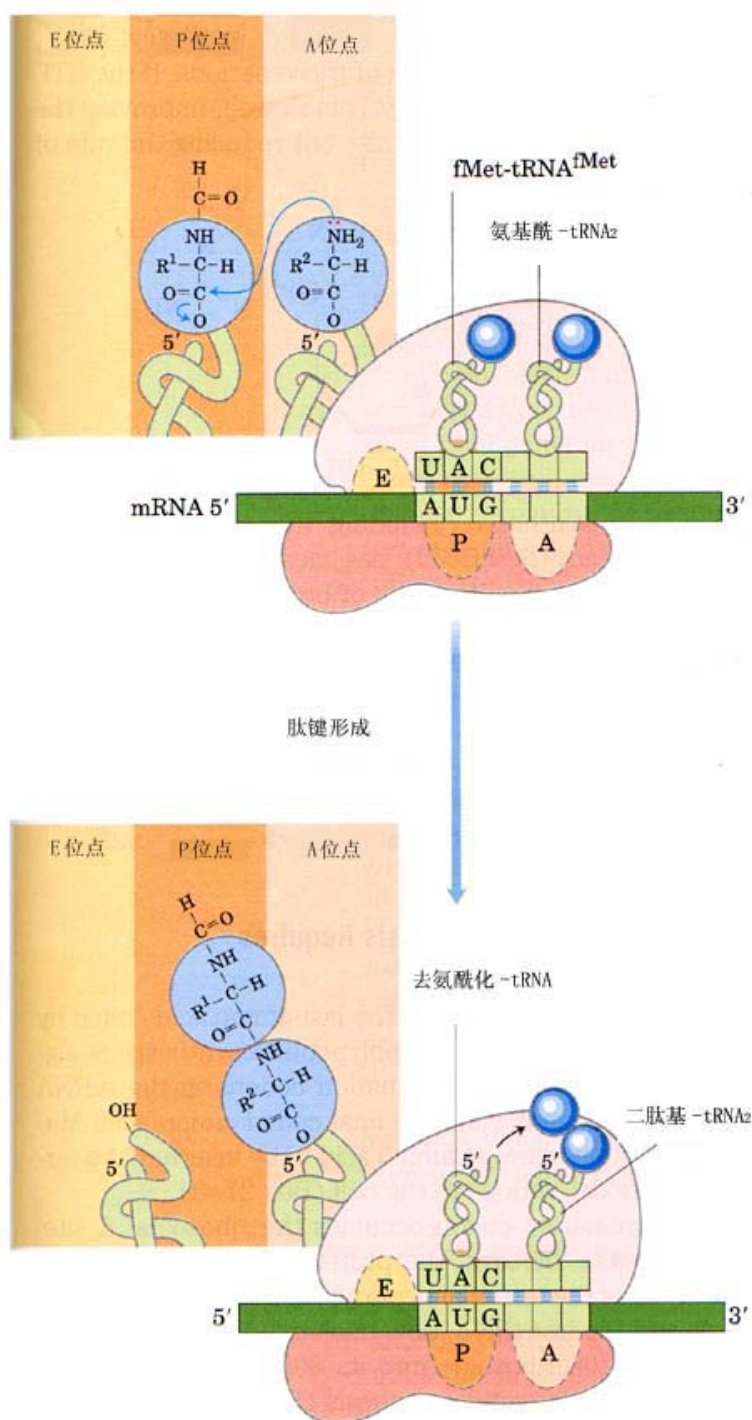


图4-16 细菌中肽链延伸的第一步反应：第二个氨基酸-tRNA的结合。该氨基酸-tRNA首先与EF-Tu·GTP形成复合物，进入核糖体的A位，水解产生GDP并在EF-Ts的作用下释放GDP并使EF-Tu结合另一分子GTP，进入新一轮循环。



由于**EF-Tu**只能与**fMet-tRNA**以外的其他**AA-tRNA**起反应，所以起始**tRNA**不会被结合到**A**位上，**mRNA**内部的**AUG**不会被起始**tRNA**读出，肽链中间不会出现甲酰甲硫氨酸。



2. 肽键的生成

图4-17 细菌中肽链延伸的第二步反应：
肽键的生成。



在核糖体·mRNA·AA-tRNA复合物中，AA-tRNA占据A位，fMet-tRNA^{fMet}占据P位。

在肽基转移酶（peptidyl transferase）的催化下，A位上的AA-tRNA转移到P位，与fMet-tRNA^{fMet}上的氨基酸生成肽键。

起始tRNA在完成使命后离开核糖体P位点，A位点准备接受新的AA-tRNA，开始下一轮合成反应。



3. 移位

肽键延伸的最后一步是移位，即核糖体向mRNA 3'端方向移动一个密码子。

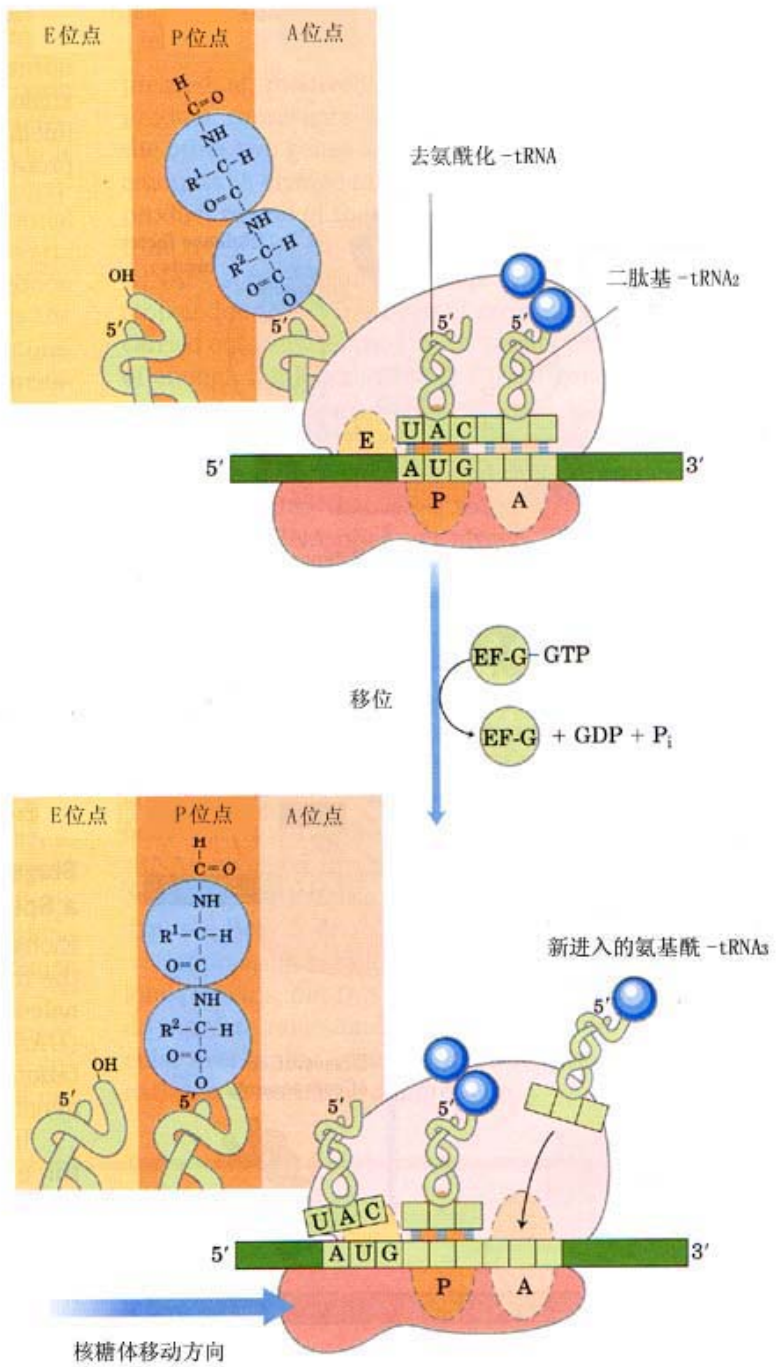


图4-18 细菌中肽链延伸的第三步反应：移位。核糖体通过EF-G介导的GTP水解所提供的能量向mRNA模板3'末端移动一个密码子，使二肽基-tRNA完全进入P位，准备开始新一轮肽链延伸。



用嘌呤霉素作为抑制剂做实验表明，核糖体沿mRNA移动与肽基-tRNA的移位这两个过程是耦联的。肽链延伸是由许多个这样的反应组成的，原核生物中每次反应共需3个延伸因子，EF-Tu、EF-Ts及EF-G，真核生物细胞需EF-1及EF-2，消耗2个GTP，向生长中的肽链加上一个氨基酸。



4.4.5 肽链的终止

当终止密码子**UAA**、**UAG**或**UGA**出现在核糖体的**A**位时，没有相应的**AA-tRNA**能与之结合，而释放因子能识别这些密码子并与之结合，水解**P**位上多肽链与**tRNA**之间的二酯键，释放新生的肽链和**tRNA**，核糖体大、小亚基解体，蛋白质合成结束。

释放因子**RF**具有**GTP**酶活性，它催化**GTP**水解，使肽链与核糖体解离。



细菌细胞内存在三种终止因子（或称释放因子，**RF1**，**RF2**，**RF3**），**RF1**能识别**UAG**和**UAA**，**RF2**识别**UGA**和**UAA**。一旦**RF**与终止密码相结合，它们就能诱导肽基转移酶把一个水分子而不是氨基酸加到延伸中的肽链上。**RF3**可能与核糖体的解体有关。

真核细胞只有一个（**RF**）终止因子。



4.4.6 蛋白质前体的加工

1、N端fMet或Met的切除

无论原核生物还是真核生物，N端的甲硫氨酸往往在多肽链合成完毕前就被切除。**50%**的真核蛋白中，成熟蛋白N端残基会被N-乙基化。

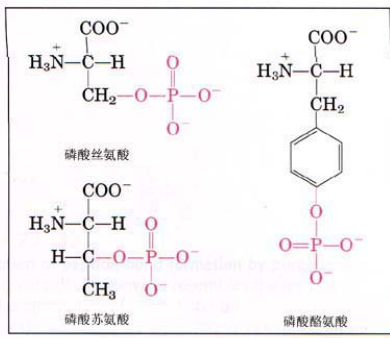
2、二硫键的形成

mRNA中没有胱氨酸密码子，而不少蛋白质都含有二硫键。蛋白质合成后往往通过两个半胱氨酸的氧化作用生成胱氨酸。



3、特定氨基酸的修饰

氨基酸侧链的修饰作用包括磷酸化（如核糖体蛋白质）、糖基化（如各种糖蛋白）、甲基化（如组蛋白、肌肉蛋白质）、乙基化（如组蛋白）、羟基化（如胶原蛋白）和羧基化等，图4-20是生物体内最普通发生修饰作用的氨基酸残基及其修饰产物。



(a)



(b)

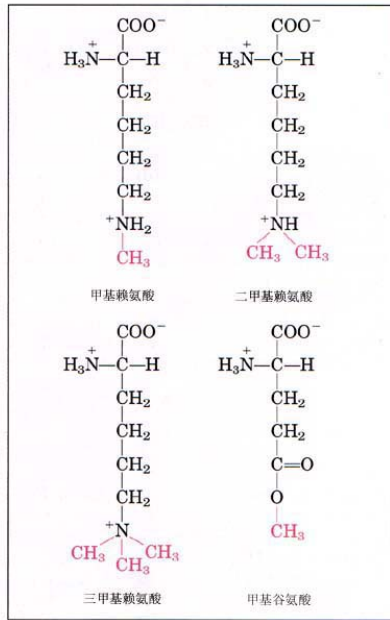


图4-20 生物体内最常见的被修饰的氨基酸及其修饰产物。

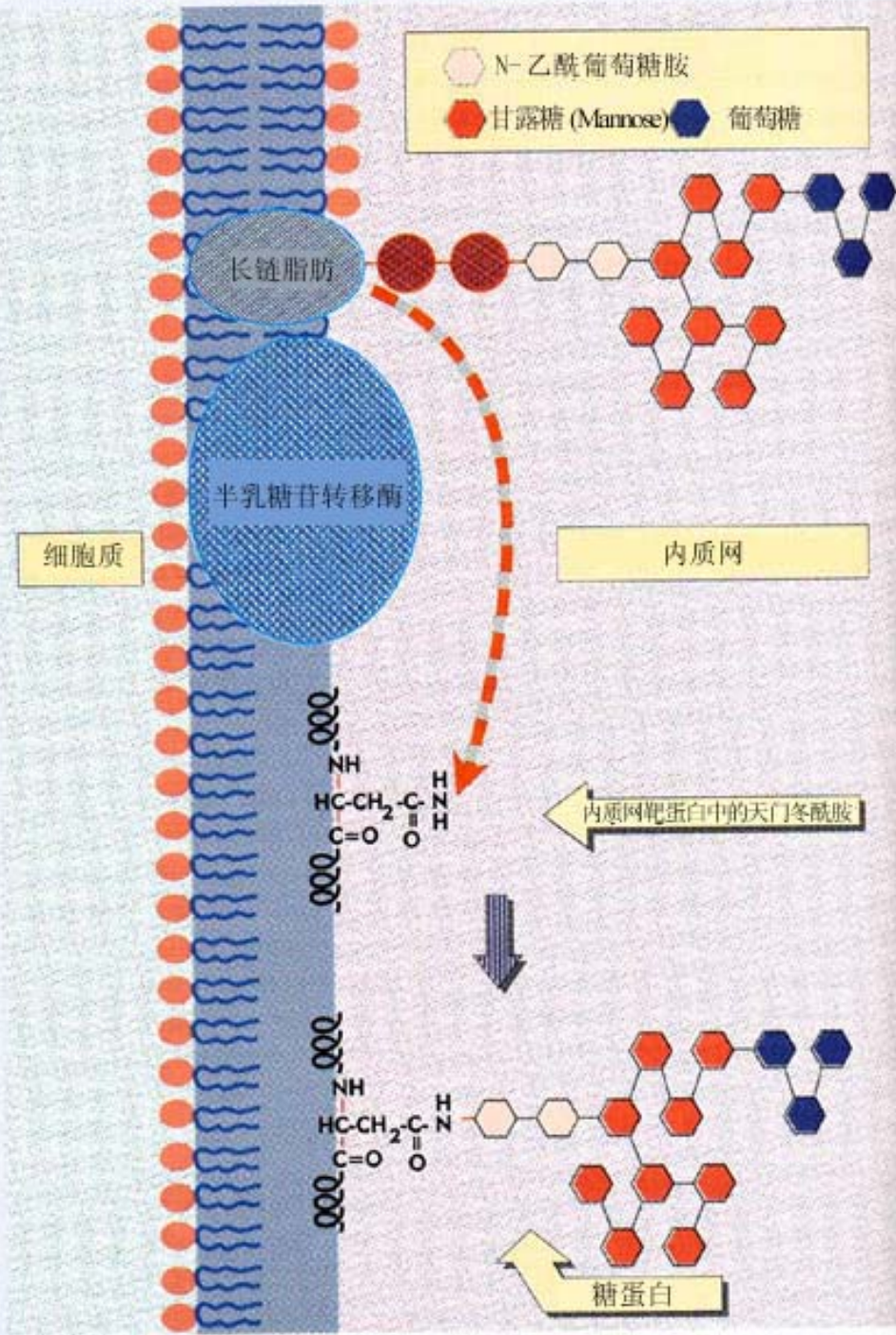


糖蛋白主要是蛋白质侧链上的天冬氨酸、丝氨酸、苏氨酸残基加上糖基形成的，胶原蛋白上的脯氨酸和赖氨酸多数是羟基化的。实验证明，内质网可能是蛋白质N-糖基化的主要场所（图4-22）。



An oligosaccharide is formed on dolichol and transferred by glycosyl transferase to asparagine of a target protein.

图4-22 内质网可能是蛋白质N-糖基化的主要场所。



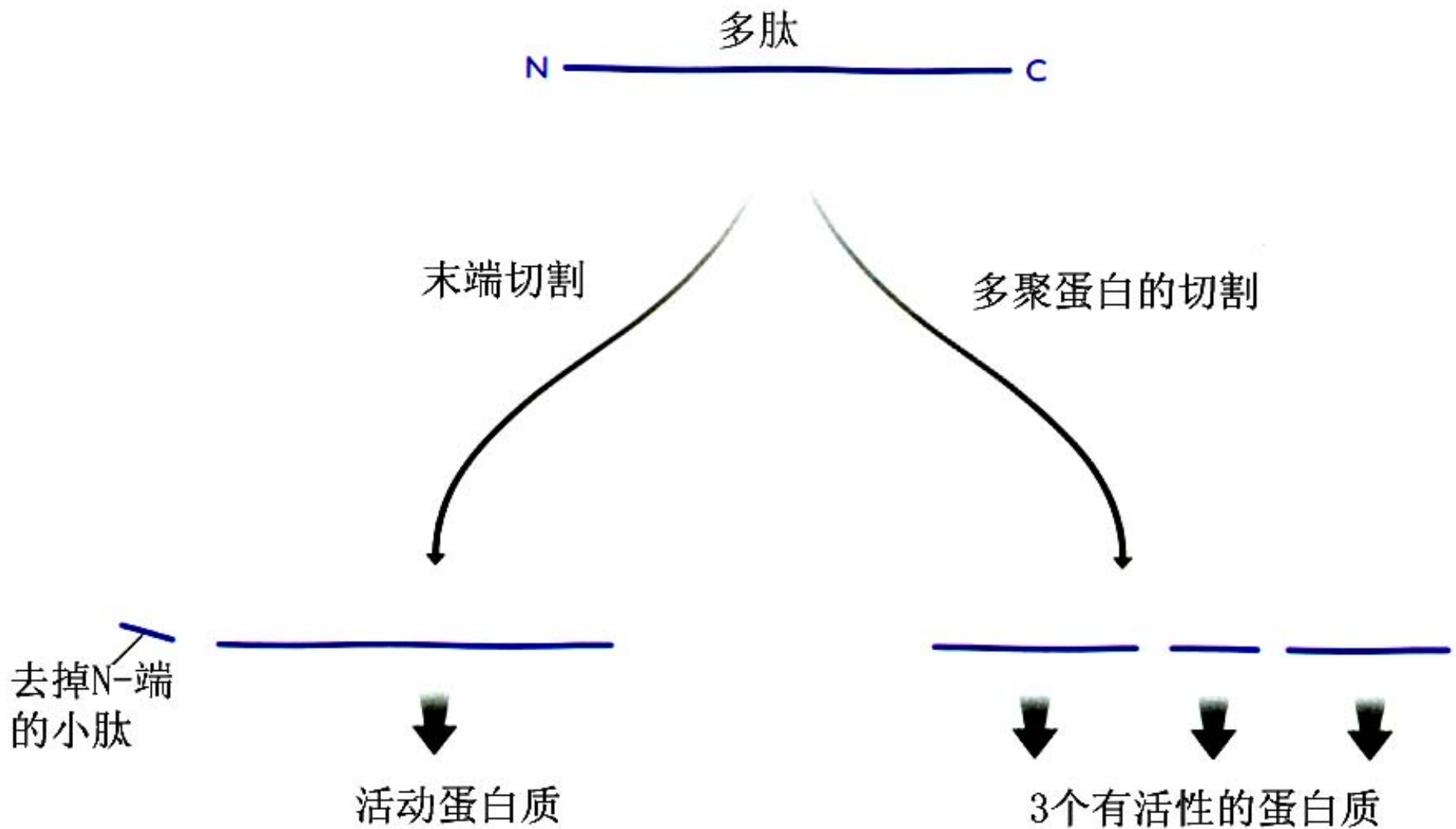


图4-19 新生蛋白质经蛋白酶切割后变成有功能的成熟蛋白质。左：新生蛋白质在去掉N端一部分残基后变成有功能的蛋白质；右：某些病毒或细菌可合成无活性的多聚蛋白质，经蛋白酶切割后成为有功能成熟蛋白。

NLPE&PGE



图4-21 发生在小牛组蛋白H3前35个氨基酸残基中的4种化学修饰。

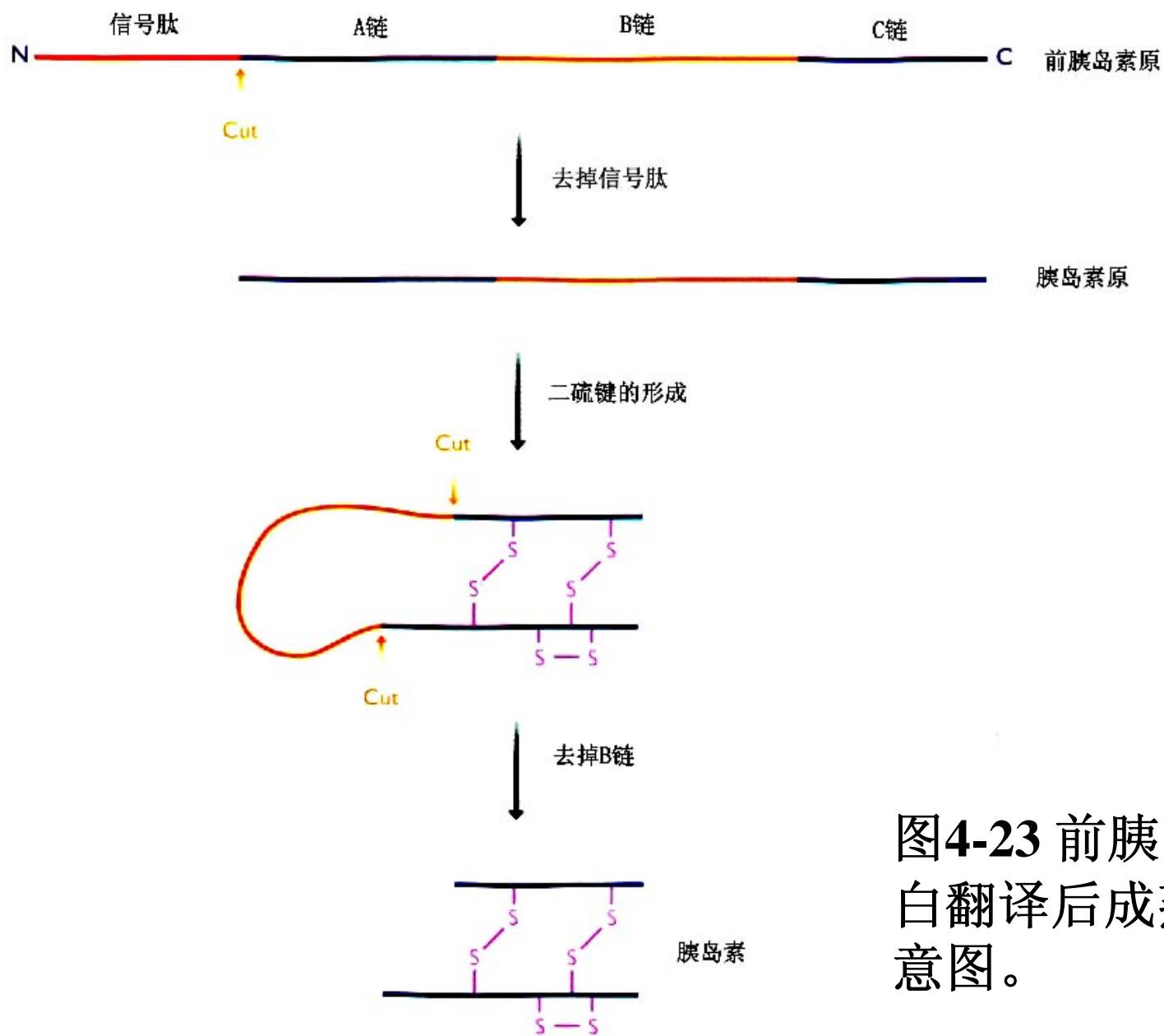


图4-23 前胰岛素原蛋白翻译后成熟过程示意图。



酶切位点



图4-24 蜂毒蛋白只有经蛋白酶水解切除N-端的22个氨基酸以后才有生物活性。该胞外蛋白酶只能特异性切割X-Y2肽，其中X是丙氨酸，天门冬氨酸和谷氨酸，Y是丙氨酸或脯氨酸。

NLPE&PGE



4.4.7 蛋白质合成抑制剂

蛋白质生物合成的抑制剂主要是一些抗生素，如嘌呤霉素、链霉素、四环素、氯霉素、红霉素等。此外，5-甲基色氨酸、环己亚胺、白喉毒素、蓖麻蛋白和其他核糖体灭活蛋白都能抑制蛋白质的合成。



链霉素是一种碱性三糖，能干扰 **fMet-tRNA** 与核糖体的结合，从而阻止蛋白质合成的正确起始，也会导致 **mRNA** 的错读。若以多聚 (U) 作模板，则除苯丙氨酸 (UUU) 外，异亮氨酸 (AUU) 也会被掺入。

链霉素的作用位点在 **30S** 亚基上。

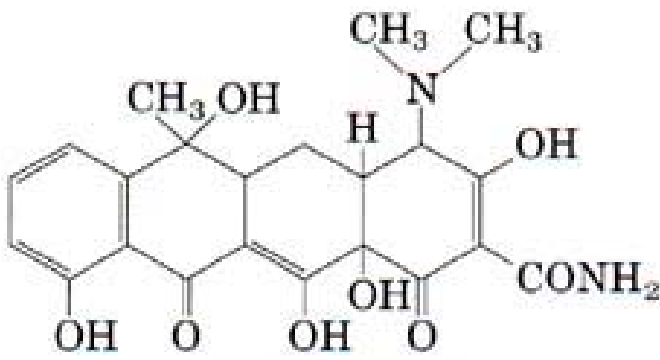


4、切除新生肽链中非功能片段

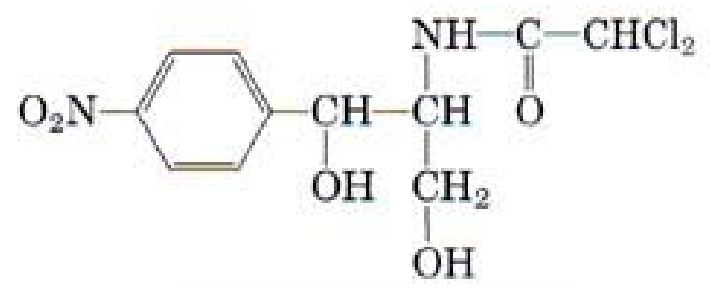
如新合成的胰岛素前体是前胰岛素原，必须先切去信号肽变成胰岛素原，再切去C-肽，才变成有活性的胰岛素。

脊髓灰质炎病毒的mRNA可翻译成很长的多肽链，含多种病毒蛋白，经蛋白酶在特定位置上水解后得到几个有功能的蛋白质分子。

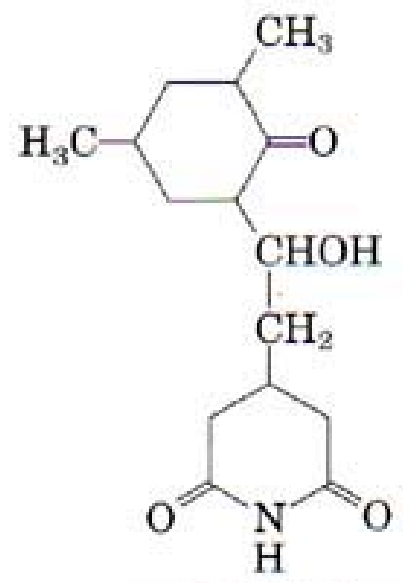
不少多肽类激素和酶的前体如血纤维蛋白原、胰蛋白酶原都要经过加工才能变为活性分子。



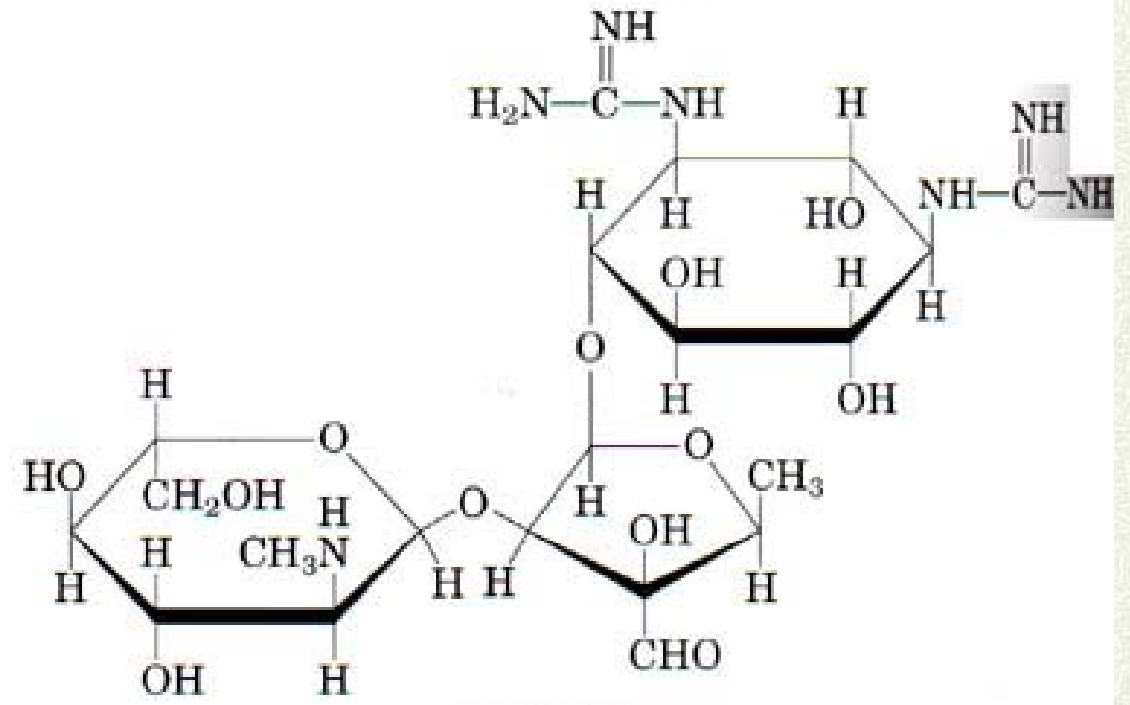
四环素



氯霉素



环己酰亚胺



链霉素

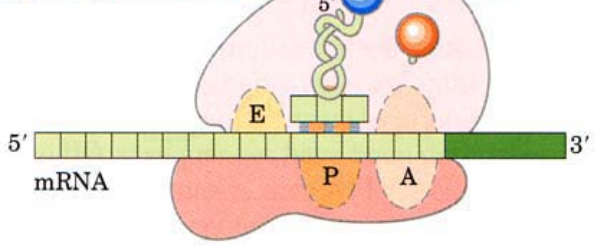
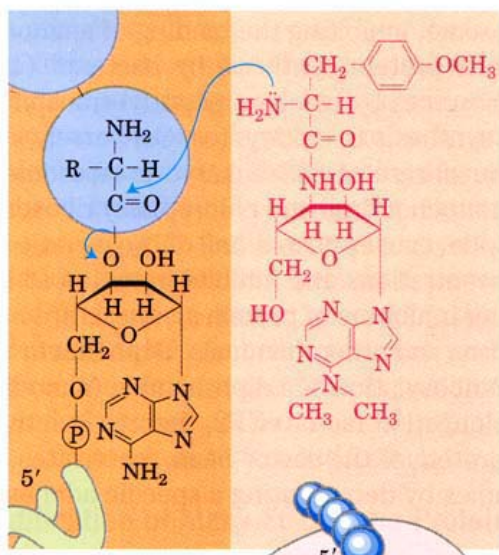
图4-25几种常见蛋白质合成抑制剂的结构式。



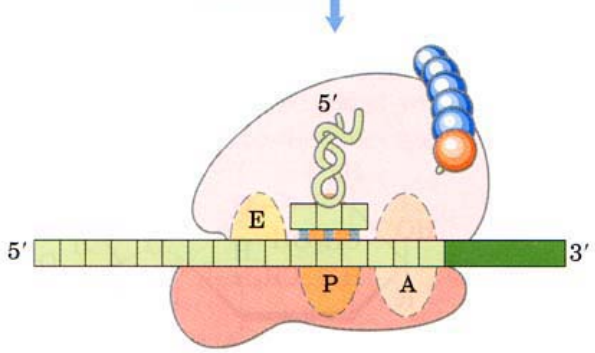
嘌呤霉素是AA-tRNA的结构类似物，能结合在核糖体的A位上，抑制AA-tRNA的进入。它所带的氨基也能与生长中的肽链上的羧基反应生成肽键，反应的产物是一条3'羧基端挂了一个嘌呤霉素残基的小肽。

P位点
肽基 tRNA

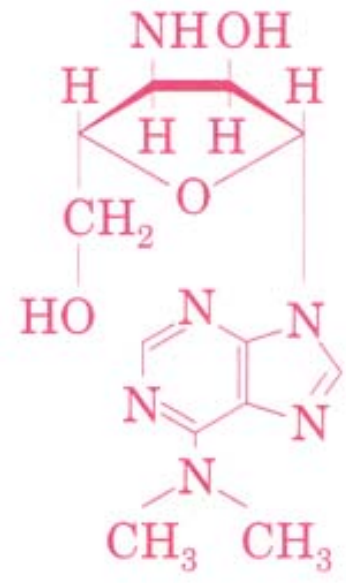
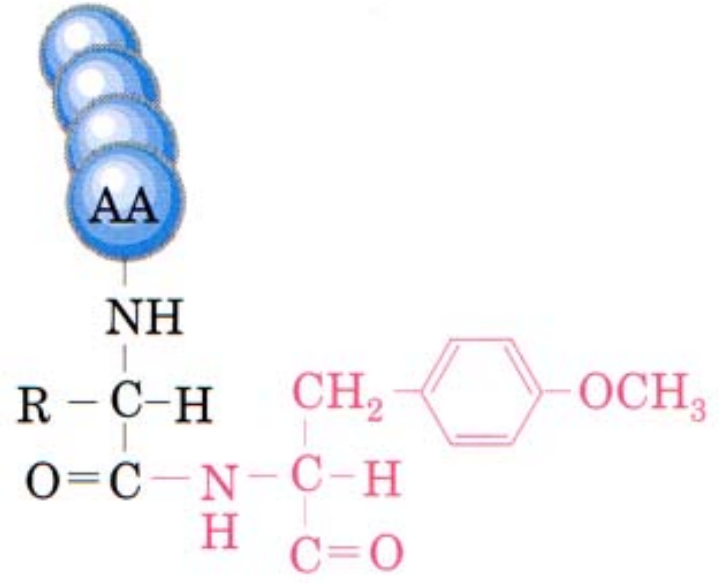
A位点
嘌呤霉素



肽基转移酶



(a)



(b)

图4-26 嘌呤霉素抑制蛋白质合成的分子机制。
 a. 嘌呤霉素的结构类似于带有氨基酰的 tRNA，能与核糖体 A 位点相结合；
 b. 肽基嘌呤霉素



青霉素、四环素和红霉素只与原核细胞核糖体发生作用，从而阻遏原核生物蛋白质的合成，抑制细菌生长。

氯霉素和嘌呤霉素既能与原核细胞核糖体结合，又能与真核生物核糖体结合，妨碍细胞内蛋白质合成，影响细胞生长。



4.5 蛋白质运转机制

由于细胞各部分都有特定的蛋白质组分，因此合成的蛋白质必须准确无误地定向运送才能保证生命活动的正常进行。



若某个蛋白质的合成和运转是同时发生的，则属于翻译运转同步机制；若蛋白质从核糖体上释放后才发生运转，则属于翻译后运转机制。

这两种运转方式都涉及到蛋白质分子内特定区域与细胞膜结构的相互关系。



表4-15 几类主要蛋白质的运转机制

| 蛋白性质 | 运转机制 | 主要类型 |
|-------|--------------------------|----------------------------------|
| 分泌 | 蛋白质在结合核糖体上合成，以翻译运转同步机制运输 | 免疫球蛋白、卵蛋白、水解酶、激素等 |
| 细胞器发育 | 蛋白质在游离核糖体上合成，以翻译后运转机制运输 | 核、叶绿体、线粒体、乙醛酸循环体、过氧化物酶体等细胞器中的蛋白质 |
| 膜的形成 | 两种机制兼有 | 质膜、内织网、类囊体中的蛋白质 |



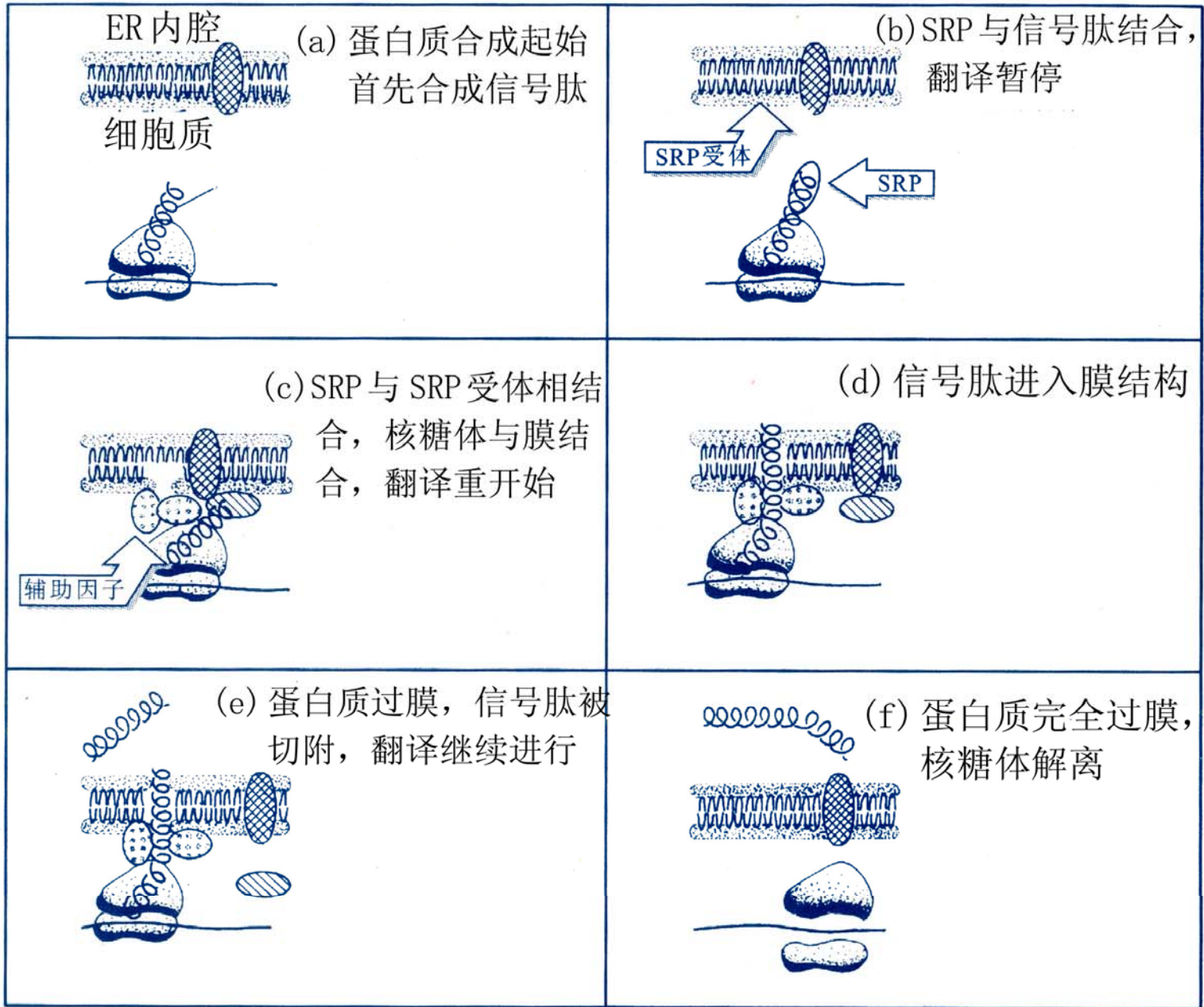
4.5.1 翻译-运转同步机制

蛋白质定位信息存在于自身结构中，并通过与膜上特殊受体的相互作用得以表达。信号序列在结合核糖体上合成后便与膜上特定受体相互作用，产生通道，允许这段多肽在延长的同时穿过膜结构（图4-28）。因此，这种方式是边翻译边跨膜运转。



绝大部分被运入内质网内腔的蛋白质都带有一个信号肽，位于蛋白质的氨基末端（13-36个残基）：

- (1) 一般带有10-15个疏水氨基酸；
- (2) 在靠近该序列N-端常常有1个或数个带正电荷的氨基酸；
- (3) 在其C-末端靠近蛋白酶切割位点处常常带有数个极性氨基酸，离切割位点最近的那个氨基酸往往带有很短的侧链（丙氨酸或甘氨酸）。





分泌蛋白的生物合成开始于结合核糖体，翻译进行到**50~70**个氨基酸残基时，信号肽从核糖体的大亚基上露出，与粗糙内质网膜上的受体相结合。



信号肽过膜后被水解，新生肽随之通过蛋白孔道穿越疏水的双层磷脂。一旦核糖体移到 mRNA 的“终止”密码子，蛋白质合成即告完成，翻译体系解散，膜上的蛋白孔道消失，核糖体重新处于自由状态。



SRP（信号识别蛋白）能同时识别需要通过内质网膜进行运转的新生肽和自由核糖体，并导致该多肽合成的暂时终止（此时新生肽一般长约**70**个残基左右）。**SRP-信号肽-多核糖体**复合物即被引向内质网膜并与**SRP**的受体——**DP**（停靠蛋白，又称**SRP**受体蛋白）相结合。



只有当**SRP**与**DP**相结合时，多肽合成才恢复进行，信号肽部分通过膜上的核糖体受体及蛋白运转复合物跨膜进入内质网内腔，新生肽链重新开始延伸。

SRP与**DP**的结合很可能导致受体聚集而形成膜孔道，使信号肽及与其相连的新生肽得以通过（图4-30）。

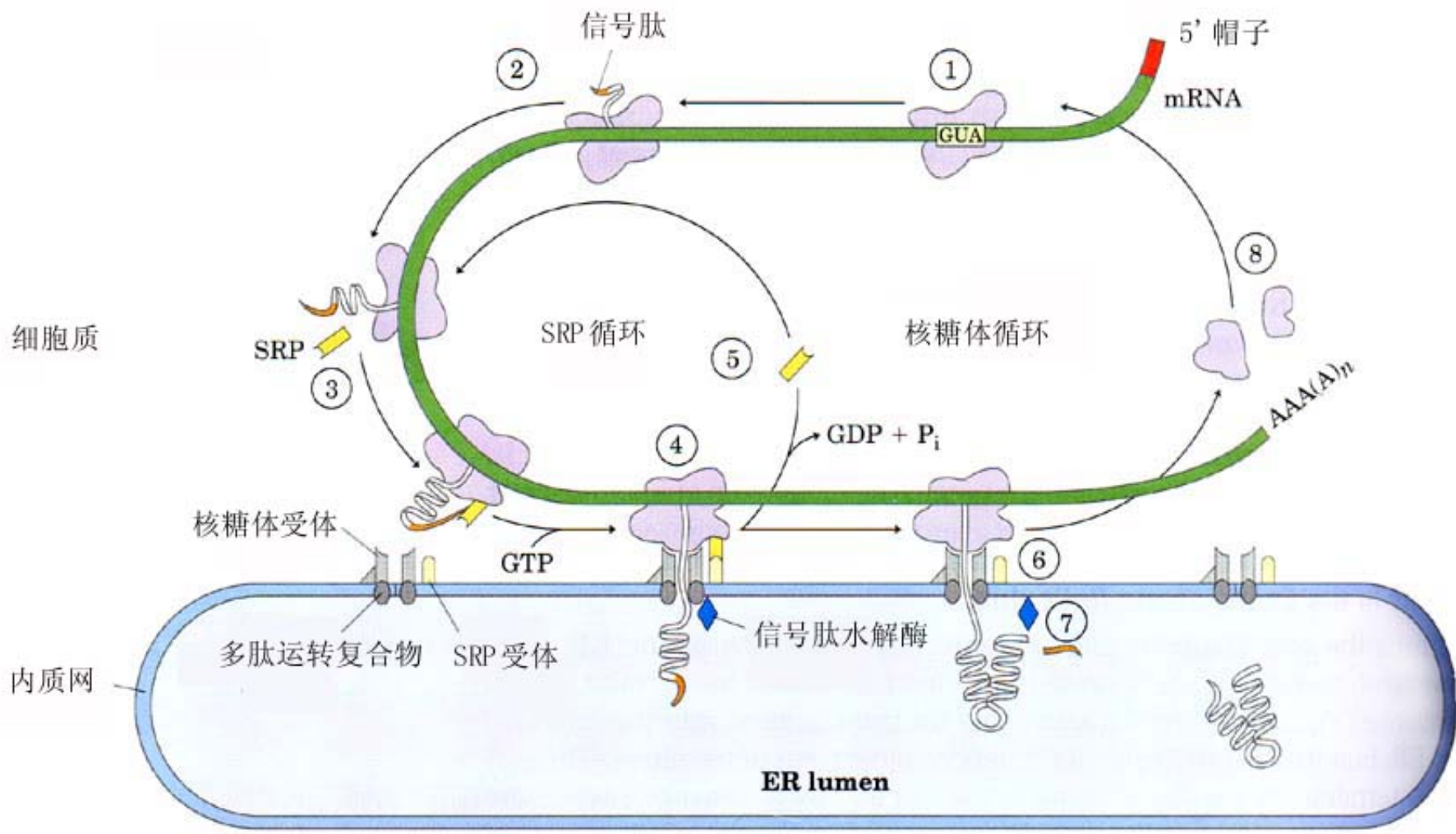


图4-30 新生蛋白质通过同步转运途径进入内质网内腔的主要过程。



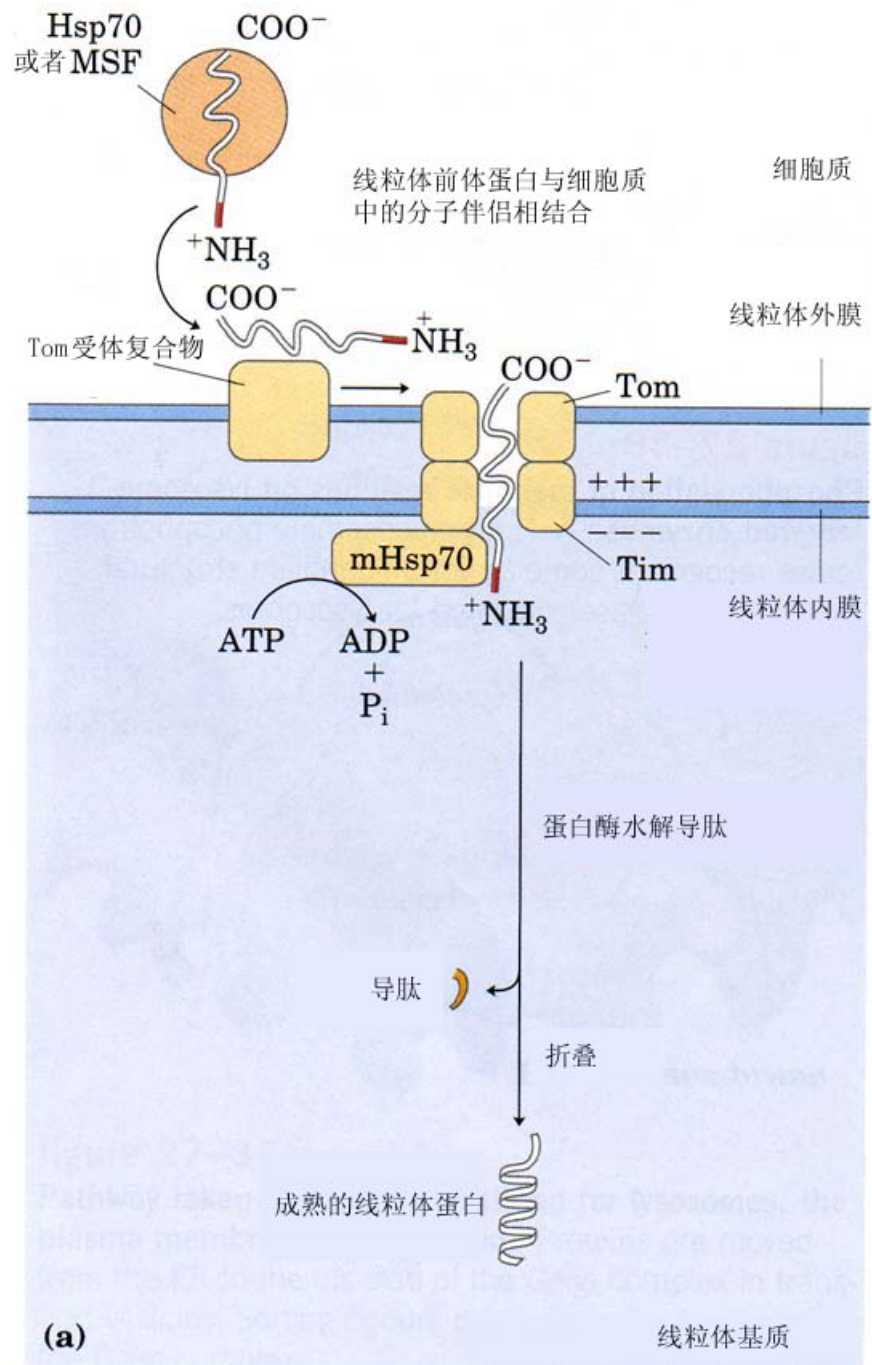
4.5.2 翻译后运转机制

1、线粒体蛋白质跨膜运转

- ①通过线粒体膜的蛋白质运转之前大多数以前体形式存在，由成熟蛋白质和位于N端的20~80个残基的前导肽（**leader peptide**）组成；
- ②蛋白质跨线粒体内膜运转是一种需能过程；
- ③蛋白质跨线粒体膜运转时，首先由外膜上的**Tom**受体复合蛋白识别与**Hsp70**或**MSF**等分子伴侣相结合的待运转多肽，通过**Tom**和**Tim**组成的膜通道进入线粒体内腔。



图4-31 线粒体蛋白质跨膜运转。





2、前导肽的作用与性质

带正电荷的碱性氨基酸（特别是精氨酸）含量较为丰富，分散于不带电荷的氨基酸序列之间；

缺少带负电荷的酸性氨基酸；

羟基氨基酸含量较高；

有形成两亲（既有亲水又有疏水部分） α -螺旋结构的能力。



前导肽跨膜运转时首先与线粒体外膜上的受体相结合。**Tom**受体可能是线粒体蛋白质跨膜运转时最主要的受体蛋白。有些前导肽含有“止运入”肽段，当该肽段被跨膜通道中的受体蛋白识别时，所运输的多肽将被定位在膜上（图4-32）。

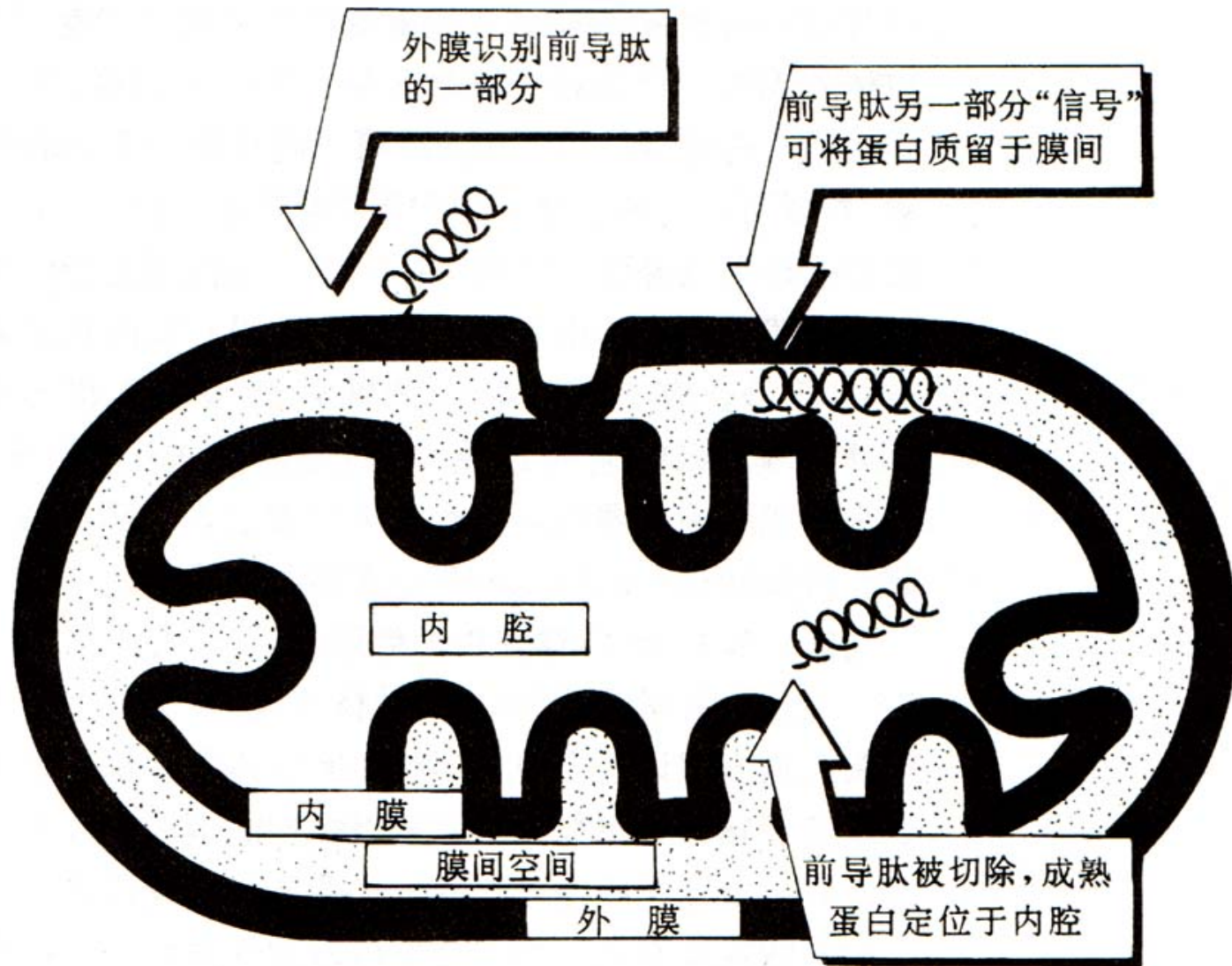


图4-32 前导肽的不同区域可能在蛋白质跨膜运转过程中起不同的作用。



3、叶绿体蛋白质的跨膜运转

叶绿体多肽在胞质中的游离核糖体上合成后脱离核糖体并折叠成具有三级结构的蛋白质分子，多肽上某些特定位点结合于只有叶绿体膜上才有的特异受体位点。叶绿体定位信号肽一般有两个部分，第一部分决定该蛋白质能否进入叶绿体基质，第二部分决定该蛋白能否进入类囊体（图4-33）。



图4-33 叶绿体蛋白质跨膜运转。





4.5.3 核定位蛋白的运转机制

为了核蛋白的重复定位，这些蛋白质中的信号肽——被称为核定位序列（**NLS—Nuclear Localization Sequence**）一般都不被切除。**NLS**可以位于核蛋白的任何部位。

蛋白质向核内运输过程需要核运转因子（**Importin**） α 、 β 和一个低分子量**GTP酶**（**Ran**）参与。

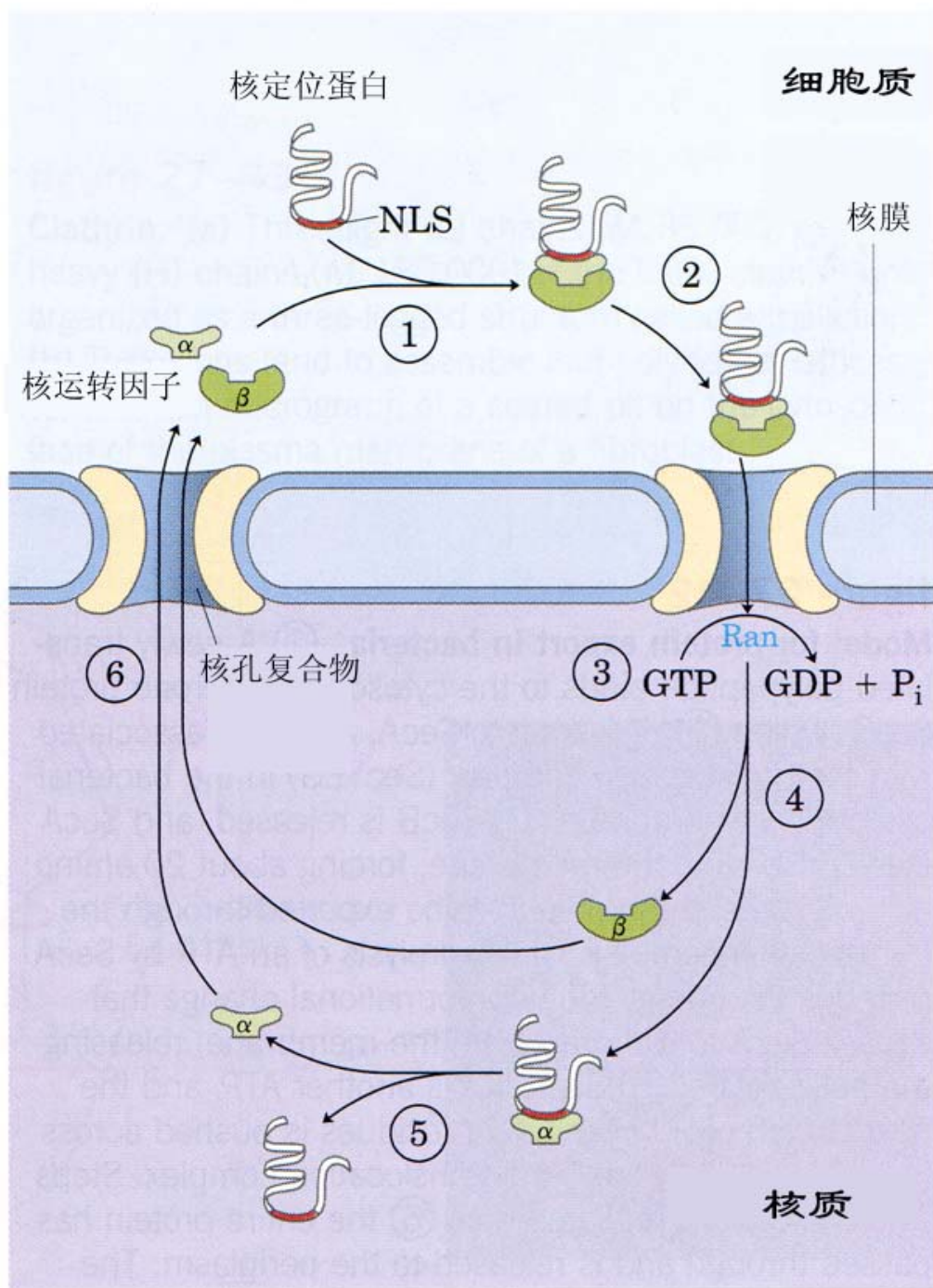


图4-34核定位蛋白跨细胞核膜运转过程示意图。



α 和 β 组成的异源二聚体是核定位蛋白的可溶性受体，与核定位序列相结合的是 α 亚基。这些蛋白组成的复合物停靠在核孔处，依靠 **Ran GTP** 酶水解 **GTP** 提供的能量进入细胞核， α 和 β 亚基解离，核蛋白与 α 亚基解离， α 和 β 分别通过核孔复合体回到细胞质中，起始新一轮蛋白质运转。

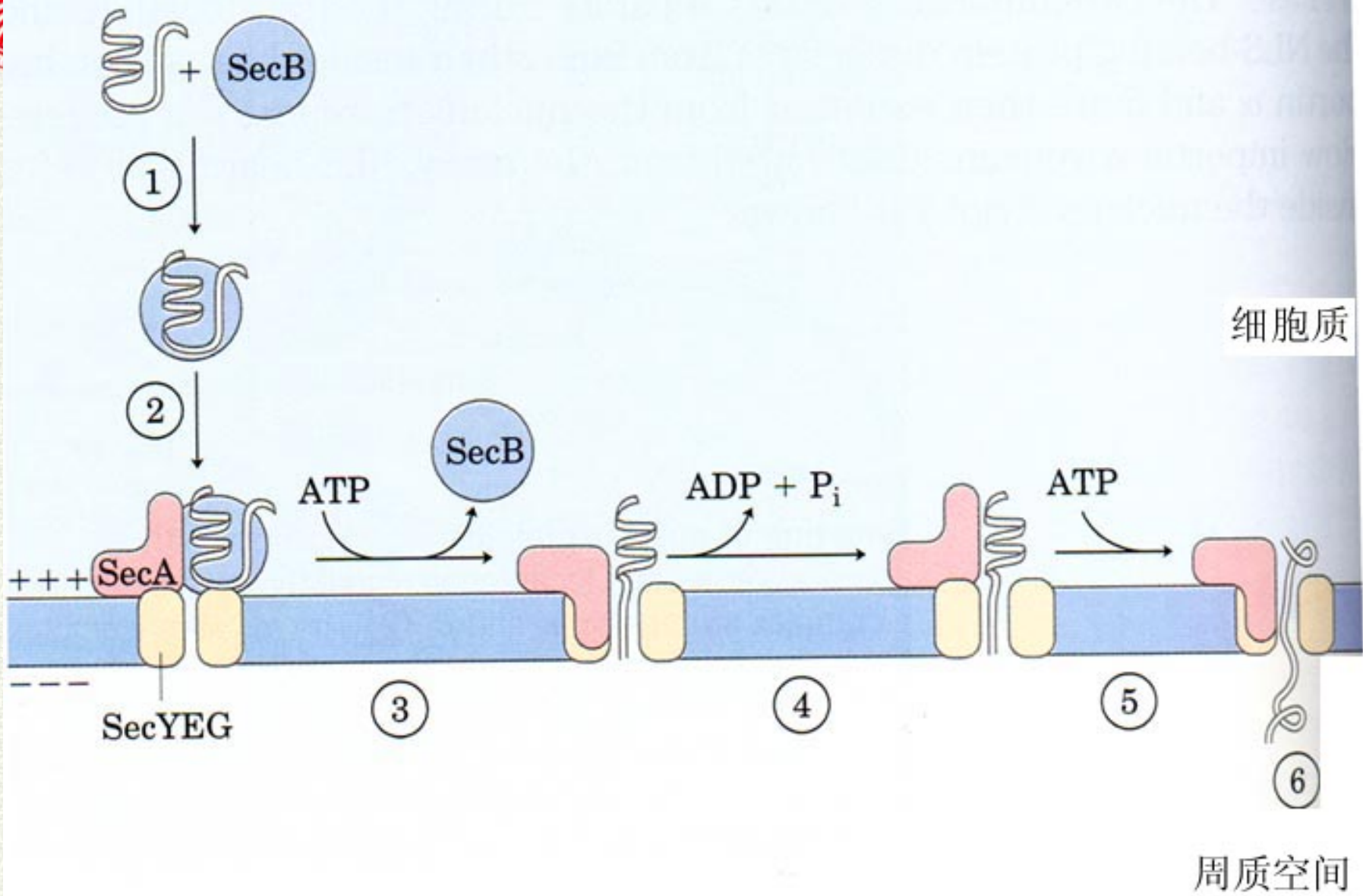


图4-36 细菌中蛋白质的跨膜运转。*NLPE&PGE*



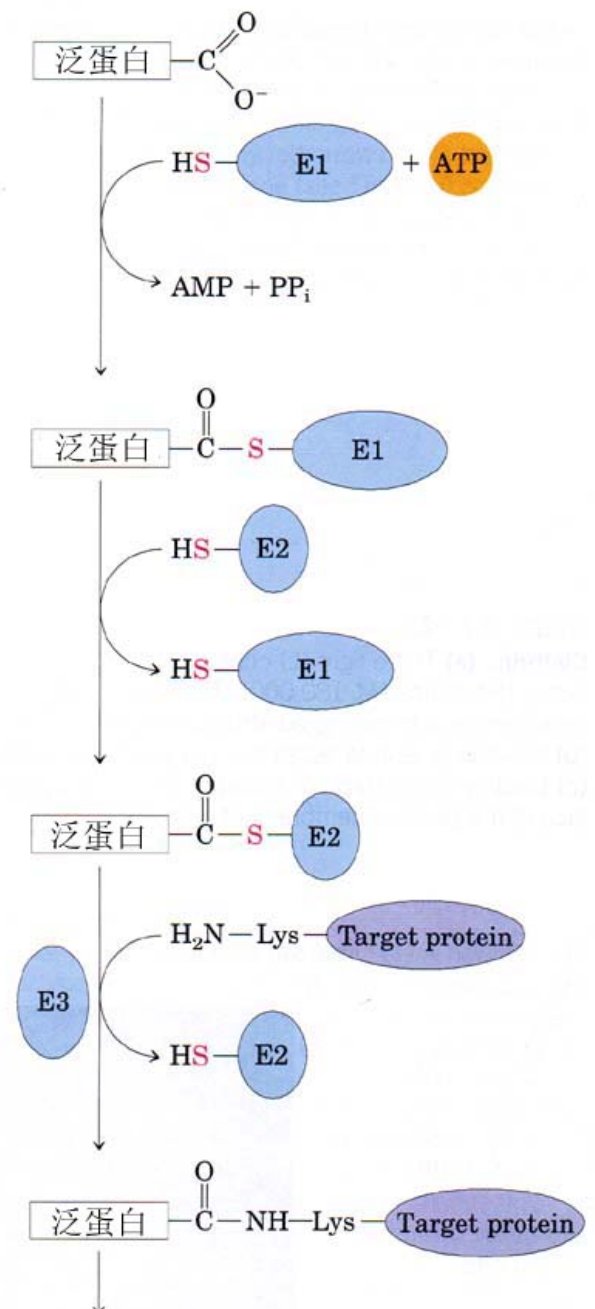
4.5.4 蛋白质的降解

蛋白质降解是一个有序的过程。在大肠杆菌中，许多蛋白质的降解是通过一个依赖于ATP的蛋白酶（称为Lon）来实现的。当细胞中存在有错误或半衰期很短的蛋白质时，该蛋白酶就被激活。每切除一个肽键要消耗两分子ATP。



蛋白质的半衰期从**30秒**到许多天不等。大部分真核蛋白的半衰期为数小时至数天。成红细胞=**110天**。

真核蛋白的降解依赖于一个只有**76个**氨基酸残基、其序列高度保守的泛蛋白（**Ubiquitin**）。细胞内即将被降解的蛋白首先在**ATP**的作用下与泛蛋白相连（图**4-37**），并将该复合体运送到特定的蛋白降解体系中直到完全降解。



重复这个过程可导致被降解蛋白与多个泛蛋白相连接

图4-37 泛蛋白在E1、E2和E3的作用下与被降解蛋白相连接的过程。



成熟蛋白N-端的第一个氨基酸（除已被切除的N端甲硫氨酸之外，但包括翻译后修饰产物）在蛋白的降解中有着举足轻重的影响（表4-16）。当某个蛋白质的N端是甲硫氨酸、甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸和缬氨酸时，表现稳定。其N端为赖氨酸、精氨酸时，表现最不稳定，平均2-3分钟就被降解了。



表4-16 蛋白质的半衰期与N-端氨基酸残基的关系

| N-端残基 | 半衰期 |
|------------------------------|--------|
| 稳定型残基 | |
| 甲硫氨酸、甘氨酸、丙氨酸、 丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸 | >20h |
| 不稳定型残基 | |
| 异亮氨酸、谷氨酰胺 | ~30min |
| 酪氨酸、谷氨酸 | ~10min |
| 脯氨酸 | ~7min |
| 亮氨酸、苯丙氨酸、 天门冬酰胺、赖氨酸 | ~3min |
| 精氨酸 | ~2min |