

20种氨基酸，密码子应是三联体（triplet）。

2、遗传密码的破译

基因密码的破译先后经历了五十年代的数学推理阶段和1961-1965年的实验研究阶段。

1961年Crick 证明三联体密码子学说是正确的；且非重叠的、连续编码无标点的。mRNA分子上以5'→3'方向，从AUG开始每三个连续的核苷酸（三联体）组成一个密码子（codon）。从1961年——1964年Nirenberg采用人工合成法和核糖体结合技术获得了64组遗传密码，汇集成一个表——遗传密码表。

mRNA每3个碱基组成三联体密码子,决定一个氨基酸的信息。有64个密码子，其中mRNA 5'端的AUG称为起始密码。UAG、UAA、UGA为肽链合成的终止信号，其余61个密码子代表20种氨基酸。密码阅读方向是从5'到3'，决定翻译的方向性。

3、遗传密码有以下生物特性（General properties of the genetic code）：

(1) 遗传密码的方向性、连续性和不重叠（directory, Continuous and non-overlapping），即从AUG开始，各密码子连续阅读而无间断，若有碱基插入或缺失，会造成移码突变。

(2) 简并性 Degeneracy，大部分氨基酸有多个密码子，以2~4个居多，可有6个。这种由多种密码编码一种氨基酸的现象称为简并性。决定同一种氨基酸密码子的头两个碱基是相同的,第三位碱基不同,第三位碱基发生点突变时仍可翻译出正常的氨基酸。

(3) 摆动性 Wobble hypothesis，mRNA 密码子的前两位碱基和 tRNA 的反密码严格配对。而密码第三位碱基与反密码第一位碱基不严格遵守配对规则，称为密码配对的摆动性。

(4) 通用性 Universality，生物体的遗传密码相同，称密码的普遍性。但线粒体密码子有例外。如 AUA 与 AUG 均代表 Met 和起始密码子；UGA 为 Trp 密码子而不是终止密码子等。

(5) 密码的防错系统：密码子中一个碱基被置换，其结果或是仍然编码相同的 AA；或是以物理化学性质最接近的 AA 相取代。

第三节 蛋白质合成场所——核糖体(Ribosome)

一、核糖体的基本类型与组成(Basic Types and Component of Ribosome)

核糖体是蛋白质合成的场所，核糖体又称核蛋白体。

标记各种 a. a，注入大鼠体内，在不同时间取出肝脏，匀浆，离心分离各种亚细胞器，分析放射性蛋白的分布，证实蛋白质的合成是在核糖体上进行的。

核糖体是由核糖核酸（rRNA）和几十种蛋白质分子（核糖体蛋白）组成的一个巨大的复合体。

不同生物的核糖体中，尽管其 rRNA 和核糖体蛋白的一级结构有所不同，但核糖体的结构高度保守。

每个核糖体是由大小两个亚基组成，每个亚基都有自己不同的 rRNA 和蛋白质分子。

核糖体的大亚基上有两个重要的位点：P 位点是结合肽酰 tRNA 的肽酰基的位点，A 位点是结合氨酰 tRNA 的氨酰基的位点。

第四节 转运 RNA (tRNA)

一、tRNA 的空间构象 (tRNA Spatial Conformation)

tRNAs are joined to amino acids and it is these charged tRNAs that are the adaptor molecules in protein synthesis.

二、tRNA 上与蛋白质合成的功能位点 (Relational Functional Site of Protein Synthesis in tRNA)

可以说 tRNA 是一个万能接头：

- (1) 对氨酰-tRNA 合成酶的识别位点 (接头合成酶)
- (2) 3' 端-CCA 上的氨基酸运载位点 (接头氨基酸, 装载)
- (3) 对核糖体的识别位点 (将氨基酸运送到目的地)
- (4) 反密码子位点 (接头 mRNA, 验货并卸载)

每一种游离氨基酸在掺入肽链以前必须活化并与专一的与 tRNA 相连 (装载, LOAD), 然后由 tRNA 负责将它带到核糖体上的特定位点 (A 位点上) 并添加到新生肽链的 C 末端。

第五节 蛋白质的生物合成 (Protein Biosynthesis)

一、氨基酸的活化 (activating of Amino Acids)

——Synthesis of aminoacyl-tRNA (氨酰-tRNA 的合成)

二、起始密码子和起始 (initiating code and Initiating tRNA)

原核生物 mRNA 5' 端 SD 序列

在起始密码子 AUG 上游 9-13 个核苷酸处, 有一段可与核糖体 16S rRNA 配对结合的、富含嘌呤的 3-9 个核苷酸的共同序列, 一般为 AGGA, 此序列称 SD 序列。

它与核糖体小亚基内 16S rRNA 的 3' 端一段富含嘧啶的序列 GAUCACCUCCUUA-OH 互补, 使得结合于 30S 亚基上的起始 tRNA 能正确地定位于 mRNA 的起始密码子 AUG。

许多原核 mRNA 是多顺反子。转译时, 各个基因都有自己的 SD 序列、起始密码子、终止密码子, 分别控制其合成的起始与终止, 也就是说, 每个基因的翻译都是相对独立的。

真核生物 mRNA 5' 端具有 m7GpppN 帽子结构, 无 SD 序列, 与翻译的起始核糖体进入部位的识别有关。

三、蛋白质合成的过程 (Process of Protein Synthesis)

肽链方向从 N → C

三个阶段: 起始 initiation、延伸 elongation、终止 termination (课本为五个阶段)。

分别由不同的起始因子、延伸因子和终止因子 (释放因子) 参与。

1. initiation 翻译起始 (原核生物)

生成由起始氨酰-tRNA、mRNA 和核蛋白体组成的 70S 起始复合物, 原核生物的起始因子 (IF) 有三种。其过程在原核生物和真核大同小异。

(1) IF3 首先结合在 30S 亚基上，防止它过早地与 50S 亚基结合。

(2) mRNA 结合到 30S 亚基上。mRNA 通过其 SD 序列与 16S rRNA 的配对结合而使它处于核糖体上的恰当的位置，并使起始密码子 AUG 处于 P 位点。SD 序列与 16S rRNA 的配对还为识别起始密码子和 Met 密码子提供了一种机制。

(3) IF2、fMet-tRNA_{fmet} 结合到 30S 亚基上。IF2 是一个 GTP 结合蛋白，它先与 30S 亚基结合并促使起始氨酰 tRNA（N—甲酰甲硫氨酰 tRNA，fMet-tRNA_{fmet}）的密码子与 mRNA 上的 AUG 结合（P 位点）。

(4) 50S 大亚基结合到 30S 小亚基上，形成起始复合物。GTP 水解成 GDP 释放的能量引起 30S 亚基构象变化，50S 亚基结合到 30S 亚基上，同时 IF2 和 IF3 释放。

因此，原核生物肽链合成的起始复合体由 mRNA、70S 核糖体、fMet-tRNA_{fMet} 组成。

2. Elongation 肽链延伸

分三步进行：进位、转肽、移位

- (1) 新的氨酰tRNA进入核糖体的A位点；
- (2) 肽键形成（转肽）；
- (3) 核糖体移位。

这三步构成了肽链延伸的一个循环。

(1) 新氨酰tRNA入位

在进入A位点之前，新氨酰tRNA首先必须与延伸因子EF—TU—GTP结合。

延伸因子EF—TU是一个GTP结合蛋白，参与氨酰RNA的就位。

氨酰RNA入位后，EF—TU—GTP水解，EF—TU—GDP从核糖体上释放下来，在第二个延伸因子EF—Ts帮助下EF—Tu—GDP释放掉GDP并重新结合一分子GTP再生成EF—Tu—GTP。

(2) 肽键形成（转肽）

肽键是在肽酰转移酶催化下形成的。

现在认为肽酰转移酶活性存在于50S亚基23S rRNA上。驱动肽键形成的能量由P位点上的氨基酸与它的tRNA的高能肽酰酯键提供。

新肽键形成后P位点卸载的tRNA就离开核糖体。

(3) 核糖体移位。

移位需要另一个GTP结合蛋白EF—G（延伸因子G，又叫移位酶）的参与。

现在认为，GTP水解成GDP时释放出的能量促使核糖体构象发生变化，驱动肽酰tRNA从A位点移动到P位点。

移位后造成核糖体A位点空下，等待接纳下一个氨酰tRNA。

3. 终止termination

当终止密码子（UAA, UAG, UGA）进入A位点时肽链合成就进入终止期。

原核生物有三个释放因子（RF-1, RF-2, RF-3）参与终止。

RF1识别UAA和UAG，RF2识别UAA与UGA, RF3作用尚不清楚，可能促进RF1与RF2结合。

识别过程需要GTP，并改变了核糖体的构象，使肽酰转移酶的功能发生瞬时变化，转变

成酯酶功能，将连接肽链与P位点tRNA的肽酰酯键水解开，肽链从核糖体上释放，mRNA与tRNA解离，核糖体解体。

原核生物蛋白质合成中的能量计算（合成一个二肽）

合成二肽需8个高能键，其后每加一个aa 需4个高能键。

例：合成200个a.a残基的多肽： $8+198 \times 4=800$ or $4n=4 \times 200=800$

真核的翻译起始比原核更复杂，因为：

(1) 真核mRNA的二级结构更为多样和复杂。

(2) 核糖体需要扫描mRNA以寻找翻译起始位点

真核mRNA没有SD序列来帮助识别翻译起点，因此核糖体要扫描每一个mRNA。核糖体结合到mRNA的5'端的帽子结构并向3'端移动以寻找起始位点。这种扫描过程很复杂，知之甚少。

(3) 真核的翻译起始用到的起始因子（eIF）至少有9种，多数的功能仍需进步研究。

(4) 起始需要ATP。

四、肽链合成后的定向运输和加工修饰(Directional Transportation and Processing
蛋白质合成后的定向转运(targeting, translocation)的机制很复杂，尤其是真核细胞。

1. 肽链合成后的定向运输

信号肽 (Signal sequence)，也叫引导肽 (leader peptide)，指位于新生肽链N端的一段肽段，起引导新生肽段进入内质网的作用。其特点有：①通常含有15~30个氨基酸残基 ②中间多含疏水性残基 ③C端有信号肽酶的作用位点。

信号肽是Gunter Blobel1975年提出的，用以解释多肽向内质网的跨膜转运。

含信号肽的多肽进入内质网的过程：

当包含信号肽的多肽被合成一部分时，信号肽识别体 (SRP) 就识别信号肽并结合到核糖体上，翻译暂时停止，SRP与内质网膜上的受体 (停泊蛋白, docking protein) 结合，核糖体与内质网结合，SRP离开，延伸的肽链通过内质网上的肽移位装置 (translocon) 进入内质网，信号肽被切除。

新生肽的命运就取决于信号肽和其他的信号序列。

对于分泌蛋白来说，跨膜转运后要切除N端信号肽，多肽进入内质网腔，此后还要在高尔基体进行下一步的修饰加工。

2. 多肽链的折叠 Protein folding

蛋白质的一级结构和它的三维构象以及生物功能的直接关系一直是现代生物化学研究的重点。

细胞中蛋白质的折叠和转运是在分子伴侣的帮助下进行的。它存在于所有的生物中，从细菌到高等动植物已发现了几种类型的分子伴侣。分子伴侣在蛋白折叠方面的作用表现在两方面：

(1) 从多肽开始合成到折叠的这段时间里，分子伴侣可以保护多肽链不受其他蛋白的攻击，

一些线粒体和叶绿体蛋白在插入细胞器膜之前必须保持未折叠状态。

(2) 帮助蛋白质正确快速地折叠或组装成多亚基蛋白。

3. 翻译后加工

不论原核生物还是真核生物，翻译完成后，一些肽链能直接折叠成最终的活性形式，不需要加工修饰，然而经常的情况是新生肽链需要加工修饰（称为翻译后加工或修饰）

翻译后加工有两方面目的：

(1) 功能需要

(2) 定向转运的需要（这在真核生物中尤为复杂，合成的蛋白要定向运输到细胞质、质膜、各种细胞器如叶绿体、线粒体、溶酶体、过氧化物酶体等）。

翻译后加工方式：

(1) 切除加工 包括去掉N端的甲酰甲硫氨酸和信号肽序列。

(2) 糖基化 N-糖苷键型寡糖链修饰；

O-糖苷键型糖基化修饰（与Ser和Thr残基连接）。

溶酶体蛋白添加一个6-磷酸甘露糖残基后被运往溶酶体。

(3) 甲基化 甲基转移酶利用硫酰苷甲硫氨酸对特定蛋白进行甲基化修饰。

(4) 磷酸化 近年来，已经发现由蛋白激酶和蛋白磷酸化酶催化的蛋白质磷酸化/去磷酸化在原核生物中十分普遍。

(5) 插入辅因子

(6) 形成链间二硫键

(7) 还有些单肽要聚合成多亚基蛋白。

【思考题】

1、试述蛋白质生物合成的原料、部位及合成条件

2、mRNA、tRNA、rRNA 在蛋白质合成中有什么作用？

3、简述一下蛋白质生物合成的过程

4、常用于研究蛋白质生物合成的无细胞体系有几类？

5、延长因子 EF-Tu-Ts 的功能是什么？Tu 与 Ts 如何起作用？

6、何谓信号肽？信号肽酶切除信号肽的位点有何特点？

7、何谓第二套密码系统？有何实验依据？

8、According to this DNA single chain: 5'CTGTTAAAATTTGGGCCCCATGCG3'

(1) Write down the other chain of DNA replication.

(2) Write down the mRNA chain of RNA transcription

(3) Write down the polypeptide sequence of protein synthesis (translation)

9、What are the major difference between eukaryotic and prokaryotic translation?