

## 第十二章 蛋白质的生物合成(翻译)

制作：何涛 审校：李洪

(2009年4月)

### 一、内容提示：

本章主要讲述翻译，即蛋白质生物合成体系的组成、蛋白质生物合成的过程以及翻译后的加工修饰。

#### (一) 翻译的概念：

蛋白质是生命的物质基础，由于蛋白质具有高度的种属特异性，机体的各种蛋白质均由机体自行合成，人体内的蛋白质处于不断更新之中。DNA 结构基因的遗传信息转录给 mRNA，以 mRNA 为模板指导蛋白质的合成，mRNA 的核苷酸顺序决定了多肽链中的氨基酸排列顺序，这个遗传信息的转译过程称为翻译（translation），翻译是蛋白质生物合成的同义词。

#### (二) 蛋白质生物合成体系的组成：

蛋白质生物合成是基因表达的结果，其合成体系包括：20 种氨基酸(原料)、mRNA(模板)、tRNA(氨基酸的搬运工具)、核糖体(含 rRNA，多肽链合成的“装配机”)、酶(氨基酰 tRNA 合成酶、转肽酶等)及蛋白质因子(起始、延长及终止因子)、供能物质(ATP、GTP)及某些无机离子( $Mg^{2+}$ 、 $K^{+}$ )等。

mRNA 是蛋白质生物合成的直接模板。原核生物的 mRNA 多为多顺反子，即由功能相关的几个结构基因串联在一起转录生成一条 mRNA，其中包含了几条多肽链的编码信息；而真核生物的 mRNA 则为单顺反子，由一个结构基因转录生成，只含一条多肽链的编码顺序。

mRNA 分子中每三个相邻的核苷酸构成一个遗传密码，代表相应的氨基酸，由此 mRNA 的核苷酸序列决定着蛋白质氨基酸序列。通常生物体共有 64 个密码子，其中有 61 个代表氨基酸，起始密码(AUG)和终止密码(UAG、UGA、UAA)，分别代表多肽链合成的起始和终止信号。遗传密码具有简并性 (degeneracy)、连续性 (commaless)、方向性、摆动性 (wobble) 和通用性 (universal) 等重要特性。

tRNA 在蛋白质生物合成的过程中，特异性地转运氨基酸，并通过其反密码子与 mRNA 上的密码子反平行互补配对结合，使氨基酸准确定位，保证了遗传信息传递的稳定性。

rRNA 与多种蛋白质组装成核糖体，各种参与蛋白质合成的物质均需结合于核糖体上，才能进行多肽链的合成。

#### (三) 蛋白质生物合成的过程：

蛋白质生物合成的过程包括氨基酸的活化与转运、核糖体循环及翻译后加工三个阶段。这是一个耗能的不可逆的过程。① 氨基酸的活化与转运：在氨基酰 tRNA 合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase) 的作用下由 ATP 供能，氨基酸的羧基被活化并与相应的特异 tRNA 结合形成氨基酰-tRNA，从而完成特定氨基酸的活化与转运过程。每活化一分子的氨基酸需消耗 2 分子 ATP。② 核糖体循环(ribosome cycle)：

# 泸州医学院

## 生物化学与分子生物学精品课程

活化了的氨基酸由 tRNA 携带至核糖体上，通过 tRNA 分子中的反密码子阅读 mRNA 上的密码子 (codon)，并在核糖体转肽酶的催化下相互缩合形成多肽链，这一过程在核糖体上反复进行，故称为核糖体循环。多个核糖体可以连接在同一条 mRNA 模板上，同时进行相同多肽链的合成，这种聚合物称为多聚核糖体，它可以提高 mRNA 的利用和蛋白质的合成效率。③ 多肽链合成后的加工修饰：许多蛋白质在多肽链合成后还需要经过一定的加工修饰，才能变成具有一定生物学功能的蛋白质，这个过程称为翻译后加工。加工方式有：多肽链折叠形成天然构象、切除 N-端起始氨基酸、形成二硫键、肽链的水解修剪、氨基酸残基侧链的修饰、辅基的结合及亚基的聚合等，不同蛋白质加工的具体方式不同。

蛋白质合成后，定向地被输送到其执行功能的场所称为靶向输送。大多数情况下，被输送的蛋白质分子需穿过膜性结构，才能到达特定的地点。因此，在这些蛋白质分子的氨基端，一般都带有一段疏水的肽段，称为信号肽 (signal peptide)。分泌型蛋白质的定向输送，就是靠信号肽与胞浆中的信号肽识别粒子 (signal peptide recognition particles, SRP) 识别并特异结合，然后再通过 SRP 与膜上的对接蛋白 (docking protein, DP) 识别并结合后，将所携带的蛋白质送出细胞。

蛋白质的合成与医学有着密切联系，例如多种抗生素通过作用于翻译过程中的某一环节而抑制或干扰蛋白质的合成，从而发挥其抗菌、抗肿瘤作用。

## 二、重点解析：

### (一) RNA 在翻译中的主导作用：

#### 1. mRNA 的作用：

蛋白质分子中的氨基酸排列顺序归根结底是由 DNA 上的基因决定的，以 DNA 为模板转录成 mRNA，mRNA 则作为蛋白质合成的直接模板，通过它把 DNA 储存的遗传信息传递给蛋白质。在真核生物中，转录在胞核中进行，而翻译则在胞液中进行，由此可见，通过 mRNA 沟通了 DNA 和蛋白质这两种结构截然不同的生物大分子的信息联系，也沟通了细胞核膜内外的间隔。mRNA 的核苷酸顺序怎样代表多肽链中的氨基酸顺序？这就是遗传密码的问题。mRNA 的四种核苷酸按三个为一组可组成 64 种密码子，这些密码子不仅代表 20 种氨基酸，还决定了翻译过程的起始和终止。

#### 2. tRNA 的作用：

由于氨基酸本身并不能直接辨认它的密码子，所以必须通过特异 tRNA 的媒介作用才能识别对应的密码子。tRNA 一方面可以氨基酰-tRNA 的方式携带氨基酸，另一方面又可识别遗传密码，即通过其反密码子与 mRNA 中的密码子对应结合，使它所携带的活化氨基酸在 mRNA 上按一定顺序对号入座。由此可见，以 tRNA 为桥梁，才能真正实现将核酸语言转换成蛋白质语言。

起始 tRNA 是专一性识别起始密码的 tRNA。在原核生物中，起始 tRNA 是一种携带甲酰蛋氨酸 tRNA，即 fMet-tRNA<sup>fMet</sup>，而在真核生物中则是携带蛋氨酸的 tRNA，即 Met-tRNA<sup>iMet</sup>。

#### 3. rRNA 的作用：

# 泸州医学院

## 生物化学与分子生物学精品课程

由 rRNA 与蛋白质组装成的核糖体 (ribosome) 是蛋白质合成的“装配机”，它由大、小两个亚基组成。其中，小亚基可以识别 mRNA 头部结构并与之结合，启动翻译。真核生物大亚基具有两个 tRNA 的结合位点，即氨基酰位 (aminoacyl site, 又称 A 位或受位) 和肽酰基位 (peptidyl site, 又称给位, D 位或 P 位), 并具有转肽酶的活性, 此外尚可结合一些特殊的酶及蛋白质因子, 参与多肽链的合成反应。原核生物大亚基则具有三个 tRNA 的结合位点, 即除了上述的 A 位和 P 位以外, 还有排出位 (exit site, E 位)。

现有的证据已表明, rRNA 在翻译过程的各个阶段都与 mRNA 或 tRNA 发生相互作用。更为重要的是, 现已证明核糖体大亚基 rRNA 具有转肽酶活性, 而蛋白质组份的作用只是增强 rRNA 的活性并维持核糖体的结构。

### (二) 氨基酰 tRNA 合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase) 的作用特点:

在蛋白质分子中, 氨基酸借其所含的  $-NH_2$  和  $-COOH$  连接以形成肽键, 但  $-NH_2$  和  $-COOH$  的反应性均不强, 必须经活化后才能彼此相连。研究已证实被活化的是  $-COOH$ , 这是一个酶促过程, 称为氨基酸的活化。已活化的氨基酸不能直接缩合成肽, 须由特异的“搬运工具”—— tRNA 携带。氨基酸的活化及其后与 tRNA 的结合都是由氨基酰 tRNA 合成酶催化的。它所催化的具体反应步骤如下: 首先在酶的作用下, ATP 分解为 AMP 和  $PPi$ , AMP 与氨基酸及酶结合成一种中间复合物, 此复合物中的  $-COOH$  与 AMP 的磷酸基以高能混合酸酐键相连, 从而得以活化。然后, 复合物再与特异的 tRNA 作用, 将氨酰基转移到 tRNA 的  $-CCA-OH 3'$  上, 以酯键结合, 形成氨基酰 tRNA, 即可参与核糖体循环。

氨基酰 tRNA 合成酶具有高度的专一性, 既能特异地识别氨基酸, 又能特异地识别 tRNA, 是遗传信息准确翻译的必要条件之一。由于遗传密码的简并性, 一种氨基酸常有几个与之对应的 tRNA, 而這些 tRNA 能被同一种氨基酰 tRNA 合成酶所识别, 因而该酶对氨基酸有严格的特异性, 但对与此氨基酸相对应的几种不同的 tRNA 则无严格的特异性。有人把这种氨基酰 tRNA 合成酶与 tRNA 分子间的相互作用称为第二套遗传密码, 以表示它对确保翻译的准确性所起的关键作用, 这一套遗传密码显然要比第一套遗传密码还要复杂。  
[www.med126.com](http://www.med126.com)

### (三) 核糖体循环的基本过程:

活化了的氨基酸在核糖体上阅读 mRNA 上的密码子并缩合形成多肽链的过程称为核糖体循环, 这是蛋白质合成的中心环节。核糖体循环可人为地分为三个阶段: ① 起始阶段。由核糖体的大、小亚基、mRNA、起始 tRNA 在起始因子、 $Mg^{2+}$ 、GTP 等的参与下形成起始复合物。② 肽链延长阶段。由进位或注册(氨基酰 tRNA 与核糖体 A 位的结合)、成肽(肽键的形成和空载 tRNA 脱落)和转位(核糖体与 mRNA 的相对位移)三步循环反应构成, 这是核糖体循环的中心步骤, 每缩合一分子氨基酸残基需经上述三步反应并消耗 2 分子 GTP, 并需延长因子参与。③ 终止阶段。包括释放因子识别终止密码, 多肽链水解, 大小亚基、mRNA 解离等步骤。整个过程中核糖体沿 mRNA 链从  $5' \rightarrow 3'$  方向移动, 与此相应多肽链从 N 端  $\rightarrow$  C 端延伸。

# 泸州医学院

## 生物化学与分子生物学精品课程

### 三、知识扩展:

#### (一) 复制、转录和翻译的联系与区别:

蛋白质生物合成的基本过程比较抽象，内容较难理解，在学习时首先应弄清蛋白质生物合成体系的组成及功能，在此基础上掌握合成过程的主要步骤。整个过程以氨基酸的活化为起点，经转运作用使之在核糖体上对号入座，通过肽键逐步缩合成多肽。应注意把握下列重要环节：① 活化。部位-酶-方式-能耗；② 转运。转运工具-转运方式-转运地点-定位方式；③ 成肽。成肽部位-成肽方式-酶-能耗。在此基础上，将整个内容有机地联系起来。同时，在学习了复制、转录和翻译三部分知识后，应对 DNA、RNA 和蛋白质三类物质的合成代谢进行对比、归纳和总结，找出它们的共性和特点，以便更好地把握遗传信息传递的方式和规律。现将三者的异同点列于下表。

	复制	转录	翻译
原 料	dATP、dGTP、dTTP	ATP、GTP、UTP、CTP	20 种氨基酸
模 板	DNA 双链	DNA 单链	mRNA 链
主要的酶及因子	DDDP、解链酶、引物酶、DNA 拓扑异构酶、DNA 连接酶、SSB 等	DDRP、 $\rho$ 因子	氨基酰 tRNA 合成酶、转肽酶、起始因子、延长因子、终止因子
方 式	半保留复制	不对称转录	核糖体循环
配对规律	A-T、T-A、G-C、C-G	A-U、T-A、G-C、C-G	密码子-反密码子-氨基酸
合成方向	5'→3'	5'→3'	N 端→C 端
连续性	半不连续	连续合成	连续合成
产 物	子代双链 DNA	RNA 单链	多肽链
合成后加工	一般无需加工	转录后加工, 分别形成 mRNA、tRNA、rRNA	翻译后加工形成有生物活性的蛋白质

#### (二) 原核生物及真核生物翻译起始的比较:

与复制、转录一样，翻译的起始及其调控是最重要的事件。蛋白质生物合成的起始过程十分复杂，且在原核及真核生物中各不相同，应注意二者的区别。

在原核生物中，先由核糖体 30S 小亚基与 mRNA 的 5'-端含起始密码(AUG)的部位形成复合物，这可能是由于原核生物 mRNA 在其 5'-端起始密码的上游常有一富含嘌呤的 Shine--Dalgarno(GGAGGU)片段(S-D 序列)，可与 30S 小亚基中 16S rRNA 的 3'-端互补结合的缘故。此后胞液中已合成的起始 tRNA，即 fMet-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup> 通过其反密码子识别 mRNA 上的 AUG 并与其结合，该步需 GTP 供能。最后，核糖体

# 泸州医学院

## 生物化学与分子生物学精品课程

50S 大亚基结合于上述复合物，形成 70S 起始复合物。整个过程需三种起始因子参与。

真核生物的起始过程与原核生物类似，但更为复杂，主要有下列区别：① 真核生物的 tRNA 为 Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>，其中的 Met 未乙酰化，在起始因子的作用下首先进入核糖体 40S 小亚基，再与 mRNA 结合。② mRNA 与 40S 小亚基结合需 ATP 分解供能，结合时 mRNA 5'-端的帽子结构起了重要作用。由于真核生物 mRNA 没有 SD 序列，故通过帽子结合因子，将 mRNA 的 5'-帽子结合到 40S 小亚基上，结合后 mRNA 向下游扫描，使起始密码正确定位于起始 tRNA 反密码子附近。③ 真核生物参与起始的蛋白质因子与原核生物不同。

### (三) 蛋白质因子在翻译中的作用：

在核糖体循环过程中，多种蛋白质因子发挥了重要的作用。这些蛋白质因子可分为：起始因子（initiation factor, IF）、延长因子（elongation factor, EF）和释放因子（release factor, RF）三类。

#### 1. 起始因子的种类与作用特点：

在原核生物中，肽链合成的起始阶段需三种 IF(IF<sub>1</sub>、IF<sub>2</sub>、IF<sub>3</sub>)。其中，IF<sub>3</sub> 可促进核糖体大、小亚基的解离，并使 mRNA 的 5'-端与 30S 小亚基特异结合；IF<sub>1</sub> 和 IF<sub>2</sub> 则参与 fMet-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup> 结合到小亚基上，IF<sub>2</sub> 还具有 GTP 酶活性(促使 GTP→GDP+Pi)。

真核生物的 IF 有 10 种(eIF<sub>1</sub>、eIF<sub>2</sub>、eIF<sub>2</sub>B、eIF<sub>3</sub>、eIF<sub>4</sub>A、eIF<sub>4</sub>B、eIF<sub>4</sub>E、eIF<sub>4</sub>G、eIF<sub>5</sub>、eIF<sub>6</sub>)，有酸性蛋白也有碱性蛋白，已发现的 eIF 分子量为 15~150 kD 不等，其中 8 种为单链多肽，两种为多条多肽链的聚合物。eIF<sub>2</sub> 由三条多肽链组成，eIF<sub>3</sub> 至少由 9 种不同的多肽链构成。它们的功能分别为：eIF<sub>1</sub> 促进 mRNA 与 40S 亚基结合并使之稳定；eIF<sub>2</sub> 与起始 tRNA 及 GTP 形成三元复合物；eIF<sub>3</sub> 促进起始 tRNA 与 mRNA 的结合，促使 80S 核糖体保持亚基解离状态；eIF<sub>4</sub>A 促进 mRNA 与 40S 亚基结合，具有 ATP 酶活性；eIF<sub>4</sub>B 促进 mRNA 与 40S 亚基结合、解旋；eIF<sub>4</sub>E 和 eIF<sub>4</sub>G 是 eIF<sub>4</sub>F 复合物的成份；eIF<sub>5</sub> 为 80S 起始复合物的形成所需要，促使 GTP 水解；eIF<sub>2</sub>B 和 eIF<sub>6</sub> 促进核糖体大、小亚基的解离；帽结合因子(eIF<sub>4</sub>E) 可与 mRNA 的帽结合，促使 mRNA 转移到小亚基上。

作为起始因子的蛋白质都能促进一种或几种以上的起始反应，它们在起始复合物形成后，即自行脱落。已知多种 IF 或其亚基具有磷酸化位点，其中特别是 eIF-2 $\alpha$  亚基的磷酸化/去磷酸化对蛋白质生物合成的起始起关键的调节作用，磷酸化 eIF-2 $\alpha$  抑制翻译的起始。

#### 2. 延长因子的种类与作用特点：

肽链延伸阶段需要延长因子。在原核生物中有 EF-Tu、EF-Ts 和 EF-G 三种，EF-Tu、EF-Ts 共同促进氨基酰-tRNA 进入核糖体受位，同时还具有 GTP 酶活性；EF-G 有转位酶及 GTP 酶活性，促使携带有肽链的 tRNA 从受位转移到给位，并促使失去肽链(或乙酰蛋氨酸)的 tRNA 从给位上脱落。

真核生物的延长因子有两种：EF-1 与 EF-2。EF-1 由  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  三个亚基组成， $\alpha$  亚基的分子量为 50 kD，相当于 EF-Tu，可与氨基酰 tRNA 及 GTP 形成三元复合物，然后与核糖体结合，具有 GTP 酶活性； $\beta$  与  $\gamma$  的分子量分别为 30 kD 和 55 kD，二者共同相当于原核生物的 EF-Ts，促进 EF-1 $\alpha$  上 GTP/GDP

# 泸州医学院

## 生物化学与分子生物学精品课程

的交换。EF-2 相当于 EF-G，可促进肽链延长中的转位，并使 GTP 水解。EF-2 可被共价修饰，也可被白喉毒素所抑制。

### 3. 释放因子的种类与作用特点：

肽链合成终止阶段需要 RF 使肽链合成终止，并使新合成的肽链与核糖体及 mRNA 脱离。

原核生物中 RF 有三种，它们均可识别终止密码，使 50S 亚基上的转肽酶将给位上已合成的多肽链水解释放。其中，RF<sub>1</sub> 对 UAA 或 UAG 特异，RF<sub>2</sub> 对 UAA 或 UGA 特异，RF<sub>3</sub> 结合 GTP，并可促进 RF<sub>1</sub> 及 RF<sub>2</sub> 对核糖体的结合。此外还有核糖体结合因子(RR)，使已达终止部位、多肽链已释放的核糖体从 mRNA 上脱落。

真核生物只含一种 RF，该因子常以二聚体形式存在，兼有原核生物三种终止因子的作用，能识别三种终止密码。由不同哺乳动物提纯到的 RF 功能相似，具 GTP 酶活性。

### (四) 多肽链翻译后的加工：

由核糖体上合成的多肽链即新生肽，虽有明确的氨基酸序列，但还不具备蛋白质的三维空间结构与生物活性，需经多种化学修饰(磷酸化、羟基化、糖基化、二硫键的形成等)、折叠与去折叠、转运至特定部位、某些氨基酸及肽段的水解等加工过程才能成为有功能的成熟蛋白质。

20 世纪 70 年代，Anfison 根据体外牛胰核糖核酸酶的变性与复性实验提出了蛋白质的一级结构决定其高级结构的原则，获得了国际生化界的普遍接受。但近年来由于一类称为分子伴侣(molecular chaperone)的新的生物功能蛋白质的发现，使细胞内新生肽折叠的自组装学说受到严峻的挑战。新的观点认为，细胞内新生肽折叠和成熟为功能蛋白质，一般来说是需要帮助的，而不是自发进行的。目前认识到的帮助新生肽折叠的蛋白质有两类：一类是分子伴侣，另一类是催化与折叠直接有关的化学反应的酶，称为“折叠酶”。从严格的意义上讲，中心法则应修正为 DNA→RNA→多肽链→蛋白质。

### (五) 抗生素的作用机理：

抗生素可通过抑制细菌蛋白质的生物合成过程而发挥其抗菌作用。四环素族，包括四环素、土霉素、金霉素和强力霉素等，都具有共同的氢化萘四苯环的基本结构，能够与细菌核糖体的 A 位结合，阻止氨基酰-tRNA 进入该位点，从而抑制其蛋白质的生物合成。氯霉素的作用部位则是细菌核糖体 50S 亚基，可抑制其转肽酶的活性，并阻止肽链延长，使蛋白质合成停止。氨基甙类抗生素包括链霉素、卡那霉素、庆大霉素、新霉素等，它们主要是干扰氨基酰-tRNA 与 30S 亚基的结合，使 70S 起动复合物固定下来，抑制多肽链合成的起动和延长。其他如嘌呤霉素和放线菌酮也具有抑制蛋白质生物合成的作用。