

第十一章 蛋白质的生物合成

蛋白质是生命活动的重要物质基础，要不断地进行代谢和更新，因此，细胞内利用 20 种基本氨基酸进行蛋白质合成便成了生命现象的主要内容。以大肠杆菌为例，蛋白质占细胞的干重 50%左右，每个细胞约有 3 000 种不同的蛋白质分子，每种蛋白质又有无数分子。而大肠杆菌细胞的分裂周期不过 20min，可见蛋白质生物合成的速度之快。

目前已经完全清楚，细胞内每个蛋白质分子的生物合成都受到细胞内 DNA 的指导，但是贮存遗传信息的 DNA 并非蛋白质合成的直接模板 (template)。它是经转录作用把遗传信息传递到信使核糖核酸 (messenger ribonucleic acid, mRNA) 的结构中，所以 mRNA 才是蛋白质合成的直接模板。mRNA 是由 4 种核苷酸构成的多核苷酸，而蛋白质是由 20 种左右的氨基酸构成的多肽，它们之间遗传信息的传递并不像转录那么简单。从多核苷酸上所携带的遗传信息，到多肽链上所携带的遗传信息的传递，与从一种语言翻译成另一种语言时的情形相似。所以人们称以 mRNA 为模板的蛋白质合成过程为翻译或转译 (translation)。可以将生物遗传信息的传递归纳为以下图解 (图 11-1)：

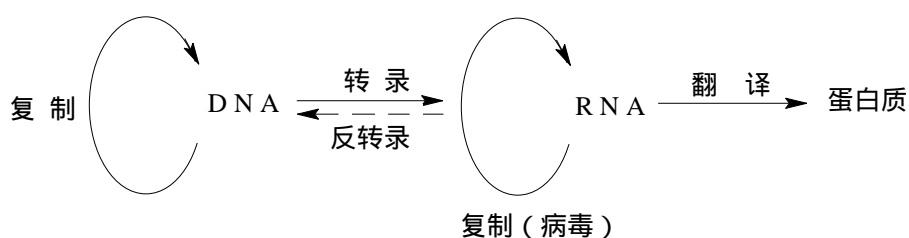


图 11-1 生物遗传信息的传递方向

翻译的过程十分复杂，几乎涉及到细胞内所有种类的 RNA 和几十种蛋白质因子，其中包括有核糖体 RNA (ribosomal ribonucleic acid, rRNA)、信使 RNA、转移 RNA (transfer ribonucleic acid, tRNA)、氨酰-tRNA 合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase) 以及一些辅助因子，即起始因子 (initiation factor, IF)、延伸因子 (elongation factor, EF)、释放因子 (终止因子) (release factor, RF) 等参加的协同作用。

在蛋白质合成中，tRNA 按 mRNA 模板的要求将相应的氨基酸搬运到蛋白质合成的场所——核糖体 (ribosome) 上，所以把核糖体称作蛋白质合成的工厂，氨基酸之间以肽键连接，生成具有一定排列顺序的蛋白质。蛋白质合成的原料是氨基酸，反应所需能量由 ATP 和 GTP 提供。

蛋白质生物合成的早期研究工作都是用原核生物 (prokaryotes) 大肠杆菌的无细胞体系

(cell-free system) 进行的。所以, 对大肠杆菌的蛋白质合成机理了解最多, 真核生物 (eukaryotes) 的蛋白质合成的机理与大肠杆菌的有许多相似之处, 但也有不少差异, 下面即详细讨论原核生物与真核生物的蛋白质的生物合成过程。

第一节 蛋白质合成体系的重要组分

一、mRNA 与遗传密码

(一) 信使 RNA 概念的提出

信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 的发现在分子生物学的发展中是一重大事件。由于其在细胞总 RNA 中所占比例很小, 很难把它分离出来。mRNA 的概念首先是从理论上提出来的, 然后再用实验得到证实。F. Jacob 和 J. Monod 早在 1961 年就提出 mRNA 的概念。他们认为, 既然蛋白质是在胞质中合成的, 而编码蛋白质的信息载体 DNA 却在胞核内, 那么必定有一种中间物质用来传递 DNA 上的信息。他们在研究大肠杆菌中与乳糖代谢有关酶类的生物合成时发现, 诱导物如异丙基硫代半乳糖苷 (isopropylthiogalactoside, IPTG) 的加入, 可以立刻使酶蛋白的合成速度增加上千倍。而诱导物一旦消失, 又可使酶蛋白的合成立刻停止。这个实验结果给人的启示是: 蛋白质合成的模板是一种不稳定的物质, 其半衰期很短。他们对这种信使物质的性质作了如下的预言:

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. 信使的半衰期很短, 所以信使的合成速度应该是很快的。

所以, 这样的信使可能是一种 RNA。但是当时已发现的两种 RNA (rRNA、tRNA) 都不具备这些特性。各种生物的核糖体 RNA 的大小差异不大, 碱基组成的变化也不大。tRNA 除了有与 rRNA 相同的问题以外, 它们的分子也太小。所以这两种 RNA 都不能胜任信使的功能。可喜的是当时已有人提出过, 细胞内有可能存在第三种 RNA。在被噬菌体 T₂ 感染后的大肠杆菌中, 有人发现有一种新的 RNA, 它的代谢速度极快, 分子大小也参差不齐, 碱基组成又与 T₂DNA 相一致。这些特征都符合信使分子的要求。

(二) 信使 RNA 的实验证明

信使 RNA 的概念提出后, 还必须要用实验来证明这种概念是否正确。为此, S. Brenner, F. Jacob 和 M. Monoclon 等人设计了一组实验。用噬菌体 T₂ 感染大肠杆菌后, 发现几乎所有在细胞内合成的蛋白质都不再是细胞本身的蛋白质, 而是噬菌体所编码的蛋白质; 这些蛋

白质的合成速度与细胞总 RNA 的合成速度无关； T_2 感染后不久，细胞中出现了少量半衰期很短的 RNA，它们的碱基组成与 DNA 是一致的。上述这些特性都与他们预言的信使分子特性十分符合。

那么噬菌体的感染又是怎样将细胞内蛋白质合成的方向改变了呢？当时曾提出了两种假设。一种认为 T_2 的感染引起了一类新的核糖体的合成，不同的核糖体控制不同的蛋白质的合成；另一种假设认为核糖体并不具有这种特异性，它的功能只不过是接受从 mRNA 接受遗传信息而已。Brenner, Jacob, Meselson 等人支持后一种看法。于是他们又设计了一组实验来解决这个问题。

他们将大肠杆菌接种在含有重标记(^{15}N 和 ^{13}C)的培养基上，再用 T_2 感染。感染后立即将细菌转移到含有轻同位素(^{14}N 和 ^{12}C)的培养基上。再将 T_2 感染前与感染后的细菌破碎，分离出核糖体，用密度梯度超离心技术将带有重同位素的核糖体与带有轻同位素的核糖体分开。他们还用 ^{32}P 或 ^{14}C 同位素标记 RNA，并用 ^{35}S 同位素标记新合成的蛋白质。这些实验表明（J

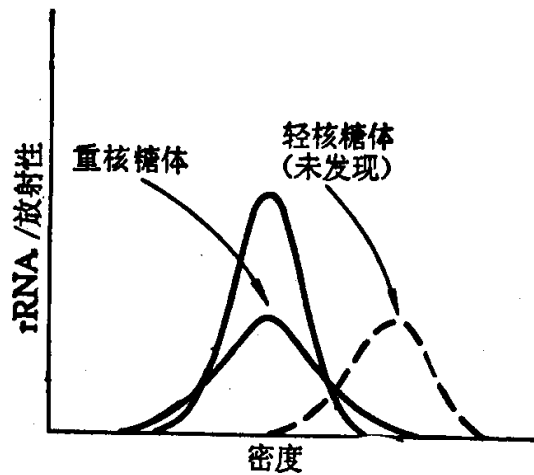


图 11-2 正常的与经噬菌体 T_2 感染后的大肠杆菌核糖体的密度梯度超离心图

1. T_2 感染后并无轻标记核糖体出现，说明在 T_2 感染后并未引起新核糖体的合成。
2. T_2 感染后，诱发了新的 RNA 的合成。大多数放射性标记的 RNA 出现在重标记核糖体中。这种新合成的 RNA 代谢速度极快。
3. ^{35}S 标记的蛋白质只暂时出现在重标记核糖体中，说明新合成的蛋白质是在早就存在的核糖体中合成的。

以后，S. Spiegelman 又用分子杂交技术证明：经 T_2 感染后的新合成的 RNA 可以与 T_2 DNA 相杂交，但细胞内的其他 RNA 则不能与 T_2 DNA 杂交。

(三) 遗传密码

1. 遗传密码的发现

mRNA 是蛋白质合成的直接模板，其核苷酸排列顺序取决于相应 DNA 的碱基排列顺序，它又决定了所形成的蛋白质多肽链中的氨基酸的排列顺序。那么 mRNA 上的核苷酸排列顺序是如何翻译成蛋白质中的氨基酸的排列顺序，即如何编码成遗传密码的呢？

mRNA 中有 4 种核苷酸，用数学方法推算，如果每一种核苷酸代表一种氨基酸，那么只能代表 4 种氨基酸。如果每两个相邻的核苷酸代表一种氨基酸，可以有 $4^2=16$ 种排列方式，显然也不足以代表 20 种基本氨基酸。如果每三个相邻的核苷酸代表一种氨基酸，可以有 $4^3=64$ 种排列方式，这就足以满足为 20 种基本氨基酸编码的需要。所以这种编码方式的可能性最大。应用生物化学和遗传学研究技术，已经证明是三个相邻的核苷酸编码一种氨基酸，这三个连续的核苷酸称为三联体密码 (triplet code) 或密码子 (codon)。

如何证明密码子和氨基酸之间的对应关系？1961 年，Nirenberg 等用大肠杆菌无细胞体系，外加 20 种标记氨基酸混合物及 polyU，经保温反应后，发现在酸不溶性部分中（即多肽中）只有苯丙氨酸的多聚体。所以 UU 是编码苯丙氨酸的密码。同样，用 polyA 和 polyC 作为 mRNA 来合成蛋白质，结果分别只得到多聚赖氨酸和多聚脯氨酸，说明 AAA 是赖氨酸的密码，CCC 是脯氨酸的密码。

进一步，Nirenberg 和 Ochoa 等用 polyUG，polyAC 重复上述类似实验，发现标记氨基酸掺入新合成的肽链的频率与按统计学方法推算出的多核苷酸中三联体密码出现的频率相符合。即

poly (UG) : UGU GUG UGU GUG UGU GUG UGU GUG

翻译成： Cys-Val-Cys-Val-Cys-Val

poly (AC) : ACA CAC ACA CAC ACA CAC ACA CAC

翻译成： Thr-His-Thr-His-Thr-His

应用这种方法，仅用了四年时间，于 1965 年完全查清了 20 种基本氨基酸所对应的全部 61 个密码子，其余三个密码子为终止密码子，编出了遗传密码字典（表 11-1）。

表 11-1 遗传密码字典*

5'-磷酸末端的碱基	中间的碱基				3'-OH末端的碱基
	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	谷酰胺	精氨酸	A
	亮氨酸	脯氨酸	谷酰胺	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
	甲硫氨酸和甲酰甲硫氨酸	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

* 密码子的阅读方向 5' → 3'，如 UUA=pUpUpA_{OH}= 亮氨酸。AUG 为起始密码子。

以上谈的都是应用无细胞体系所获得的资料。那么生物体内的情况是否也是如此呢？回答是肯定的。

烟草坏死卫星病毒 (tobacco necrosis satellite virus) 的基因组中有一 RNA，约由 1 200 个核苷酸所组成，外壳蛋白的亚基由此 RNA 分子编码。经分析，每个蛋白亚基约由 400 个氨基酸组成，所以用于编码一个氨基酸的数目恰好为 1 200 / 400=3。

用遗传学方法也证明了遗传信息是三联体密码。用某些吡 (读音 y) 啶染料可以引起 T₄ 噬菌体 DNA 插入或删除 1、2 或 3 个碱基。实验的原理可用假设的噬菌体 DNA 加以说明。

删去碱基的数目

0	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT	CAT
1	CAT	CTC	ATC	ATC	ATC	ATC	ATC
		A					
2	CAT	CTC	ACA	TCA	TCA	TCA	TCA
		A	T				
3	CAT	CTC	ACA	TAT	CAT	CAT	CAT
		A	T	C			

当删去一个碱基 A 时，从这一点以后的密码就发生了差错。删去两个碱基时，情形也如此。但是删去三个碱基时，情况就不同了。最先也形成几组错误的密码子，但以后又恢复正常。前面两类突变往往使基因产物全部失去活力，而第三种突变类型使基因产物仍具有一定活力。这只能用遗传密码是三联体这个事实来加以解释。

2. 遗传密码的主要特征：

(1) 密码的无标点性 即两个密码子之间没有任何起标点符号作用的密码子加以隔开。因此要正确阅读密码必须按一定的读码框架(reading frame)，从一个正确的起点开始，一个不漏地挨着读下去，直至碰到终止信号为止。若插入(insertion)或删去(deletion)一个碱基，就会使这以后的读码发生错误，这称移码(frame-shift)。由于移码引起的突变称移码突变(frame-shift mutation)。

(2) 一般情形下遗传密码是不重叠(non-overlapping)的 是指每三个碱基编码一个氨基酸，碱基不重复使用。即

ABC DEF GHI JKL

aa₁ aa₂ aa₃ aa₄

目前已经证明，在绝大多数生物中读码规则是不重叠的。但是在少数大肠杆菌噬菌体(如 R₁₇、Q 等)的 RNA 基因组中，部分基因的遗传密码却是重叠的。

(3) 密码的简并性(degeneracy) 是指大多数氨基酸都可以具有几组不同的密码子(见表 11-2)。如 UUA、UUG、CUU、CUC、CUA、CUG 六组密码子都编码亮氨酸。编码同一个氨基酸的一组密码称为同义密码子。只有色氨酸和甲硫氨酸仅有一个密码子。

密码的简并性具有重要的生物学意义。它可以减少有害的突变。一方面，如果每个氨基酸只有一个密码子，20 组密码子就可以应付 20 种氨基酸的编码了，那么剩下的 44 组密码子都将会导致肽链合成的终止。由于突变而引起的肽链合成终止的频率也会大大提高。这样合成出来的残缺不全的多肽往往不具有生物活力。

另一方面，密码简并使 DNA 的碱基组成有较大的变化余地，而仍保持多肽的氨基酸序列不变。如亮氨酸的密码子 CAU 中 C 突变成 U 时，密码子 UUA 决定的仍是亮氨酸，即这种基因的突变并没有引起基因表达产物——蛋白质的变化。

表 11-2 氨基酸密码子的简并性

氨基酸	密码子数目	氨基酸	密码子数目
丙氨酸	4	亮氨酸	6
精氨酸	6	赖氨酸	2
天冬酰胺	2	甲硫氨酸	1
天冬氨酸	2	苯丙氨酸	2
半胱氨酸	2	脯氨酸	4
谷酰胺	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

(4) 密码的摆动性 (wobble) 是指密码子的专一性主要由头两位碱基决定，而第三位碱基有较大的灵活性。Crick 对第三位碱基的这一特性给予一个专门的术语，称“摆动性”(见表 11-3)。当第三位碱基发生突变时，仍能翻译出正确的氨基酸来，从而使合成的多肽仍具有生物学活力。

表 11-3 密码子识别的摆动现象

tRNA 反密码子第一位碱基 (3 5)	U	C	A	G	I	
mRNA 密码子第三位碱基 (5 3)	A 或 G	G	U	C 或 U	U 或 C 或 A	AG(U)

(5) 密码的相对通用性 所谓密码的通用性是指各种高等和低等的生物(包括病毒、细胞及真核生物等)都共同使用同一套密码字典。较早时，曾认为密码是完全通用的。但是 1979 年的发现对此提出了挑战。线粒体 DNA 中的编码情形显然违背了遗传密码的通用性。如人线粒体中 UGA 不再是终止密码子，而编码色氨酸。表 11-4 列出了人线粒体基因组编码的特性。

表 11-4 人线粒体 DNA 中密码编制特点

密码	“通用”密码	人线粒体密码
UGA	终止密码	Trp
AGA	Arg	终止密码
AGG	Arg	终止密码
AUA	Ile	起始密码 (Met 或 Ile)
AUU	Ile	起始密码 (Ile)
AUG	起始密码 (Met 或 fMet)	起始密码 (Met)

酵母线粒体原生动植物纤毛虫也有类似情形。AGA, AGG 不再是终止信号而编码精氨酸。

所以, 遗传密码具有相对的通用性。

(6) 起始密码子和终止密码子 在 64 种密码子中, AUG 既是甲硫氨酸的密码子, 又是肽链合成的起始密码子。有三组密码子 UAA, UAG, UGA 不编码任何氨基酸而成为肽链合成的终止密码子, 又称无义密码子。

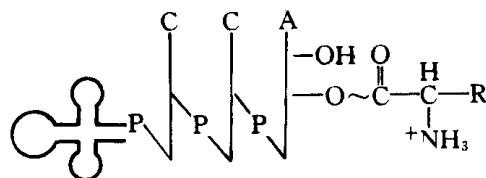
二、tRNA

在蛋白质合成中, tRNA 是搬运活性氨基酸的工具。它将氨基酸按照 mRNA 链上的密码子所决定的氨基酸顺序搬运到蛋白质合成的场所 核糖体的特定部位。tRNA 是多肽链和 mRNA 之间的重要转换器 (adaptor), 每一种氨基酸可以有一种以上 tRNA 作为运载工具, 人们把携带相同氨基酸而反密码子不同的一组 tRNA 称为同功受体 tRNA (isoaccepting tRNAs)。tRNA 在识别密码子上的接头作用:

tRNA 分子上与多肽合成有关的位点至少有四个:

1.3 3' 端-CCA 上的氨基酸接受位点

tRNA 分子的 3' 端的碱基顺序是-CCA, “活化”的氨基酸的羧基连接到 3' 末端腺苷的核糖 3'-OH 上, 形成氨酰-tRNA。



2. 识别氨酰-tRNA 合成酶的位点

形成氨酰-tRNA 的反应是在氨酰-tRNA 合成酶催化下完成的。这个反应需要三种底物，即氨基酸、tRNA 和 ATP。由 ATP 提供活化氨基酸所需要的能量。一种氨酰-tRNA 合成酶可以识别一组同功受体 tRNA (最长达 6 个)。

3. 核糖体识别位点

在核糖体内合成多肽链的过程中，多肽链通过 tRNA 暂时结合在核糖体的正确位置上，直至合成终止后多肽链才从核糖体上脱下。tRNA 起着连接这条多肽链和核糖体的作用。

4. 反密码子位点

在 tRNA 链上有三个特定的碱基，组成一个反密码子，反密码子与密码子的方向相反。由这反密码子按碱基配对原则识别 mRNA 链上的密码子 (见图 11-3)。一种 tRNA 分子常常能够识别一种以上的同义密码子，这是因为 tRNA 分子上的反密码子与密码子的配对具有摆动性，配对的摆动性是由 tRNA 反密码子环的空间结构决定的。反密码子 5' 端的碱基处于 L 形 tRNA 的顶端，受到的碱基堆积力的束缚较小，因此有较大的自由度。而且该位置的碱基常为修饰的碱基，如次黄嘌呤 I，它可以和 U、C、A 三种碱基配对，具有非凡的“阅读”能力。分析表明同义密码子的使用频率是不相同的，它与细胞内 tRNA 含量 (即 tRNA 的丰度) 成正相关，含量高的同功受体 tRNA 所对应的密码子的使用频率总是最高

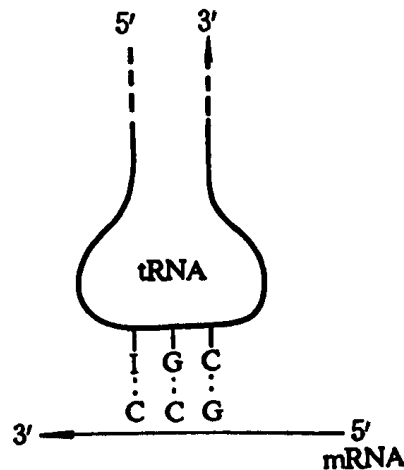


图 11-3 密码子与反密码子之间的识别

三、rRNA 与核糖体

核糖体是蛋白质合成的装配机，是由几十种蛋白质和几种 RNA 组成的亚细胞颗粒，其中蛋白质与 RNA 的重量比约为 1 : 2，是 tRNA、mRNA 和蛋白质相互作用的场所。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体蛋白体。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，形成粗糙内质网。每个真核细胞所含核糖体的数目要多得多，为 $10^6 \sim 10^7$ 个。线粒体、叶绿体及细胞核内也有自己的核糖体。表11-5总结了不同生物核糖体的一些特性。

表 11-5 核糖体的某些特性

核糖体种类	亚基	rRNA(分子量)	蛋白质分子数目
原核细胞核糖体 (以大肠杆菌为例)	30S	16S (5.5×10^5)	21
	70S {	5S (0.4×10^5)	34
		50S {	23S (110×10^5)
真核细胞核糖体	40S	18S (70×10^5)	30
	80S {	5S (0.4×10^5)	50
		60S {	28-29S ($140-180 \times 10^5$)

核糖体含3种rRNA和55种蛋白质，这些成分如何组装成具有活性的核糖体，是一个值得深入研究的问题。在1968年第一次完成了大肠杆菌核糖体小亚基由其rRNA和蛋白质在体外的重新组装。这个重组的颗粒具有与30S亚基功能完全相同的蛋白质合成活性。重组只需16SrRNA和21种蛋白质，而不需要加入其它组分（如酶或特殊因子），表明这是一个“自我组装”（self-assembly）的过程。所谓自我组装，是指进行组装所需要的全部信息都在亚基结构里，其蛋白质和rRNA都带有规定组装过程的信息。自我组装的驱动力包括水性相互作用、氢键和离子相互作用，以及碱基堆叠之间的相互作用等。

进一步的研究发现，这个组装过程有一定顺序，即某种蛋白质的加入要先于其它蛋白质的加入。而且各组分的加入是有协同作用的，即一种组分的加入加强了下一种组分的加入。图11-4概略地表示出大肠杆菌核糖体的30S和50S亚基的组装过程。在30S亚基的组装过程中，以16SrRNA为骨架，先与15种蛋白质结合（实际上，这些蛋白质的结合也有先后），形成21S颗粒。然后再加上其余6种蛋白质，最后组装成30S亚基。这个组装过程，可能在16SrRNA转录开始之后即行发生，因为在rRNA链上结合最强的部位，都集中在最先转录的5'端。

大肠杆菌核糖体50S亚基的组装比较复杂，它包括两种（23S和5S）rRNA，而且蛋白质数目也较多。先由23SrRNA，5SrRNA与约20种L蛋白结合，生成33S颗粒。然后再加上其余蛋白质，组装成41S颗粒。最后在 Mg^{2+} （0）和50'下转变为50S亚基。

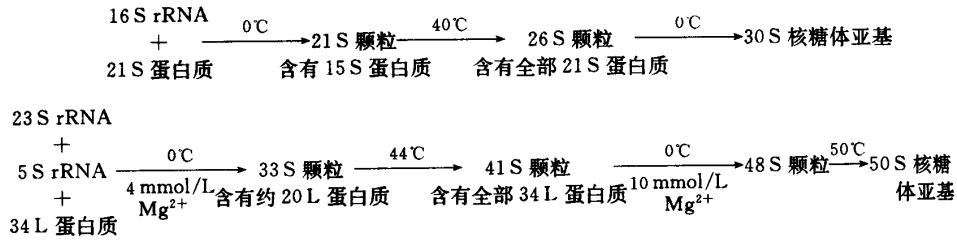


图 11-4 E. coli 核糖体 30S, 50S 亚颗粒体外组装途径

应用电镜及其他物理学方法，已经提出了大肠杆菌 30S、50S 及 70S 核糖体的结构模型。70S 核糖体为一椭圆球体 (13.5 20.0 40.0nm)，30S 亚基的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。50S 亚基的外形很特别，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。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 亚基的空穴相抱，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。

核糖体大小亚基与 mRNA 有不同的结合特性。大肠杆菌的 30S 亚基能单独与 mRNA 结合形成 30S 核糖体-mRNA 复合体，后者又可与 tRNA 专一结合，50S 亚基不能单独与 mRNA 结合，但可与 tRNA 非专一结合，50S 亚基上有两个 tRNA 位点：氨酰基位点 (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。50S 亚基上还有一个在肽酰-tRNA 移位过程中使 GTP 水解的位点。在 50S 与 30S 亚基的接触面上有一个结合 mRNA 的位点。此外，核糖体上还有许多起始因子，它们因

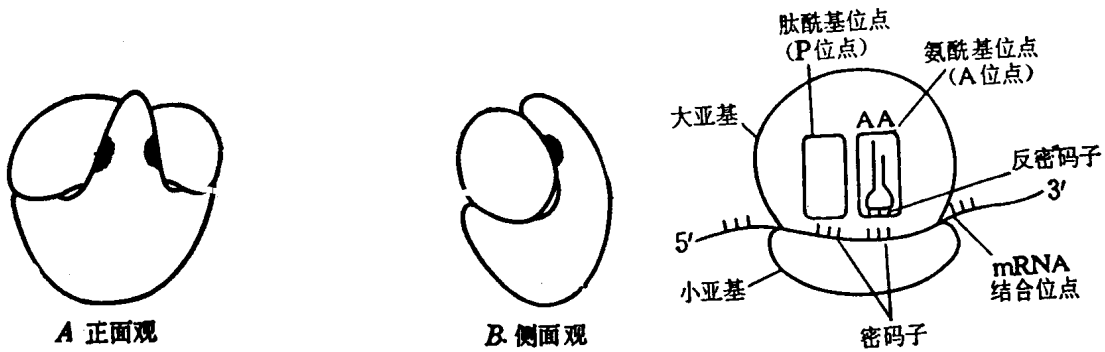


图 11-5 70S 核糖体的模型

图 11-6 大肠杆菌 70S 核糖体图解

四、辅助因子

蛋白质合成中除需要几种 RNA和各种氨基酸外，还需要多种辅助因子，包括起始因子 (initiation factor)、延长因子 (elongation factor) 和释放因子 (termination and release factor)，它们都是蛋白质。各种辅助因子的分子量及功能见表 11-6。

表 11-6 大肠肝菌的蛋白质生物合成中的辅助因子的特性和功能

名称	分子量	特性和功能
起始因子 (initiation factor)	9 400	与 30S 亚基结合，增加起始复合物形成速度。 以两种分子量不同的形式存在，但活性相同。对 GTP 和 fMet-RNA 有一定亲和力。
IF ₁	75 000	
IF ₂	95 000	与未和 mRNA 结合的 30S 亚基结合；使之避免与 50S 亚基发生无效结合。与 mRNA 的起始部位有一定亲和力，可帮助起始复合物正确定位。
IF ₃	23 000	
延长因子 (elongation factor)		将氨酰-RNA 以类似于合成酶的作用连接核糖的 A 位，与 GTP 分解偶联；生成的 GDP 与之紧密结合。
EF-Tu	40 000	置换与 EF-Tu 成复合物的 GDP，再生 EF-Tu，并与其生成 TuTs 复合物。这复合物中的 Ts 又可被 GTP+氨酰-RNA 置换。
EF-Ts	19 000	
EF-G	80 000	催化移位步骤，与 GTP 分解偶联。
终止和释放因子 (termination and release factor)		当核糖体的 A 位到达 mRNA 的终止密码子(对 RF-1 为 UAA 和 UAG，对 RF-2 为 UAA 和 UGA) 时，这二因子之一即占据 A 位，并与密码子结合，最后导致肽链的释放。
RF1	44 000	
RF2	47 000	

第二节 蛋白质生物合成过程

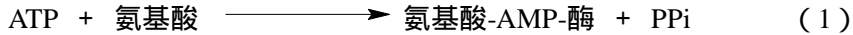
一、氨基酸的活化

蛋白质生物合成的过程相当复杂，需要大约 200 种生物大分子。目前对大肠杆菌的蛋白质合成过程研究得比较清楚，所以下过程为原核生物的情况，但从其它有关实验结果

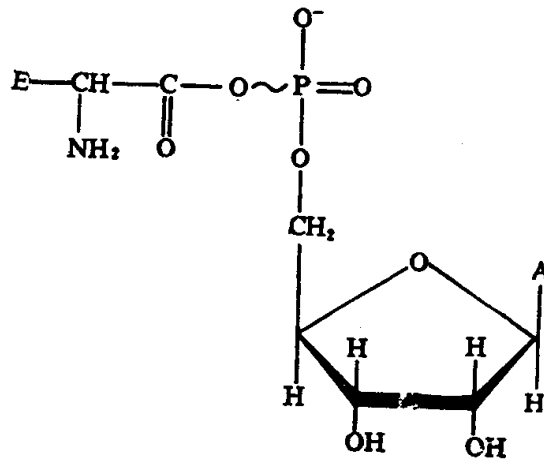
看,这一过程在不同生物中基本相似,只是在真核生物中更为复杂,蛋白质合成过程大致可分为四个阶段。分别为氨基酸的活化;肽链合成的起始;肽链的延长、肽链合成的终止与释放。

氨基酸在掺入肽链以前必须活化(activation)以获得能量。催化氨基酸活化的酶是氨酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase),它催化氨基酸的羧基与相应的tRNA的3'端核糖上3'-羟基之间形成酯键,生成氨酰-tRNA。反应分两步进行:

1. 形成氨基酸-AMP-酶复合物

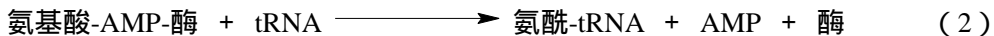


这个反应是在细胞质内进行的,每一种氨基酸以共价键连接形成一种专一的tRNA,过程中需要消耗ATP。ATP水解后释放出无机焦磷酸(PPi),形成的氨酰腺苷酸(aminoacyl adenylate)复合物中,氨基酸的-COOH通过酸酐键与AMP上的5'-磷酸基相连接,形成高能酸酐键,从而使氨基酸的羧基得到活化。氨酰腺苷酸本身是很不稳定的,但是与酶结合而变得较为稳定。



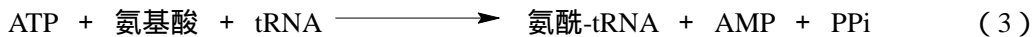
式中: A 代表腺嘌呤, E 代表酶

2. 形成氨酰-tRNA



氨基酸从氨基酸-AMP-酶复合物上转移到相应的tRNA上,形成氨酰-tRNA,这是蛋白质合成中的活化中间体。氨酰基转移到tRNA的3'-端腺苷酸的3'-羟基或2'-羟基上,视各种生物而不同,但此活化的氨基酸能在2'-羟基和3'-羟基之间迅速转移。

反应(1)与反应(2)加成后的总反应是:



氨酰-tRNA合成酶专一性很强,表现在两个方面:一是它既能识别特异的氨基酸,每种氨基酸都有一个专一的酶;二是只作用于L-氨基酸,形成氨酰-tRNA,对D-氨基酸不起作用。有的氨酰-tRNA合成酶对氨基酸的专一性并不很高,但对tRNA仍具有极高的专一

性。如 L-异亮氨酸-tRNA 合成酶也能活化缬氨酸，形成缬氨酸-AMP-酶复合物，但仍不能把所带的氨基酸转移到 tRNA^{Ile} 上。氨酰-tRNA 合成酶的这种极严格的专一性大大减少了多肽合成中的差错。

氨酰-tRNA 合成酶催化反应需要消耗 ATP，ATP 被分解为 AMP 和 PPi，PPi 的进一步水解驱动氨酰-tRNA 合成酶所催化的反应的进行。所以，活化一分子氨基酸相当于消耗了两个高能磷酸键，且反应是不可逆的。反应还需二价阳离子如 Mg²⁺ 或 Mn²⁺ 的存在。此酶分子从 2.27 × 10⁴ ~ 2.7 × 10⁵ 不等，有的由单链组成，有的由几个亚基组成，视不同生物而不同。表 11-7 为某些氨酰-tRNA 合成酶的性质。

表 11-7 某些氨酰 - tRNA合成酶的性质

来源	氨基酸专一性	分子量	亚基数目
大肠杆菌	组氨酸	8.5 × 10 ⁴	2 2
大肠杆菌	异亮氨酸	11.4 × 10 ⁴	单肽链
大肠杆菌	赖氨酸	10.4 × 10 ⁴	2 2
大肠杆菌	甘氨酸	22.7 × 10 ⁴	4 2 2
酵母	赖氨酸	13.8 × 10 ⁴	2 2
酵母	苯丙氨酸	27 × 10 ⁴	4 2 2
牛胰	酪氨酸	10.8 × 10 ⁴	2 2

二、大肠杆菌中肽链合成的起始

(一) 起始密码子 (起始信号)

蛋白质合成的起始过程很复杂，细菌中多肽的合成并不是从 mRNA 的 5' -端第一个核苷酸开始的。被转译的头一个密码子往往位于 5' -端的第 26 个核苷酸以后。同时应该指出，许多原核生物的 mRNA 分子往往是多顺反子 mRNA (polyoisotronic mRNA)，在同一 mRNA 分子上可以编码好几种多肽链。如大肠杆菌中一个 7 000 核苷酸长的 mRNA 可以编码 6 种与色氨酸合成有关的酶类。在转译时，各种酶蛋白都有自己的起始与终止密码子分别控制其合成的起始与终止。

mRNA 上的起始密码子常为 AUG，少数情形下也为 GUG。那么如何区别起始的和内部的 AUG 密码子呢？很多实验结果表明，在核糖体小亚基内部的 16SrRNA 的 3' -端含有一个或几个富含嘧啶碱基的序列，而在 mRNA 上起始密码子 AUG 的 5' 端处大约 10 个核苷酸的富含嘌呤碱基的序列，这两个序列恰好有碱基互补的关系。所以有两种相互作用确定了蛋白质合成的起始部位：一是 mRNA 的 5' 端序列与 16SrRNA 3' 端序列的配对，二是 mRNA 上起始密码子与 fMet-tRNA_f 的反密码子的配对。图 11-7 为某些原核生物 mRNA 分子上 5' -端蛋白质合成起始区域的序列。

AGCACGAGGGGAAAUCUGAUGGAACGCUAC	大肠杆菌 trpA
UUUGGAUGGAGUGAAACGAUGGCGAUUGCA	大肠杆菌 araB
GGUAACCAGGUAACAAGGAUGCGAGUGUUG	大肠杆菌 thrA
CAAUUCAGGGUGGUGAAUGUGAAACCAGUA	大肠杆菌 lacI
AAUCUUGGAGGCUUUUUUAUGGUUCGUUCU	噬菌体 X174 蛋白
UAACUAAGGAUGAAAUGCAUGUCUAAGACA	噬菌体 Q 复制酶
UCCUAGGAGGUUUGACCUAUGCGAGCUUUU	噬菌体 R17A 蛋白
AUGUACUAAGGAGGUUGUAUGGAACAACGC	噬菌体 cro 蛋白

与 16SrRNA 配对 与起始 tRNA 配对

图 11-7 某些原核生物 mRNA 分子上 5'-端蛋白质合成起始区域的序列

(二) 70 起始复合物的形成

1. 起始氨基酸及起始 tRNA

现已清楚，原核细胞中多肽的合成自甲硫氨酸开始，但并不是以甲硫氨酸-tRNA 作起始物，而是以 N-甲酰甲硫氨酸-tRNA (缩写 fMet-tRNA_f) 的形式起始。即一种特殊的 tRNA 将甲酰甲硫氨酸携带到核糖体上起始蛋白质的合成过程。这种起始 tRNA (缩写为 tRNA_f) 与携带甲硫氨酸将其参入到肽链中的 tRNA (缩写为 tRNA_m) 是不同的，f 表示结合到起始 tRNA 上的甲硫氨酸可以被甲酰化，而结合到 tRNA_m 上的甲硫氨酸却不能被甲酰化。所以细胞内有两种携带甲硫氨酸的 tRNA：tRNA_f，用来与 fMet 相结合，参与肽链合成的起始作用；tRNA_m，携带正常的甲硫氨酸掺入肽链。

转甲酰酶 (transformylase) 可以催化甲硫氨酰-tRNA_f (Met-tRNA_f) 的氨基甲酰化：

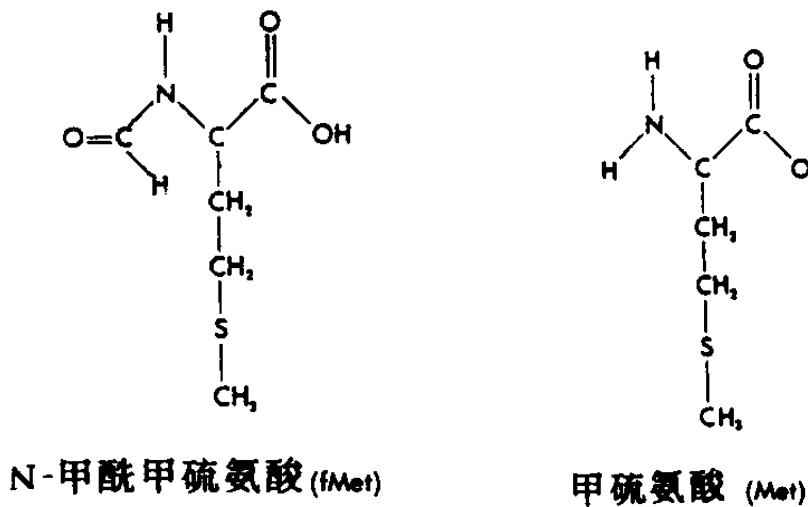


图 11-8 N-甲酰甲硫氨酸与甲硫氨酸结构的比较

这种酶不能催化游离的甲硫氨酸和 Met-tRNA_m 的甲酰化 (图 11-8)。

在核糖体上进行的蛋白质的合成是从氨基末端开始，逐步加上一个个氨基酸，在羧基末端终止。这可以用放射性标记的氨基酸加入合成血红蛋白的网织红细胞，然后立即分离新合成血红蛋白链得以证明。Dintzis 等人用 ^3H -亮氨酸作标记分析了兔网织红细胞无细胞体系中血红蛋白生物合成的过程。血红蛋白中含有较多亮氨酸。其氨基酸序列为已知。合成反应在较低温度 (15) 中进行，以降低合成速度。在反应开始后的 4~60min 内，每隔一定时间取样分析。将带有标记的蛋白质分离出来，拆开，两条链，用胰蛋白酶水解肽链，用纸层析分离水解碎片并测定所含的放射性强度。实验结果如图 11-9--9 所示。从图中可以看出，反应 4min 后，只有羧基端含有 ^3H -亮氨酸。随着反应时间的延长，带有标记的肽段自羧基端向 N-端延伸，到 60min 时，几乎整个肽段都布满了标记物。

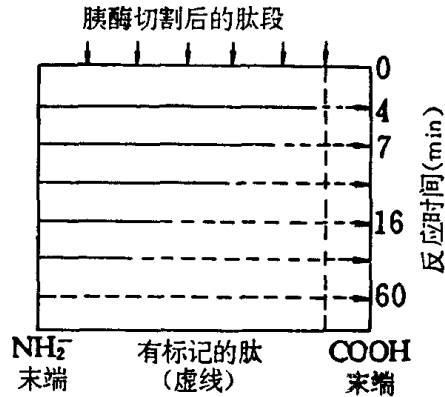


图 11-9 标记亮氨酸掺入血红蛋白 α -链羧基末端的图解(虚线表示带有标记的肽段)

因此，如果标记时间比完成一条链所需要的时间短的话，放射性很少会出现在氨基末端的氨基酸中，而大多是出现在羧基末端的氨基酸中，并且沿着从氨基端至羧基端可以观察到一个清楚的放射性增加的梯度。这个实验说明多肽链的合成是从 N-端向 C-端进行的。

2. 复合物的形成过程

(1) 在 IF_3 参加下 70S 核糖体解离为大小亚基， IF_3 与 30S 小亚基结合。

(2) 带有 IF_3 的 30S 小亚基与 mRNA 结合，形成 mRNA-30S 亚基- IF_3 (1:1:1) 复合物。在 mRNA 5'-端起始密码子 AUG 的上游约 10 个核苷酸处有一段富含嘌呤的序列，称之为 SD (Shine-Dalgarno) 序列。能够与 30S 小亚基上 16SrRNA 的 3'-端富含嘧啶的序列互补配对。这样 30S 亚基在 mRNA 上的结合位置正好使 30S 亚基上的部分 P 位对准起始密码子 AUG，以便 fMet-tRNA_f 进入 P 位。

(3) $\text{IF}_2\text{-GDP}$ 与 GTP 反应生成 $\text{IF}_2\text{-GTP}$ ，再与 fMet-tRNA_f 结合生成 $\text{GTP-IF}_2\text{-fMet-tRNA}_f$ 复合物 (或许 $\text{IF}_2\text{-GTP}$ 先与 30S 亚基结合，再识别 fMet-tRNA_f)。使 fMet-tRNA_f 进入 30S 亚基的部分 P 位。

(4) 在 IF_1 参加下，mRNA-30S 亚基- IF_3 进一步与 $\text{GTP-IF}_2\text{-fMet-tRNA}_f$ 结合，并释放出 IF_3 。这样就形成一个 30S-mRNA- $\text{fMet-tRNA}_f\text{-GTP-IF}_1, 2$ 的 30S 起始复合物 (或称为前起始复合物)。

合物)。

(5) 30S 起始复合物与 50S 大亚基相结合, 形成一个 70S 起始复合物。同时 GTP 水解成 GDP 和 P_i , 并释放出 IF_1 和 IF_2 。这时核糖体上的 P 位和 A 位都已处于正确的状态, 肽基部位 (即 P 位) 已被 fMet-tRNA_f 占据, 空着的氨酰-tRNA 部位 (即 A 位) 准备接受一个能与第二个密码子配对的氨酰-tRNA, 为肽链的延伸作好了准备。如图 11-10 所示。

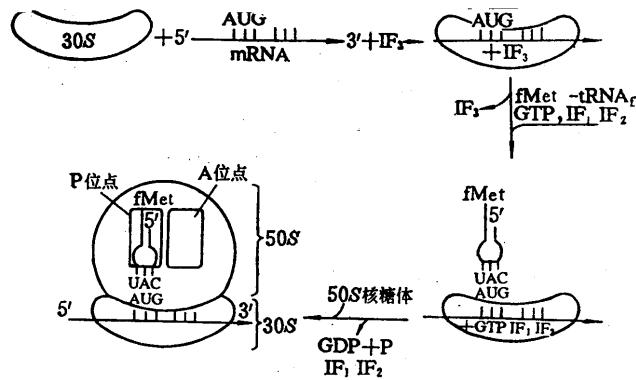


图 11-10 大肠杆菌 70S 起始复合物的形成

三、肽链的延伸

肽链的延伸需要有 70S 的起始复合物、氨酰-tRNA、三种延伸因子: 一种是热不稳定的 EF-Tu, 另一种是热稳定的 EF-Ts, 第三种是依赖于 GTP 的 EF-G, 又称移位因子, 以及 GTP 和 Mg^{2+} 。其步骤 (图 11-11) 是:

1. 进位

一个新的氨酰-tRNA 与 EF-Tu-GTP 结合后首先进入 70S 核糖体的 P 位 (即氨酰-tRNA 接受部位), P 位是在小亚基的远离大亚基的一面。然后氨酰-tRNA 利用 GTP 水解释放的能量翻转到 A 位, 同时 EF-Tu-GTP 分解为 EF-Tu-GDP 释放出来。这个氨酰-tRNA 的反密码子必须与处于 A 位点上的 mRNA 的密码子互补配对。释放的 EF-Tu-GDP 再与 EF-Ts 和 GTP 反应重新生成 EF-Tu-GTP, 并参与下一轮反应。

2. 成肽

肽基转移酶把 P 位的甲酰甲硫氨酰基 (或肽基) 从 P 位转移到 A 位的氨酰-tRNA 的氨基上形成第一个肽键 (或一个新的肽键)。肽基转移酶活性位于 P 位和 A 位的连接处, 靠近 tRNA 的接受臂。目前已证明肽基转移酶的组分为 50S 大亚基上的 23SrRNA 和 5 种蛋白质。

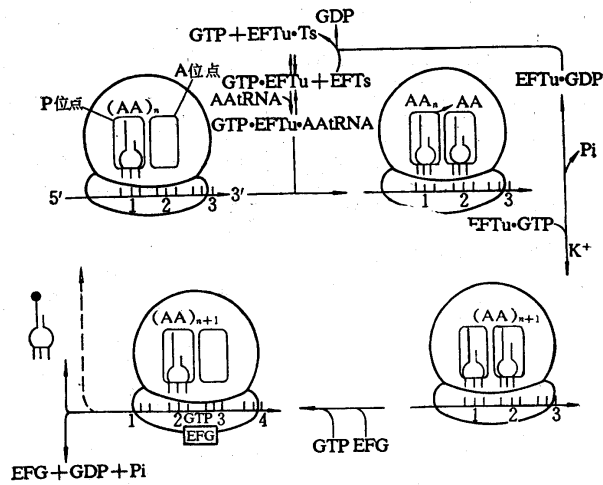


图 11-11 肽链的延伸过程

嘌呤霉素对蛋白质合成的抑制作用就发生在这一步上(图 11-12)。嘌呤霉素的结构与氨酰-tRNA 的 3'-末端上 AMP 残基的结构十分相似。肽酰转移酶也能促使氨基酸与嘌呤

看
行
理

物
机

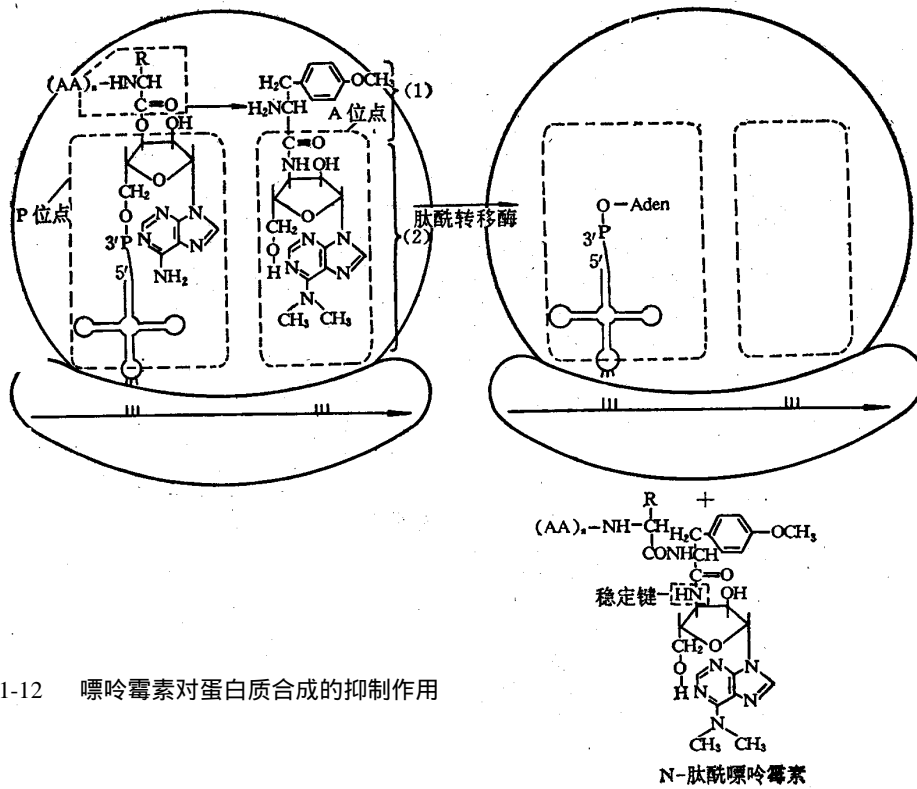


图 11-12 嘌呤霉素对蛋白质合成的抑制作用

3. 移位

移位因子 EF-G 和 GTP 结合到核糖体上,由核糖体上具有 GTPase 活性的某一组分将 GTP 水解,促进核糖体沿 mRNA 的 5' → 3' 方向移动。每次移动一个密码子的距离。移位的结果使原来在 A 位上的肽基-tRNA 又回到 P 位,原来在 P 位上的无负载的 tRNA 被移到 E 位,这是脱酰基 tRNA 离开核糖体的出口部位。移位过程需要 GTP 提供能量。肽链延伸过程每重复一次,肽链就增加一个氨基酸。*E.coli* 在最适温度 37℃ 下,合成多肽链的延伸速度约为每分钟 1 000 个氨基酸左右。

移位的机理至今仍不十分清楚。但延伸与移位是两个分离的独立过程,并不像原先所想象的是由于肽链的延伸作用推动移位,移位只不过是被动的反应而已。

肽链延伸过程每重复一次,肽链就伸长一个氨基酸的长度。很多抗菌素及激素对多肽合成的抑制及刺激作用都发生在这一步上。

四、肽链合成的终止与释放

mRNA 链上的肽链合成终止密码为 UAA、UAG、UGA。参与该过程的有三种终止因子,也称为释放因子,即 RF₁、RF₂ 和 RF₃ 蛋白。当核糖体移动到终止密码子 UAA、UAG 或 UGA 时,没有相应的氨酰-tRNA 能结合在 A 位,因为细胞中不含有与反密码子与终止密码子互补的 tRNA。这些终止信号可被释放因子 (release factor) 或称终止因子识别。RF₁ 分子量为 94 000,可以识别终止密码子 UAA 和 UAG,并与之结合;RF₂ 分子量为 47 000,可以识别终止密码子 UAA 和 UGA,并与之结合。释放因子都是作用于 A 位,由于它们的作用使 P 位上的肽基转移酶发生变构作用,催化活性变为水解酶活性,从而使肽基不再转移到氨酰-tRNA 上,而转移给水分子,已合成的多肽链由于肽基-tRNA 的水解,而从核糖体上释放出来。然后 tRNA 脱落,核糖体的 30S 亚基和 50S 亚基解离,准备去合成另一分子蛋白。RF₃ 与 30S 亚基结合可以防止 50S 亚基与 30S 亚基结合,或者大小亚基聚合成稳定的无活性的单核糖体。过程如下:

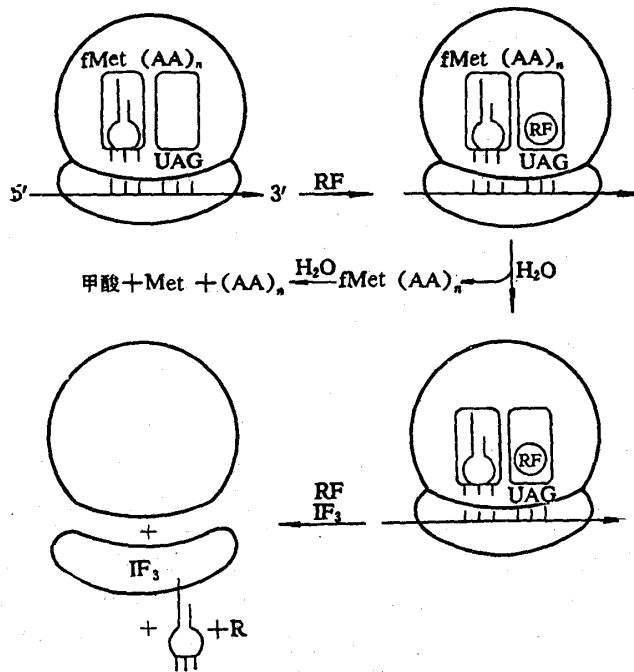


图 11-13 肽链合成的终止

五、多核糖体

上述合成过程所表示的是单个核糖体的情况，实际上生物体内合成蛋白质通常是多个核糖体同时与同一 mRNA 的不同部位相连，构成多核糖体 (polyribosome)，形成念珠状。两个核糖体之间，有一段裸露的 mRNA。每一个核糖体按上述过程各自合成一条肽链，越靠近 mRNA 的 3'-端的核糖体合成的多肽链就越长。这样可以大大提高 mRNA 的翻译效率。在 mRNA 链上核糖体的数目随 mRNA 的长短而不同，例如血红蛋白多肽链的 mRNA 链较短，核糖体数目较多；而 rRNA 链较长，核糖体数目较少。

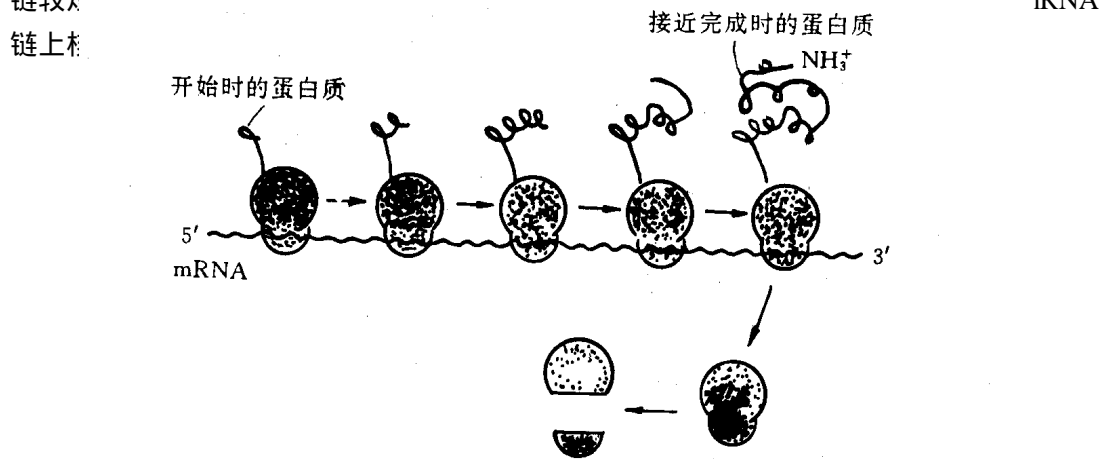


图 11-14 多核糖体的示意图

核糖体沿 mRNA 以 5' → 3' 方向移动，其各自功能是彼此独立的。

六、真核细胞蛋白质的生物合成

真核细胞中蛋白质合成的基本过程与原核细胞中的相似，但真核细胞的蛋白质合成过程中包括更多的蛋白质组分，并且有些步骤更复杂。在此对已研究得较清楚的几个方面加以介绍。

(一) 原核生物翻译与转录是偶联的，而真核生物不存在这种偶联关系。

(二) 核糖体更大

真核生物核糖体为 80S 核糖体，分子量为 4 200 000，包括 60S 的大亚基和 40S 的小亚基。40S 亚基含有一分子 18SrRNA，60S 亚基含有三分子 rRNA：5S、28S 和 5.8SrRNA，其中 5.8SrRNA 是真核生物所特有的。

(三) 起始 tRNA

在真核生物中，起始氨基酸是甲硫氨酸，而不是 N-甲酰甲硫氨酸。但与原核生物相同的是，有一种特异的 tRNA 参加起始过程，这个氨酰-tRNA 称为 Met-tRNA_i (i 代表起始)。

(四) 起始信号

真核生物中起始密码子总是 AUG 与原核生物不同，真核生物不以 mRNA 的 5' 端富含嘌呤序列来区别起始密码子 AUG 和肽链内部的 AUG。通常最接近 mRNA 的 5' 端 AUG 即是起始位点。40S 亚基结合在 mRNA 的 5' 端“帽子”结构部位，向 3' 端方向滑动时寻找起始密码子 AUG，这种滑动需要 ATP 的水解。一个真核 mRNA 链上只有一个起始位点，所以只能翻译出一条多肽链。原核生物则不同，一条 mRNA 链上有多个起点，所以可以翻译出几条多肽链。

(五) 起始复合物

真核较原核有更多的起始因子 (用 eIF 表示)，而且相互作用更复杂。已知的起始因子有 9 种，其中 eIF₂-GTP 可携带起始 tRNA 到 40S 亚基上，帽子结合蛋白 (CBPs) 可结合在 mRNA 的“帽子”结构部位，eIF₃ 与 40S 亚基结合后也可防止 60S 亚基与 40S 亚基结合。此外还有 eIF₄，eIF₅，等等。表 11-8 真核细胞肽链合成的起始因子的种类、分子量及功能。

表 11-8 真核细胞肽链合成的起始因子

种 类	分 子 量		功 能
	亚 基	天 然 态	
eIF-1	15 000	15 000	40S 起始复合物形成
eIF-2	$\left\{ \begin{array}{l} 55\ 000 \\ 50\ 000 \\ 35\ 000 \end{array} \right.$	125 000	Met-tRNA _i 及 GTP 的结合
eIF-3	很多亚基	500 000	mRNA 的结合, 80S 核糖体的解离
eIF-4A	50 000	50 000	天然 mRNA 与 40S 亚基结合
eIF-4B	(80 000)	(80 000)	与 mRNA 的“帽子”识别
eIF-4C	19 000	17 000	稳定 30S 起始复合物
eIF-4D	17 000	15 000	亚基的结合, 肽链延伸作用
eIF-5	150 000	125 000	80S 核糖体的形成
eIF-2A	65 000	65 000	tRNA 与 40S 核糖体结合

(六) 延长因子和终止因子

真核生物中的延长因子 EFl 和 EF1 β 与原核生物的 EF-Tu 和 EF-Fs 是极相似的。EFl-GTP 使氨酰-tRNA 进入核糖体的 A 位, 而 EF1 β 催化 EFl-GDP 和 EFl-GTP 的相互转变。真核的 EF2 和原核的 EF-G 一样, 作用于 GTP 促进移位。

真核的终止信号只能被一种释放因子 eRF 识别, 其作用需要 GTP。

七、肽链合成后的加工与折叠

在核糖体上新合成的多肽被送往细胞的各个部分, 以行使各自的生物功能。大肠杆菌新合成的多肽, 一部分仍停留在胞浆之中, 一部分则被送到质膜、外膜或质膜与外膜之间的空隙。有的也可分泌到胞外。真核细胞中新合成的多肽被送往溶酶体、线粒体、叶绿体、胞核等细胞器。所以新合成的多肽的输送是有目的地、定向地进行的。那么, 这种定向的输送是如何实现的呢? 从现有资料看, 原核细胞与真核细胞有极相似的输送机理。这里让我们先分析一下在真核细胞中发生的情形。

(一) 信号肽及信号肽的识别

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确定。一部分核糖体以游离状态停留在胞浆中, 它们只合成供装配线粒体及叶绿体膜的蛋白质。另一部分核糖体, 受新合成多肽的 N-端上的信号肽 (signal sequence) 所控制而进入内质网, 使原来表面平滑的内质网 (smooth ER) 变成有局部凸起的粗糙内质网 (rough ER)。

与内质网相结合的核糖体可合成三类主要的蛋白质：溶酶体蛋白，分泌到胞外的蛋白和构成质膜骨架的蛋白。信号肽的概念首先是由 D. Salatiel 和 G. Blobel 所提出的。以后，C. Milstein 和 G. Brownlee 在体外合成的免疫球蛋白肽链的 N-端找到了这种信号肽。信号肽的长度在 20 氨基酸残基左右。当时，只是在体外合成的未经转译后加工的免疫球蛋白上找到了信号肽，但不能在体内合成的经过转译后加工的成熟免疫球蛋白上找到它。因为在体内合成时，在转译后加工时，信号肽被信号肽酶 (signal peptidase) 切掉了。以后在很多真核细胞的分泌蛋白中都发现有信号肽。

信号肽 (见图 11-15) 具有一些共同的特征：肽链长度为 13~26 个氨基酸残基，氨基端至少含有一个带正电荷的氨基酸，在中部有一段长度为 10~15 氨基酸残基的由高度疏水性的氨基酸组成的肽链，常见的为丙氨酸、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸。这个疏水区极重要，其中某一个氨基酸被非极性氨基酸置换时，信号肽即失去其功能；在信号肽的 C-端有一个可被信号肽酶识别的位点，此位点上游常有一段疏水区较强的五肽，信号肽酶切点上游的第一个 (-1) 及第三个 (-3) 氨基酸常为具有一个小侧链的氨基酸 (如丙氨酸)。

信号肽的位置也不一定在新生肽的 N-端。有些蛋白质 (如卵清蛋白) 的信号肽位于多肽链的中部，但其功能则相同。

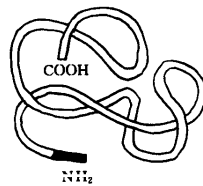


图 11-15 信号肽

那么，信号肽又是由什么蛋白质加以识别的呢？Blobel 等已证明，识别信号肽的是一种核蛋白体，称为信号识别体 (signal recognition particle, SRP)。SRP 的分子量为 396 000，有两个功能域 (domain)，一个用以识别信号肽，另一个用以干扰进入的氨酰-tRNA 和肽酰移位酶的反应，以终止多肽链的延伸作用，信号肽与 SRP 的结合发生在蛋白质合成刚开始时，即 N-端的新生肽链刚一出现时，一旦 SRP 与带有新生肽链的核糖体相结合，肽链的延伸作用暂时终止，或延伸速度大大减低。SRP-核糖体复合体就移动到内质网上并与那里的 SRP 受体停泊蛋白 (docking protein) 相结合。一旦与此受体相结合后，蛋白质合成的延伸作用又重新开始，SRP 受体是一个二聚体蛋白，由 69 000 的 α 亚基与 30 000 的 β 亚基组成。然后，带有新生肽链的核糖体被送入多肽移位装置 (translocation machinery)，同时，SRP 又被释放到胞浆中，新生肽链又继续延长。移位装置含有两个膜本体蛋白 (integral membrane protein)；ribophorin 和 (ribophorin)。蛋白质的识别过程见图

11-16。

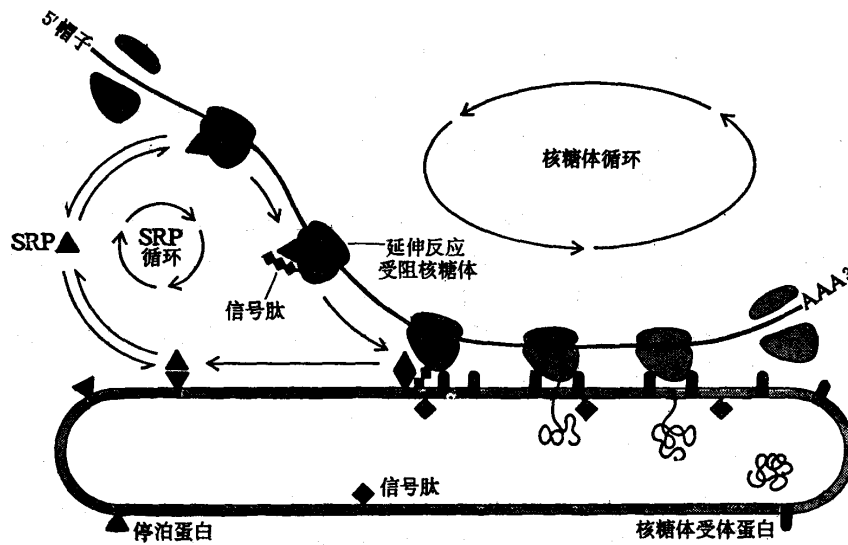


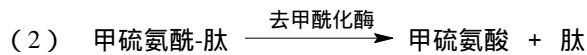
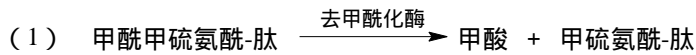
图 11-16 蛋白质的识别过程

(二) 蛋白质的加工方式

对于不同的蛋白质来说，加工过程有所不同，没有统一的模式，概括地说，可以有以下几种方式。

1. N-端的甲酰甲硫氨酸的切除

蛋白质合成是从甲酰甲硫氨酸开始的，在加工过程中甲酰甲硫氨酸被除去，反应分两步进行：



在真核生物中，常常在多肽链合成到一定长度时(15~30个氨基酸)，其N-端的甲硫氨酸就被氨基肽酶切除。在原核生物内也有少数肽链N-末端的fMet只去除甲酰基，而甲硫氨酸被保留下来。这样的蛋白质多肽链的N-末端氨基酸就是甲硫氨酸。

2. 二硫键的形成

肽链内或两条肽链间的二硫键是在肽链形成后-SH基被氧化而形成的。二硫键在形成蛋白质的空间结构中起着重要作用。

3. 氨基酸的修饰

包括羟基化、糖基化、磷酸化、酰基化、羧化作用、甲基化。

(1) 羟基化：肽链中某些氨基酸的侧链被修饰 (modification)，这都是在翻译后的加工过程中被专一的酶催化而形成的。例如脯氨酸被羟基化生成羟脯氨酸，胶原蛋白在合成后，其中的某些脯氨酸和赖氨酸残基发生羟化。在 X-Pro-Gly (X 代表除 Gly 外的任何氨基酸) 序列中的脯氨酸羟化为 4-羟脯氨酸，也可生成 3-羟脯氨酸，但较少。脯氨酸的羟化有助于胶原蛋白螺旋的稳定。有一些赖氨酸，以后再糖基化 (见下文)。其它蛋白质如核心专一凝集素 (core-specific) 也含有羟脯氨酸和羟赖氨酸。

(2) 糖基化：在多肽链合成过程中或在合成之后常以共价键与单糖或寡糖侧链连接，生成糖蛋白。这些糖可连接在天冬酰胺的酰胺上 (N-连接寡糖) 或连接在丝氨酸、苏氨酸或羟赖氨酸的羟基上 (O-连接寡糖)，糖基化是多种多样的，可以在同一条肽链上的同一位点连接上不同的寡糖，也可以在不同位点上连接上寡糖。糖基化是在酶催化反应下进行的。糖蛋白是一类重要的蛋白，许多膜蛋白和分泌蛋白均是糖蛋白。

(3) 磷酸化：酶、受体、介体 (mediator)、调节因子等蛋白质的可逆磷酸化是普遍存在的蛋白质细胞生长和代谢调节中有重要功能。磷酸化发生在翻译后，由各种蛋白质激酶催化，将磷酸基团连接于丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的羟基上。在磷酸酯酶的作用则发生脱磷酸作用。

(4) 酰基化：蛋白质的乙酰化普遍存在于原核生物和真核生物中，例如，烟草花叶病毒外壳在细菌、真菌、动植物中均存在。乙酰化有两个类型：一类是由结合于核糖体的乙酰基转移酶将乙酰-CoA 的乙酰基转移至正在合成的多肽链上，当将 N-端的甲硫氨酸除去后，便乙酰化，例如卵清蛋白的乙酰化便是如此；另一类型是在翻译后由细胞质的酶催化发生乙酰化，例如肌动蛋白和猫的珠蛋白。此外，细胞核内的组蛋白的内部赖氨酸也可以乙酰化。

(5) 羧化作用：一些蛋白质的谷氨酸和天冬氨酸可发生羧化作用。例如，血液凝固蛋白酶原 (prothrombin) 的谷氨酸在翻译后羧化成 γ -羧基谷氨酸，后者可以与 Ca^{2+} 螯合。这依赖于维生素 K 的羧化酶的催化作用。

(6) 甲基化：在一些蛋白质中赖氨酸被甲基化。如肌肉蛋白和细胞色素 c 中含有一甲二甲基赖氨酸。大多数生物的钙调蛋白含有三甲基赖氨酸。有些蛋白质中的一些谷氨酸链羧基也发生甲基化。

在蛋白质合成中多种氨基酸均可发生修饰，表 11-9 列出各种氨基酸的修饰。

表 11-9 蛋白质生物合成中各种氨基酸残基的修饰

氨基酸残基	修 饰
丙氨酸	氨基酸末端甲基化
精氨酸	ADP-核糖基化；氨基末端甲基化
天冬酰胺	ADP-核糖基化；糖基化；氨基末端甲基化； γ -羟化作用
天冬氨酸	在 GPI-锚定蛋白中以酰胺连接于乙醇胺； γ -羟化作用
半胱氨酸	二硫键形成；脂肪酰化作用
谷氨酸	γ -羟基化作用；甲基化作用
谷氨酰胺	交联赖氨酸的氨基；氨基末端甲基化；内部环化成氨基末端焦谷氨酸
甘氨酸	转变成羧基末端酰胺；氨基末端的肉豆蔻酰化
组氨酸	形成白喉酰胺 (diphthamide), 以后 ADP-核糖基化；氨基末端甲基化
赖氨酸	γ 羟化作用后 5-羟赖氨酸糖基化；交联形成；乙酰化作用
甲硫氨酸	氨基末端甲酰基团脱甲酰化作用；氨基末端甲基化
苯丙氨酸	氨基末端甲基化
脯氨酸	γ 羟化作用形成 3-或 4-羟脯氨酸；氨基末端甲基化
丝氨酸	磷酸化作用；糖基化作用；脂肪酰化作用；在 tRNA 水平上硒代半胱氨酸的形成
苏氨酸	磷酸化作用；糖基化作用；脂肪酰化作用
酪氨酸	磷酸化作用；哺乳动物 α -微管蛋白中羧基末端残基的交换

4. 切去一段肽链

有些新合成的多肽链要在专一性的蛋白酶的作用下切除部分肽段才能具有活性。例如酶原要切除部分肽段才能形成有活性的酶。还有些肽链的 N-末端存在着 15~ 30个氨基酸的一段顺序，其功能与将此蛋白质多肽链输送到细胞的特定部位 (细胞器)有关，所以称为信号肽。在肽链被输送到某特定部位后，此信号肽即被切除。

5. 亚基之间、亚基与辅基之间的聚合

具有四级结构的蛋白质由几个亚基组成，因此必须经过亚基之间的聚合过程才能形成具有特定构象和生物功能的蛋白质。对于结合蛋白来说，含有辅基成分，所以也要与辅基部分结合后才能具有生物功能。

主要参考文献

[1] 沈同编著，生物化学 (第二版)，北京：高等教育出版社

- [2] 吴显荣编著, 基础生物化学(第二版)北京: 中国农业出版社
- [3] 唐咏编著, 基础生物化学, 长春: 吉林科学技术出版社
- [4] 阎隆飞编著, 分子生物学(第二版)北京: 中国农业大学出版社

马 镝

第十一章 蛋白质的生物合成	327
第一节 蛋白质合成体系的重要组分	328
一、mRNA 与遗传密码	328
二、tRNA	334
三、rRNA 与核糖体	335
四、辅助因子	338
第二节 蛋白质生物合成过程	338
一、氨基酸的活化	338
二、大肠杆菌中肽链合成的起始	340
三、肽链的延伸	343
四、肽链合成的终止与释放	345
五、多核糖体	346
六、真核细胞蛋白质的生物合成	347
七、肽链合成后的加工与折叠	348