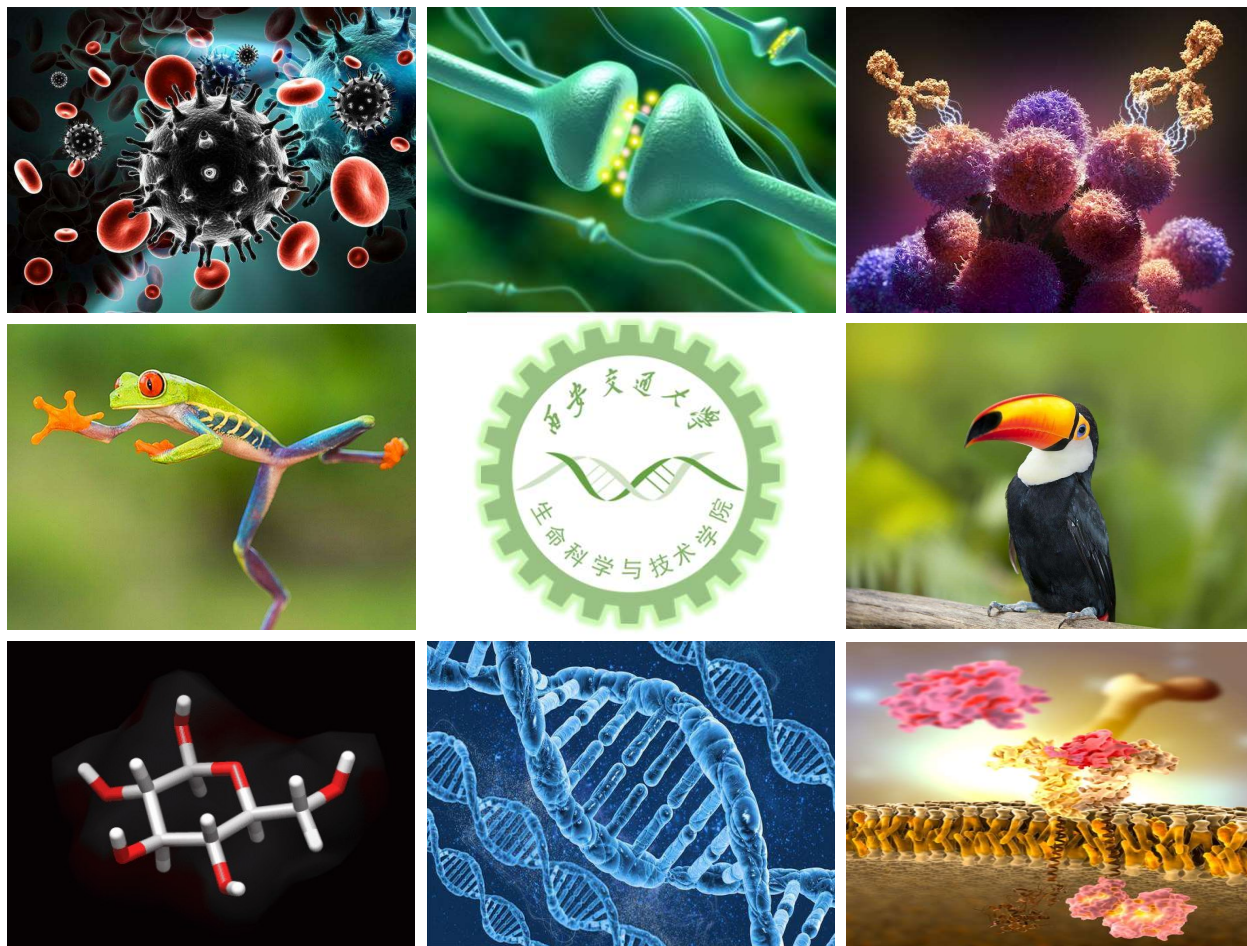




西安交通大学
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

生命科学基础 I

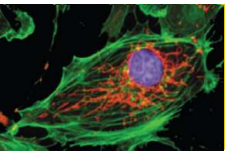


Chapter 5 细胞遗传信息的 表达及调控

冯怡



生命科学与技术学院
School of Life Science and Technology

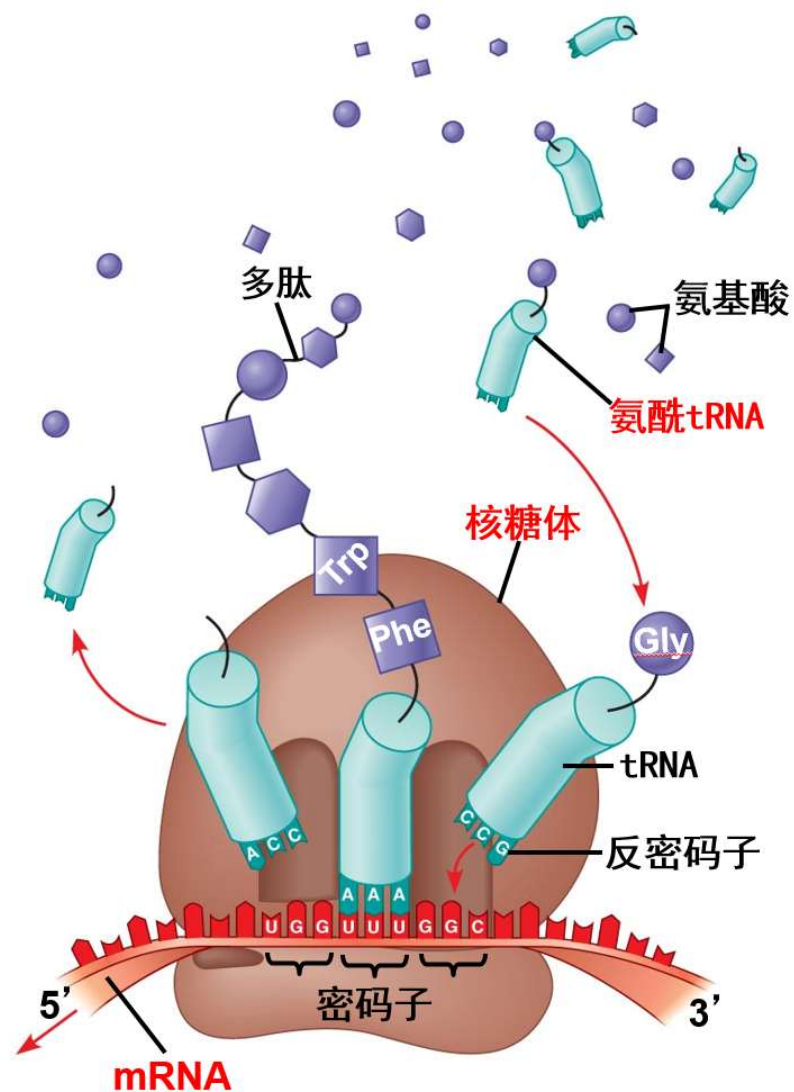


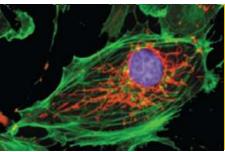
翻译：从RNA到蛋白质

❖ **翻译 (Translation)** 是RNA指导的多肽合成过程

❖ 翻译过程需要：

- mRNA 模板
- 核糖体 (Ribosomes)
- 氨酰tRNA (Aminoacyl-tRNA)
- 蛋白因子



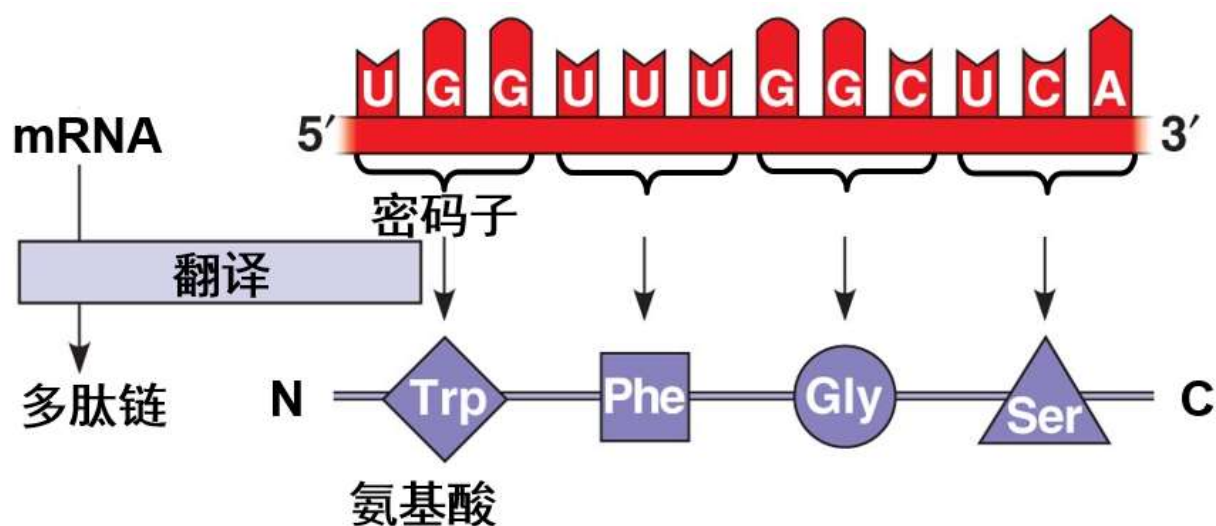


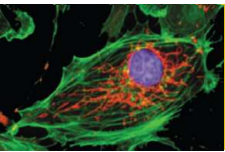
翻译需要回答两个问题

- ❖ 如何将氨基酸组装成蛋白质的指导说明编码成DNA?
- ❖ 组成蛋白质天然氨基酸有20种，但构成DNA的只有四种核苷酸，一个氨基酸对应几个核苷酸?

三联体密码

- ❖ 遗传信息从基因到蛋白质的流动基于三联体密码
- ❖ **三联体密码子 (Triplet codon)** : 决定蛋白质中氨基酸的核苷酸序列, 由3个连续的核苷酸组成, 即三个核苷酸代表一种氨基酸
- ❖ **mRNA**按照5' → 3' 的方向被阅读, **多肽链**的合成方向是从**氨基末端**→**羧基末端**





遗传密码的破译

- ❖ 20世纪60年代中期，破译全部64个遗传密码
- ❖ 人工合成mRNA和无细胞翻译系统
 - 1961, Marshall Nirenberg & Heinrich Matthaei

人工合成poly-U (5' UUUUUUUUUU ...3') mRNA

+

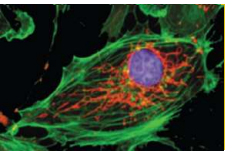
大肠杆菌来源的无细胞翻译系统



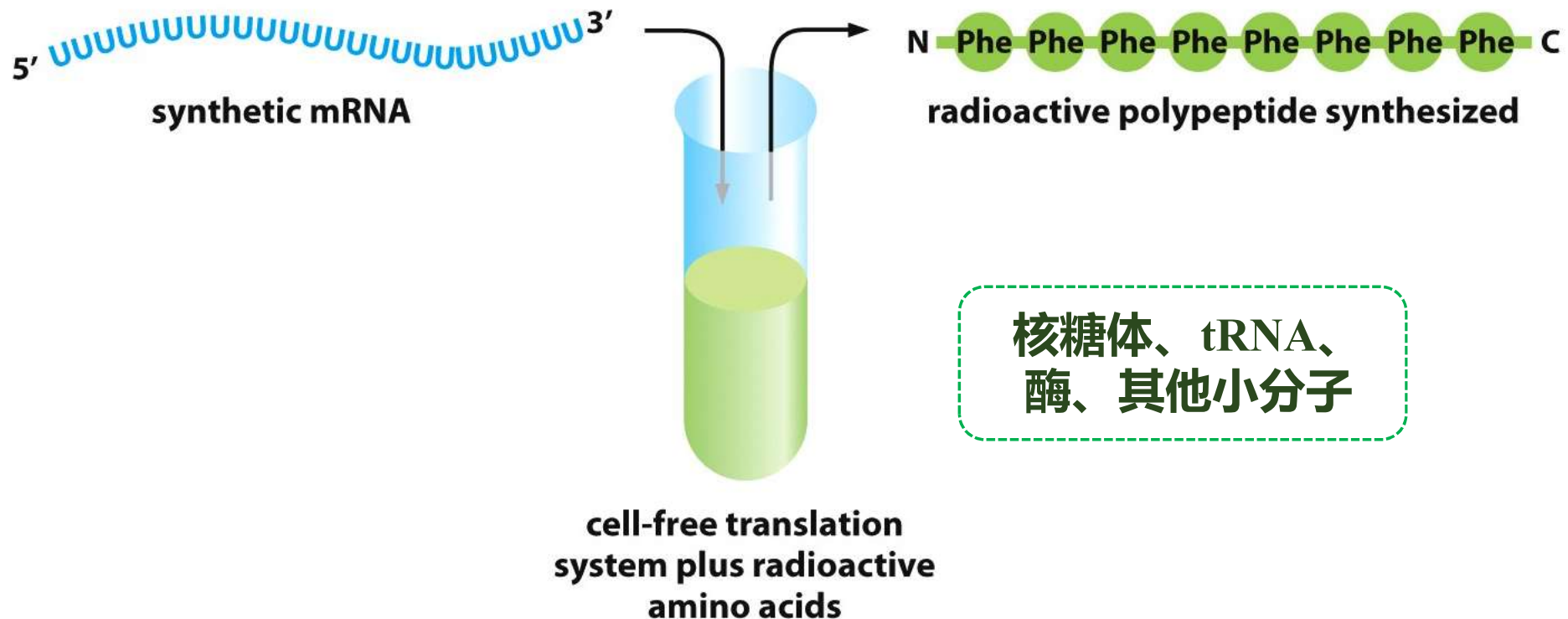
产物多肽链仅含苯丙氨酸Phe

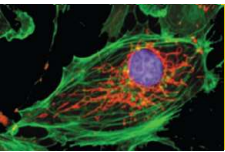


UUU编码苯丙氨酸



遗传学家使用合成mRNA限制编码可能性

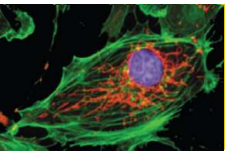




遗传学家使用合成mRNA限制编码可能性

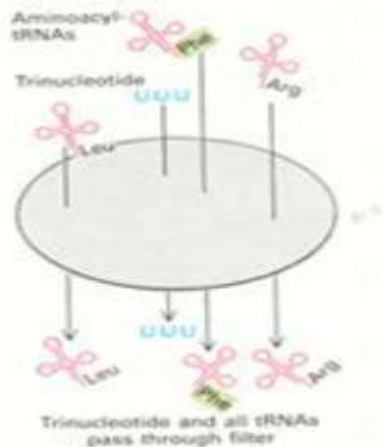
MESSAGE	PEPTIDES PRODUCED	CODON ASSIGNMENTS
poly UG	...Cys-Val-Cys-Val...	UGU } Cys, Val* GUG }
poly AG	...Arg-Glu-Arg-Glu...	AGA } Arg, Glu GAG }
poly UUC	...Phe-Phe-Phe... + ...Ser-Ser-Ser... + ...Leu-Leu-Leu...	UUC } Phe, Ser, Leu UCU } CUU }
poly UAUC	...Tyr-Leu-Ser-Ile...	UAU } Tyr, Leu, Ser, Ile CUA } UCU } AUC }

半胱氨酸?
缬氨酸?

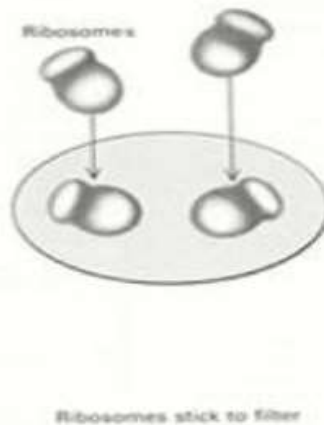


遗传学家使用合成mRNA限制编码可能性

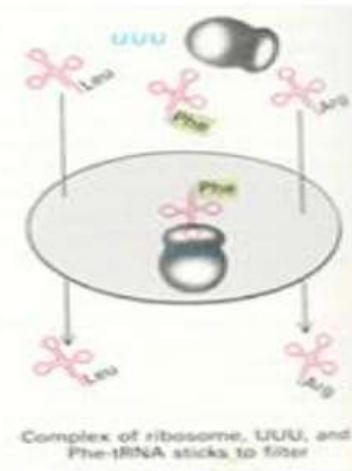
- 诱捕三核苷酸



三核苷酸以及所有的tRNA都通过了过滤器



核糖体通过过滤器内

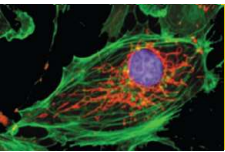


核糖体-UUU以及丝氨酰tRNA的复合体留在了过滤器内

一个核糖体
+
一个mRNA密码子
+
一个同位素标记的氨酰-tRNA



用一张滤纸收集复合体，鉴定其上的氨基酸

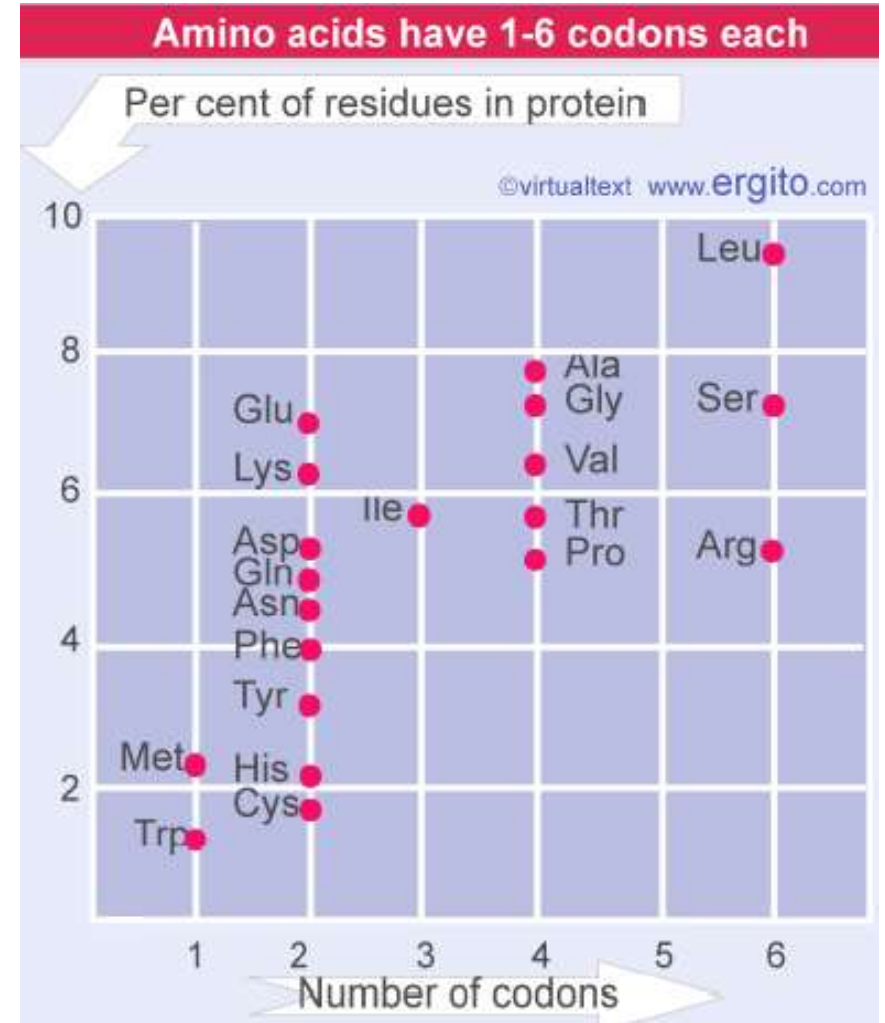


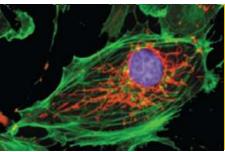
密码子

- ❖ 64个密码子中，有61个密码子编码20种氨基酸
- ❖ 3个密码子UAA, UAG和UGA不对应任何一个氨基酸，它们引起多肽链合成的终止，称为终止密码子 (Stop codon)
- ❖ 绝大多数生物的起始密码子 (Start codon) 都是AUG

密码表

		Second mRNA base					
		U	C	A	G		
First mRNA base (5' end of codon)	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U	C
		UUC	UCC	UAC	UGC		
		UUA	UCA	UAA Stop	UGA Stop		
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp		
	C	CUU	CCU	CAU	CGU	U	C
		CUC	CCC	CAC	CGC		
		CUA	CCA	CAA	CGA		
		CUG	CCG	CAG	CGG		
	A	AUU	ACU	AAU	AGU	U	C
		AUC	ACC	AAC	AGC		
		AUA	ACA	AAA	AGA		
		AUG Met or start	ACG	AAG	AGG		
	G	GUU	GCU	GAU	GGU	U	C
		GUC	GCC	GAC	GGC		
		GUA	GCA	GAA	GGA		
		GUG	GCG	GAG	GGG		
		Third mRNA base (3' end of codon)					





密码子的特征

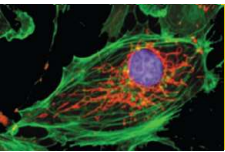
❖ 密码子具有**较为普遍的通用性和保守性**

- 各种低等和高等生物，包括病毒、细菌及真核生物，基本上公用同一套遗传密码
- 真核生物的**线粒体和叶绿体DNA不适用本套密码表**

❖ 密码子阅读时具有**不重叠性 (non-overlapping)** 和**无标点性**

5'.....A U G G C A G U A C A U U A A 3'

Met Ala Val His 终止密码子



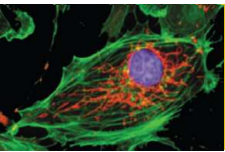
密码子的特征

❖ 遗传密码具有简并性 (Degeneracy)

- 由一种以上密码子编码同一个氨基酸的现象称为密码的简并性
- 编码同一氨基酸的密码子称为同义密码子
- 同义密码子通常只在第3位碱基上不同, 这样可减少有害突变

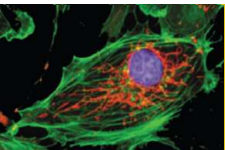
Third bases have least meaning			
UUU UUC	UCU UCC	UAU UAC	UGU UGC
UUA UUG	UCA UCG	UAA UAG	UGA UGG
CUU CUC CUA CUG	CCU CCC CCA CCG	CAU CAC CAA CAG	CGU CGC CGA CGG
AUU AUC AUA AUG	ACU ACC ACA ACG	AAU AAC AAA AAG	AGU AGC AGA AGG
GUU GUC GUA GUG	GCU GCC GCA GCG	GAU GAC GAA GAG	GGU GGC GGA GGG
Third base relationship		Third bases with same meaning	Codon Number
}	third base irrelevant	U, C, A, G	32
		U, C, A	3
}	purines differ from pyrimidines	A or G	14
	unique	U or C	10
		G only	2

©virtualtext www.ergito.com



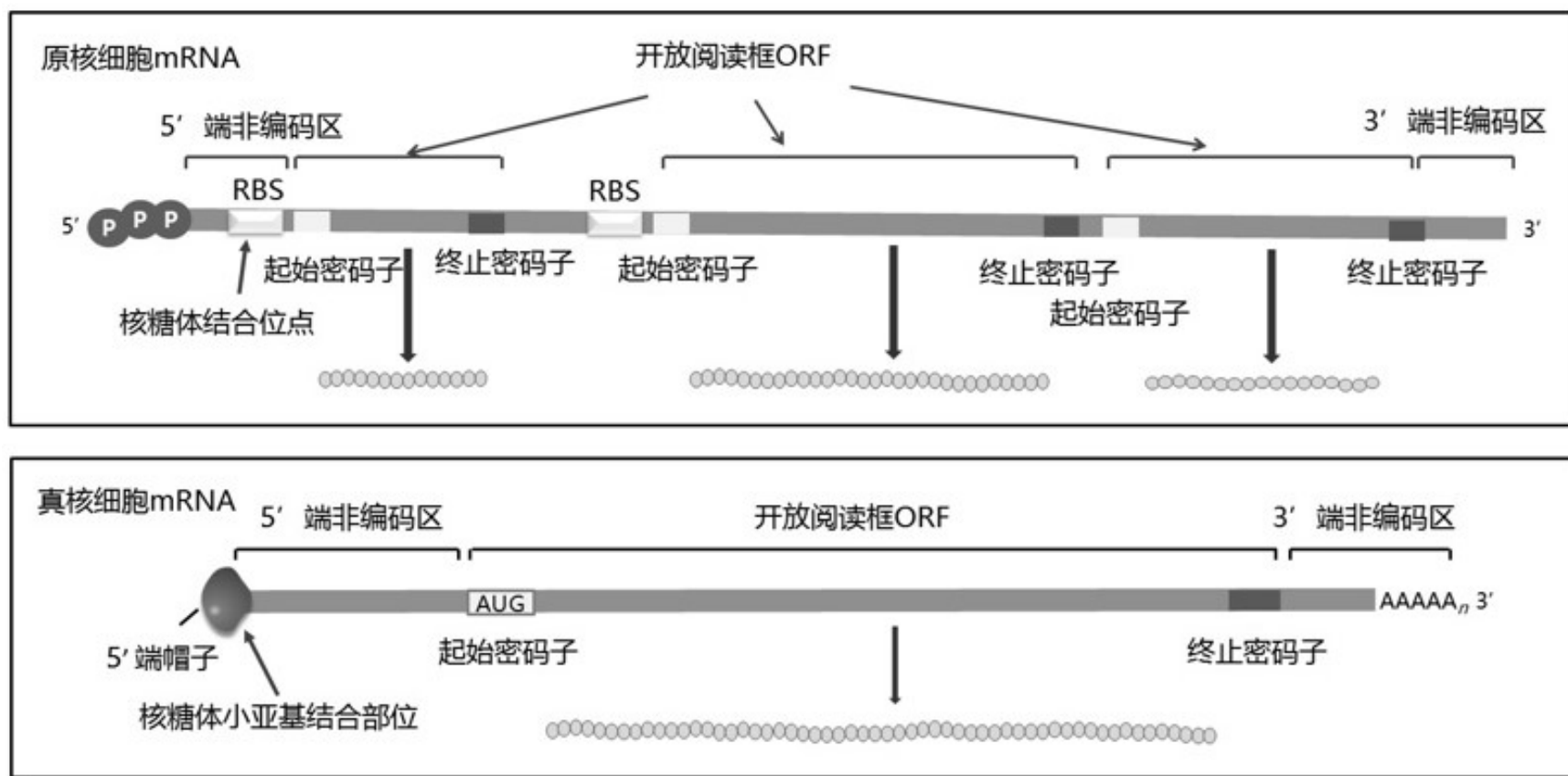
阅读框

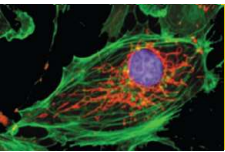
- ❖ 密码子必须在正确的**阅读框**（**Reading frame**）中被阅读，才能产生正确的多肽
- ❖ 位于起始密码子和终止密码子之间的核苷酸序列称为**开放阅读框**(**open reading frame, ORF**)，决定了多肽链的氨基酸序列



翻译的装置——mRNA

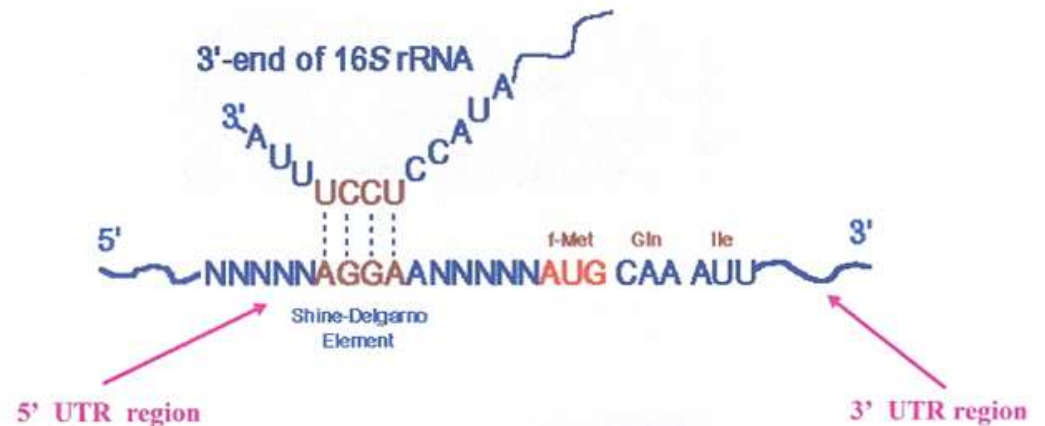
❖ 信使RNA (messenger RNA, mRNA) 是翻译的模板

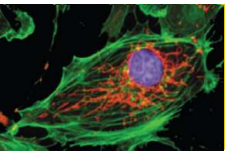




核糖体结合位点

- ❖ **核糖体结合位点 (Ribosome binding site, RBS) : 原核生物 mRNA 的起始密码子 AUG 上游约 8-13 核苷酸处, 存在一段序列接近或同下面的序列完全相同、由 4-9 个核苷酸组成的共有序列- **AGGAGG**-, 可被核糖体小亚基的 16S rRNA 通过碱基互补精确识别, 从而使得核糖体小亚基和 mRNA 结合在一起, 又称为 **SD 序列 (Shine-Dalgarno sequence)****

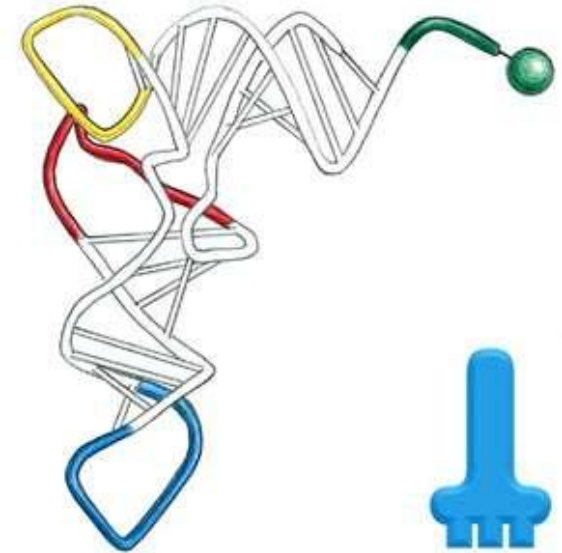
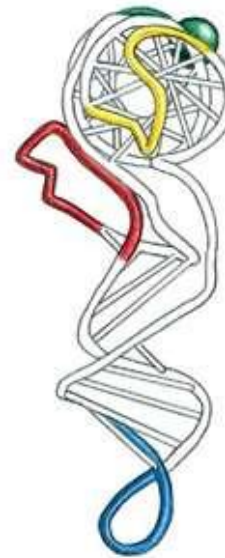
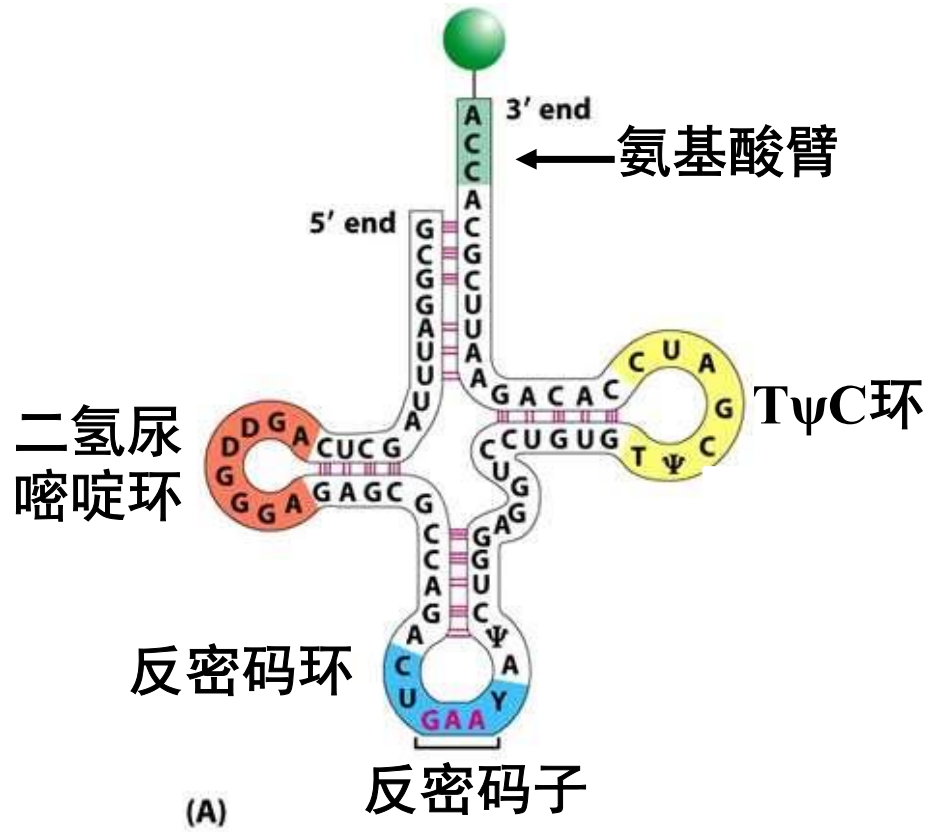




翻译的装置——tRNA

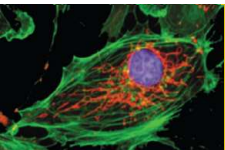
- ❖ 细胞借助**转运RNA**（transfer RNA, tRNA）将mRNA信息翻译成蛋白质
- ❖ 细胞中的tRNA分子并不相同：
 - 每个tRNA末端带有特定的氨基酸
 - 每个tRNA都有特定的**反密码子**（Anticodon）：tRNA通过反密码子和mRNA的密码子形成碱基互补基配对
- ❖ tRNA分子通常长度约80个核苷酸
- ❖ tRNA的二级结构是一个**三叶草**（Cloverleaf）
- ❖ tRNA的三级结构像一个倒写的字母L

tRNA的结构







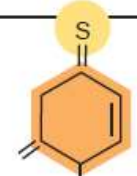

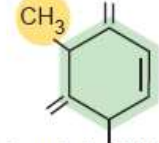
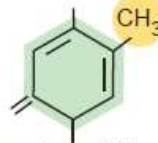



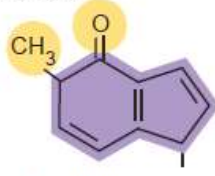

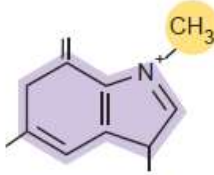
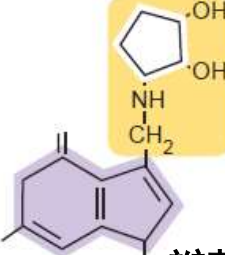
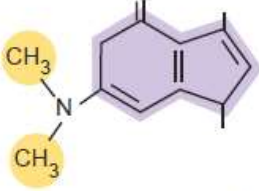
(D) 5' GCGGAUUUAGCUC **AGDDGGG** AGAGCGCCAGAC **UGA** AYA ψ CUGGAGGUCCUGUGT ψ **CGA**UCCACAGAAUUCGCACCA 3'

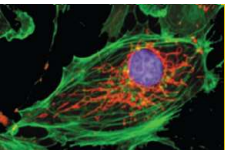
反密码子



tRNA的稀有碱基

(a) Some tRNAs contain modified bases.

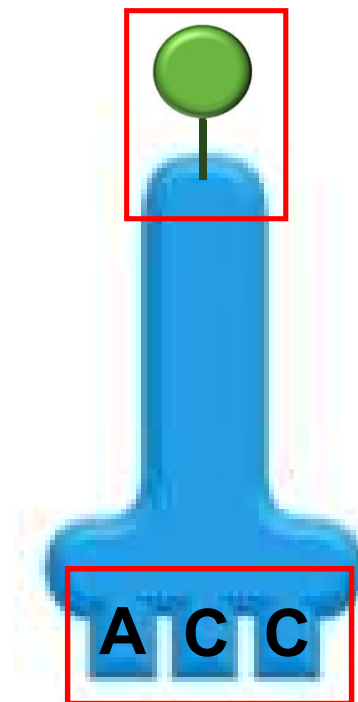
Normal bases	Modified bases			
				
Uridine	Ribothymidine (T)	Dihydrouridine (UH ₂)	Pseudouridine(Ψ)	4-thiouridine (S ⁴ U) 硫代尿苷
				
Cytidine	3-methylcytidine	5-methylcytidine		
				
Adenosine	Inosine (I) 次黄嘌呤	N ⁶ methyladenosine (m ⁶ A)	1-methylinosine (mI)(Y)	
				
Guanosine	7-methylguanosine (mG)	Queuosine (Q) 獭苷	Dimethylguanosine (m ₂ G)	

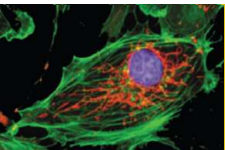


翻译的准确性和两个步骤有关

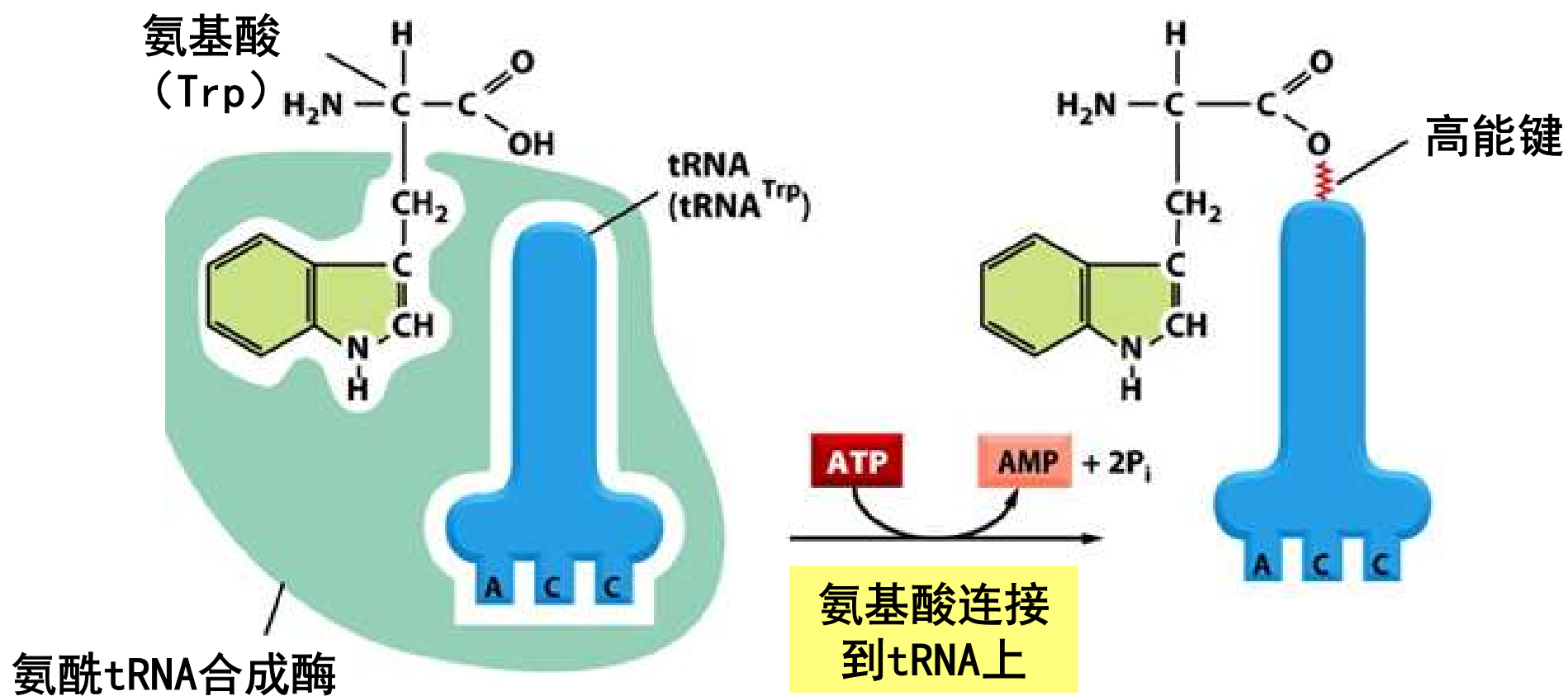
❖ 准确的翻译需要两个步骤：

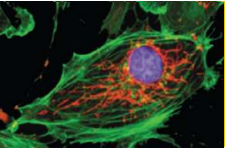
- 首先：通过氨酰tRNA合成酶完成tRNA与氨基酸之间的正确匹配
- 第二：tRNA反密码子与mRNA密码子之间的正确配对





氨酰tRNA的形成

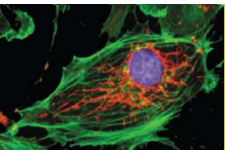




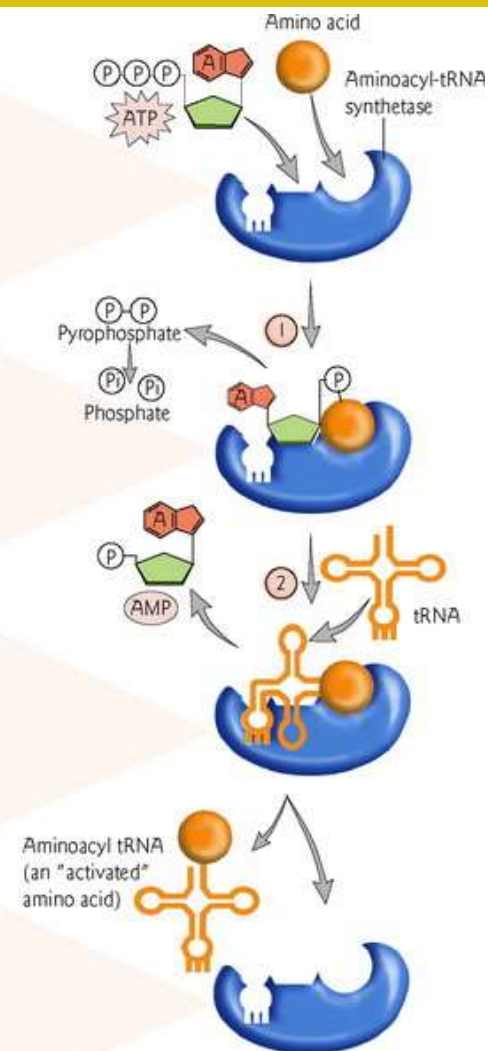
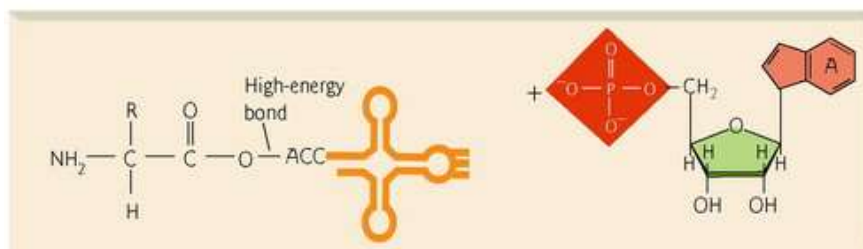
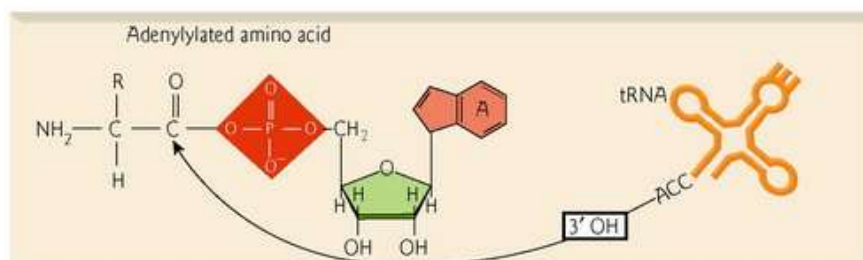
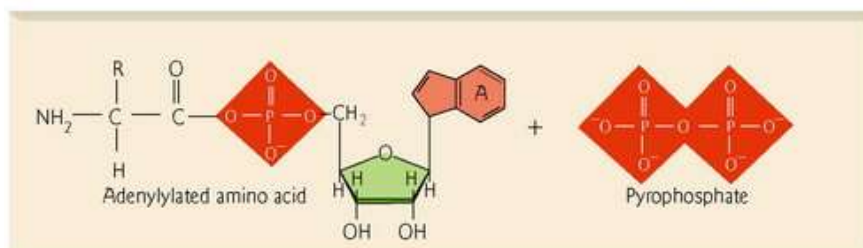
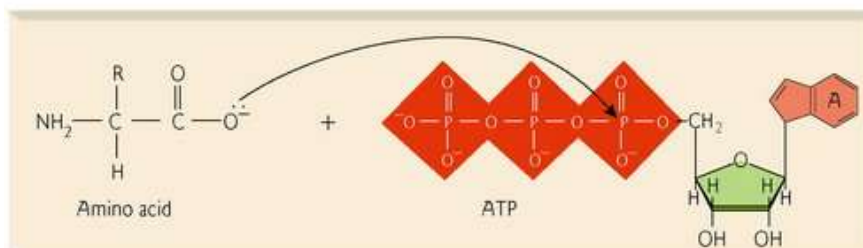
氨酰-tRNA 合成酶

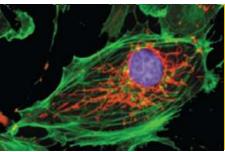
❖ **氨酰-tRNA 合成酶 (Aminoacyl tRNA synthetase) 将氨基酸连接到tRNA的3'末端**

- 每种合成酶识别一种氨基酸和所有能携带它的tRNA，通常每种氨基酸都可被多于一种的tRNA识别
- 氨基酸与ATP作用产生氨酰-腺苷酸，释放出焦磷酸，反应所需的能量由ATP中高能磷酸键水解提供
- 活化的氨基酸转移到tRNA上并释放AMP



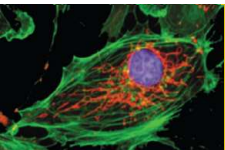
氨酰tRNA的形成



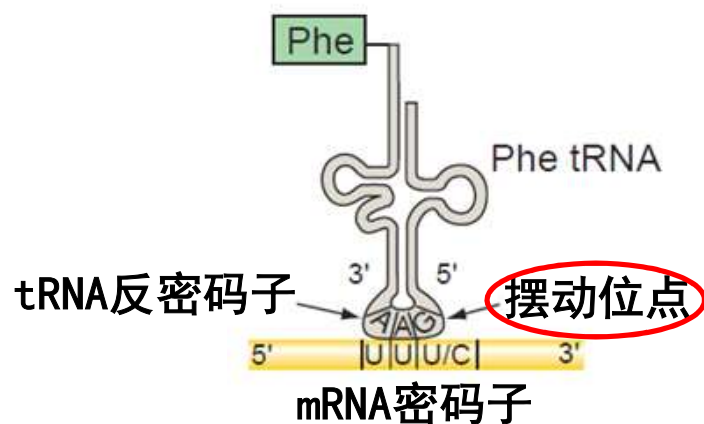


摆动性

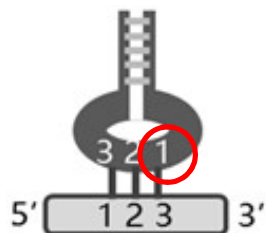
- ❖ 密码子第三碱基的灵活配对称为**摆动性 (Wobble)** , 它允许某些tRNA与一个以上的密码子结合
 - 摆动性: 第三位碱基不同的同义密码子可以被同一种tRNA识别



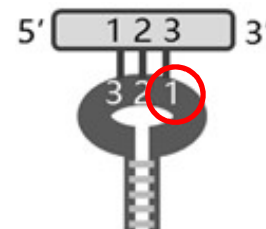
摆动性



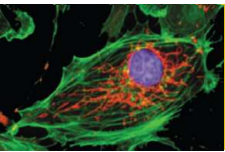
摆动原则		
反密码子 5'端	可以配对	密码子 3'端
G		U or C
C		G
A		U
U		A or G
I		U, C, or A



C	A	G	U	I	位于tRNA的1号位的碱基
G	U	C	A	C	这些tRNA可以识别相应位于mRNA上密码子3号位的碱基
		U	G	A	
				U	

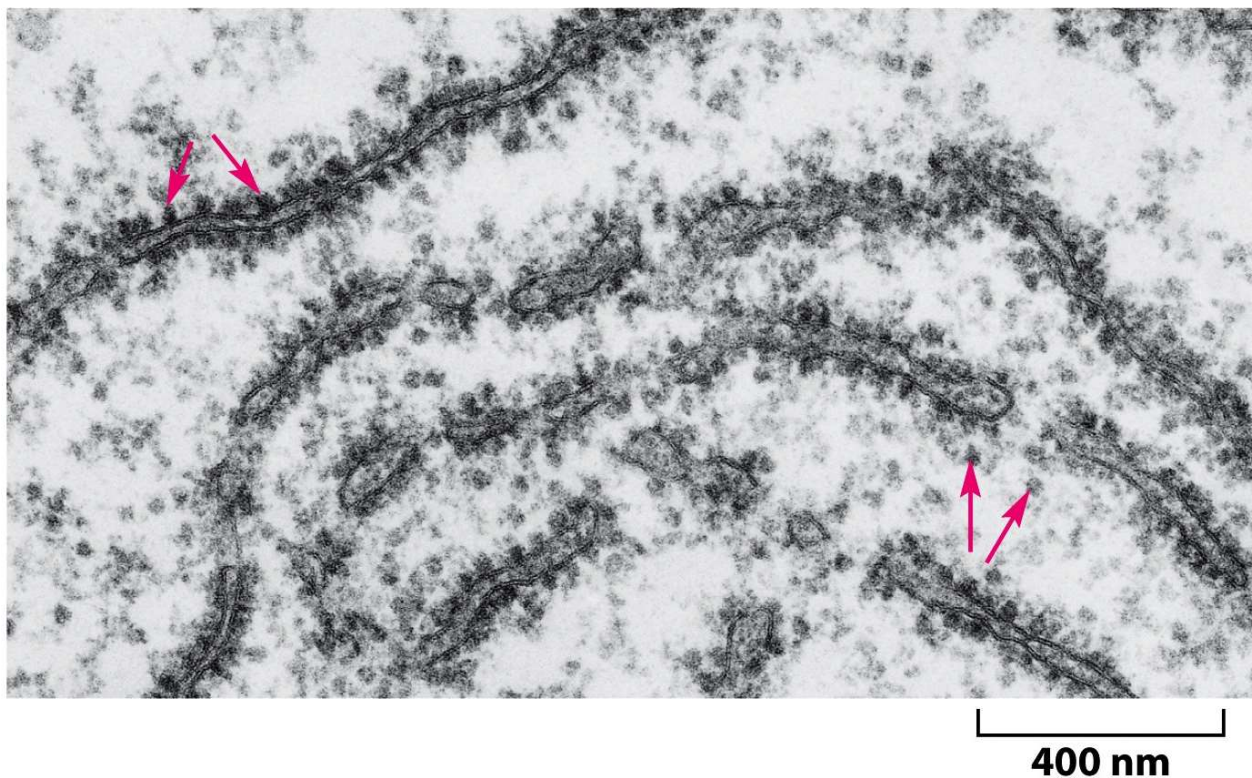


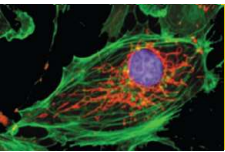
C	A	G	U	位于mRNA上密码子3号位的碱基
G	U	C	A	那么这些密码子可以被相应tRNA识别时其反密码子1号位的碱基
I	I	U	G	
			I	



翻译的装置——核糖体














- ❖ **核糖体 (Ribosome)** 是蛋白质合成的场所
- ❖ 核糖体分为游离核糖体和结合核糖体

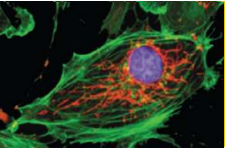




核糖体包含两个亚基

- ❖ 核糖体分为一大一小两个亚基
- ❖ 核糖体由核糖体RNA (Ribosomal RNA, rRNA) 和蛋白质构成

Complete Ribosomes	Subunits	Nucleotides	Proteins
Prokaryotic  70S	 50S	 23S rRNA 3000 nucleotides  5S rRNA 120 nucleotides	31
	 30S	 16S rRNA 1700 nucleotides	21
Eukaryotic  80S	 60S	28S rRNA 5000 nucleotides  5.8S rRNA 160 nucleotides  5S rRNA 120 nucleotides 	~ 45
	 40S	 18S rRNA 2000 nucleotides	~ 33

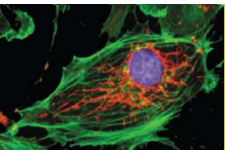


核糖体结合tRNA的三个位点

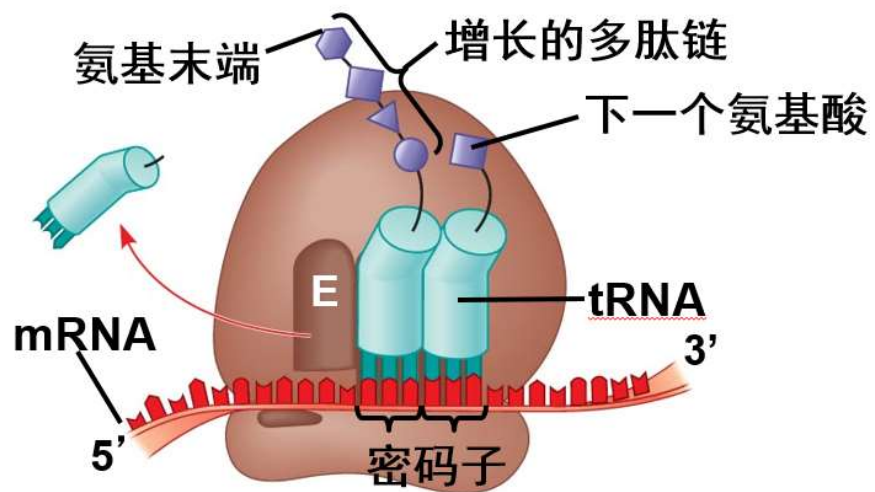
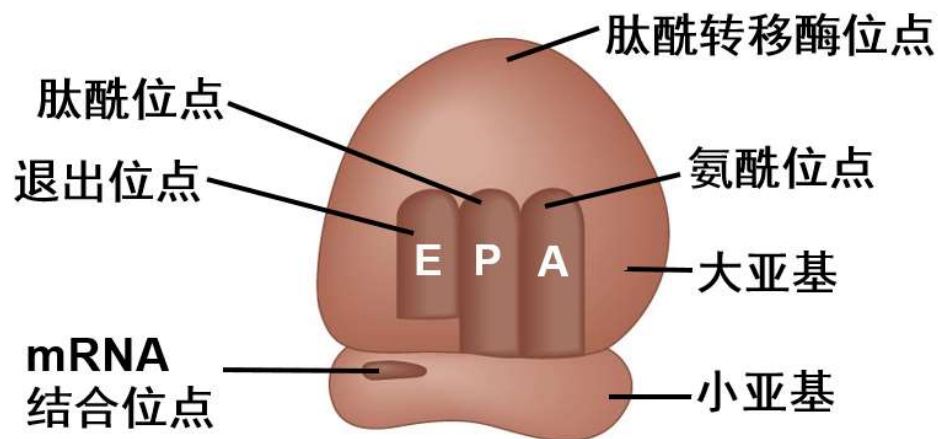
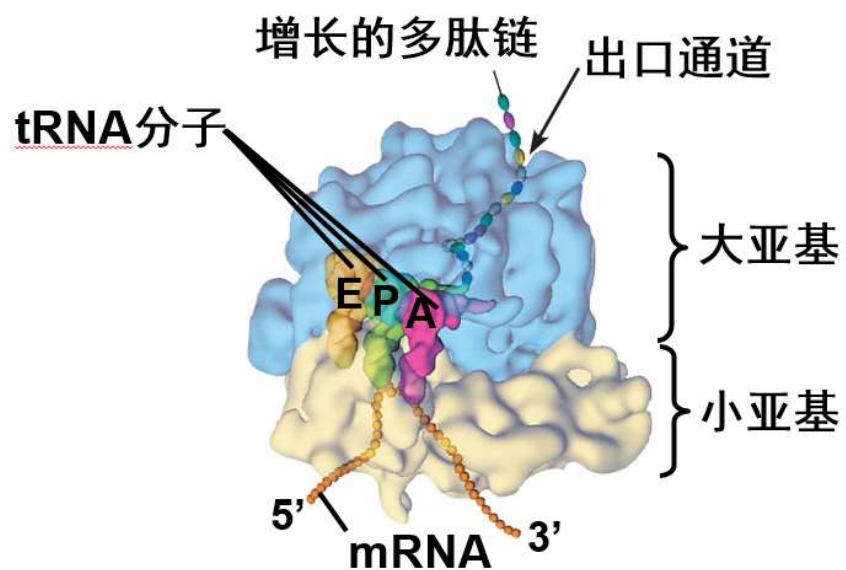
❖ 核糖体具有tRNA的三个结合位点：

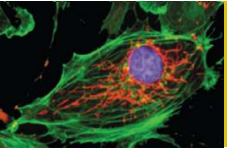
- **肽酰位点（Peptidyl site, P site）**：肽酰tRNA在核糖体中占据的位点，即携带不断增长多肽链的tRNA结合位点
- **氨酰位点（Aminoacyl site, A site）**：氨酰tRNA进入核糖体与密码子相互配对的位点
- **退出位点（Exit site, E site）**：肽酰tRNA将肽链转移给氨酰tRNA后空载的tRNA离开核糖体的位点

❖ 三个位点都穿过大小两个亚基



核糖体的结构



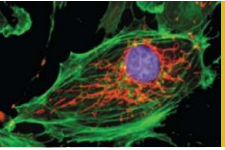


翻译过程

❖ 翻译过程分为：

- 起始 (Initiation)
- 延伸 (Elongation)
- 终止 (Termination)

❖ 这三个阶段都需要蛋白因子辅助



原核生物翻译过程所需要的蛋白质因子

➤ 起始因子 (initiation factor, IF)

- IF-1, IF-2, IF-3

➤ 延长因子 (elongation factor, EF)

- EF-Tu, EF-Ts, EF-G

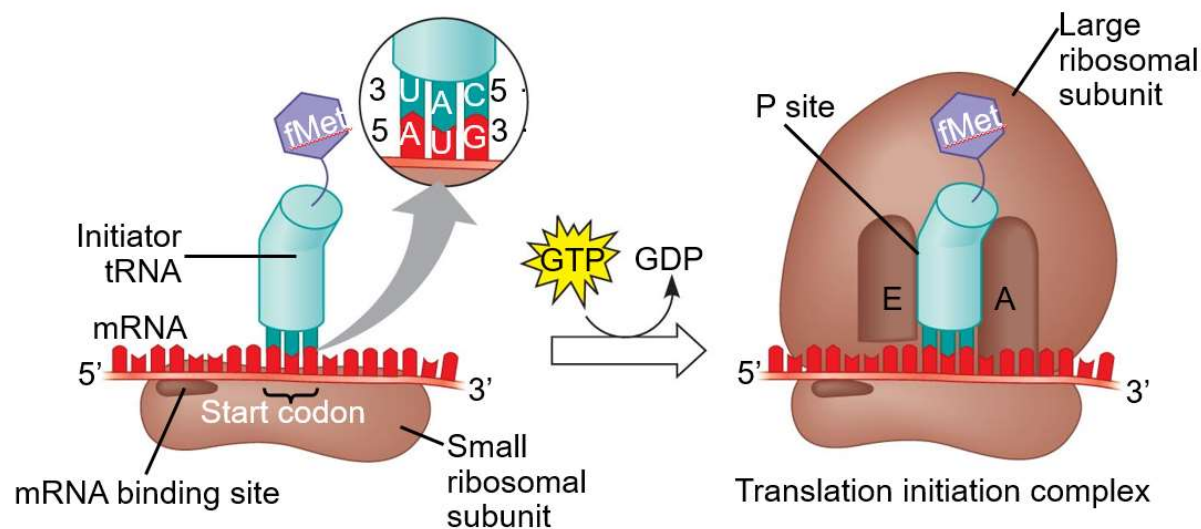
➤ 释放因子 (release factor, RF)

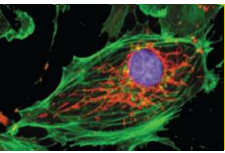
- RF1, RF2, RF3

翻译的起始

❖ 起始：指mRNA和起始氨基酰-tRNA分别与核糖体结合而形成翻译起始复合物的过程

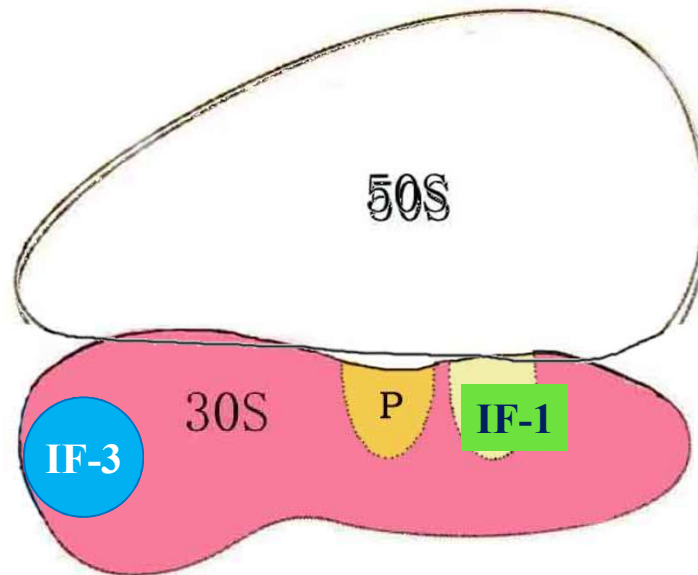
- 核糖体大小亚基分离
- mRNA在小亚基定位结合
- 起始氨基酰-tRNA的结合
- 核糖体大亚基结合

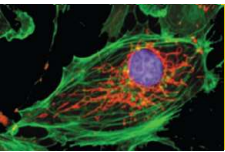




翻译的起始

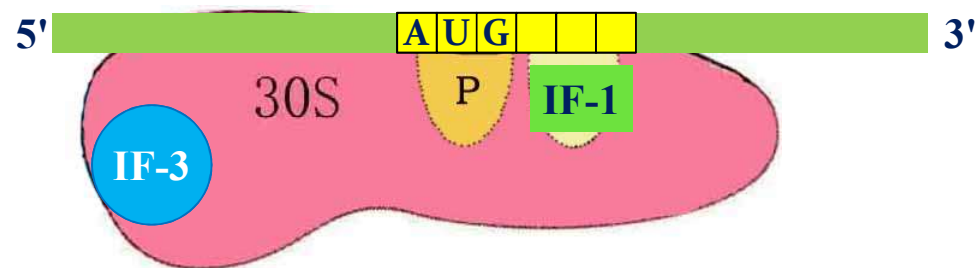
❖ 核糖体大小亚基分离





翻译的起始

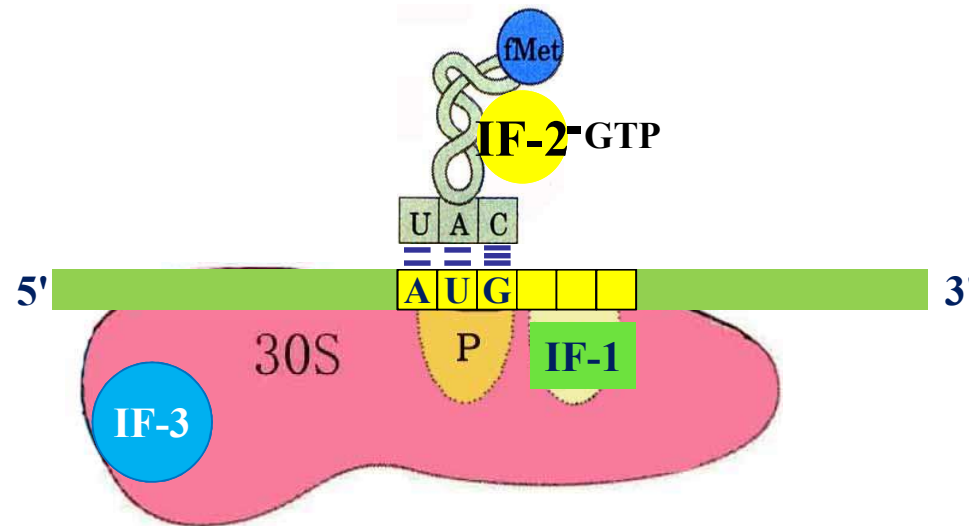
❖ mRNA在小亚基定位结合

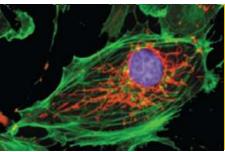


翻译的起始

❖ 起始氨酰tRNA (fMet-tRNA^{fMet}) 结合到小亚基上

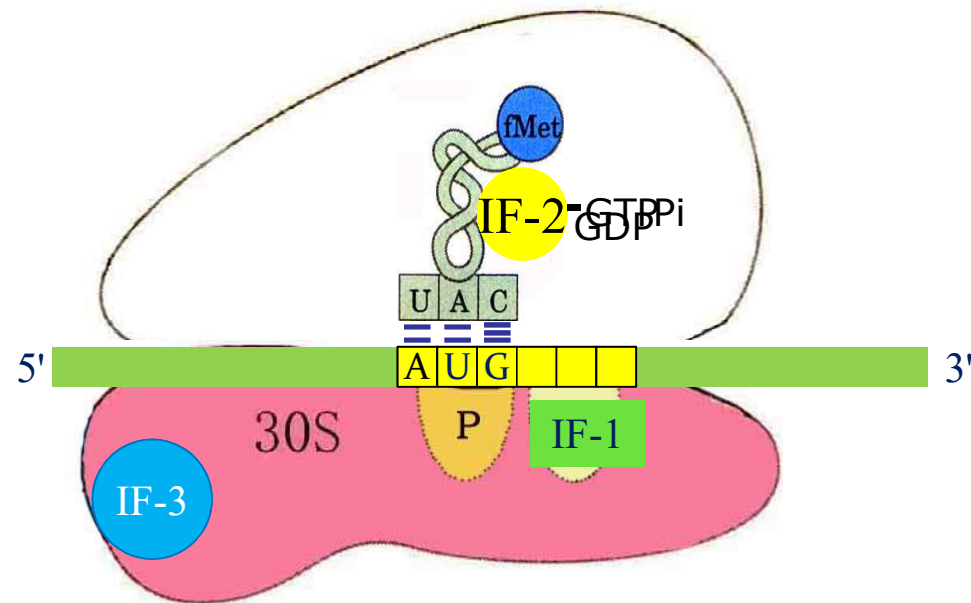
fMet: formyl-methionine, 甲酰甲硫氨酸

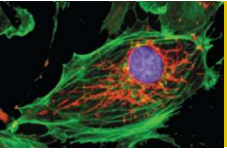




翻译的起始

❖核糖体大亚基结合，起始复合物形成





起始因子

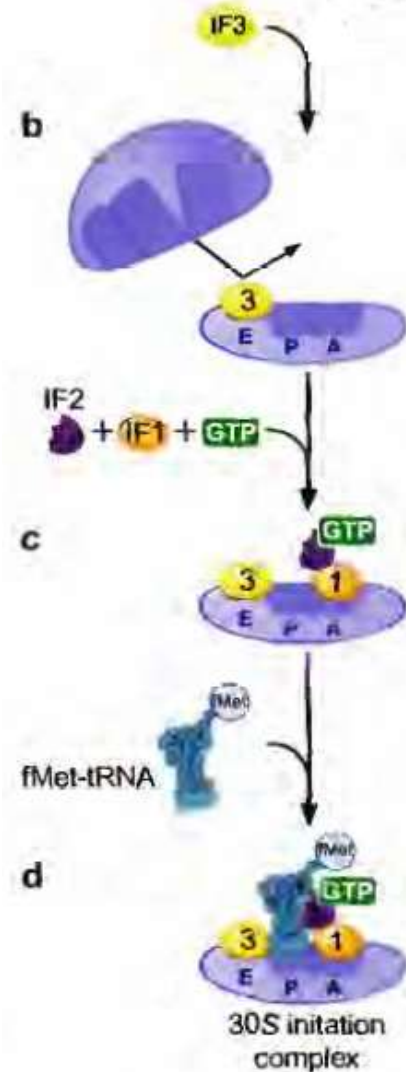
- ❖ **起始因子 (Initiation factors)** IF-1与30S亚基A位点结合，阻止其他tRNA与小亚基结合，有稳定起始复合物的作用
- ❖ 起始因子IF-2与专一的起始tRNA结合并控制其进入核糖体
- ❖ 起始因子IF-3阻止大亚基与小亚基结合，控制着30S亚基的游离状态

原核细胞中翻译起始

IF3结合于小亚基E位点并阻止其与大亚基结合

IF1结合于小亚基A位点并阻止其与负载tRNA结合

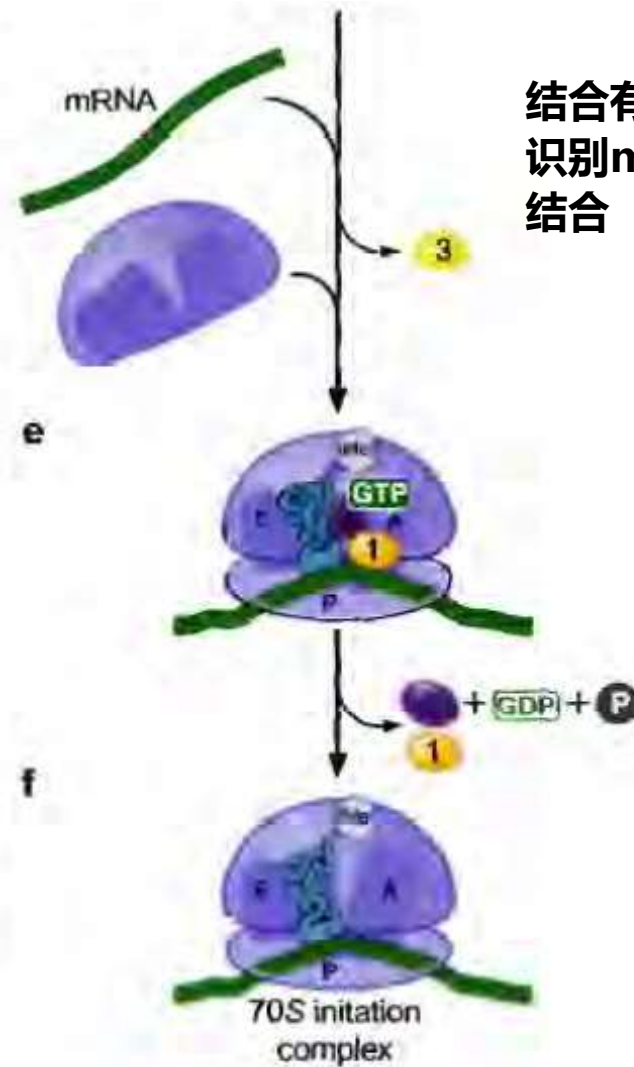
结合有GTP的IF2结合于IF1并催化fMet-tRNA与P位点结合

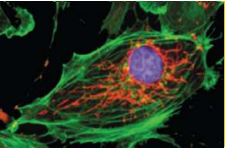


结合有起始因子的小亚基识别mRNA的RBS与之结合

fMet-tRNA与mRNA起始密码子配对会导致小亚基构象改变释放IF3

大亚基结合并激活IF2的GTP酶活性，引起GTP水解，导致IF2-GDP和IF1从核糖体释放





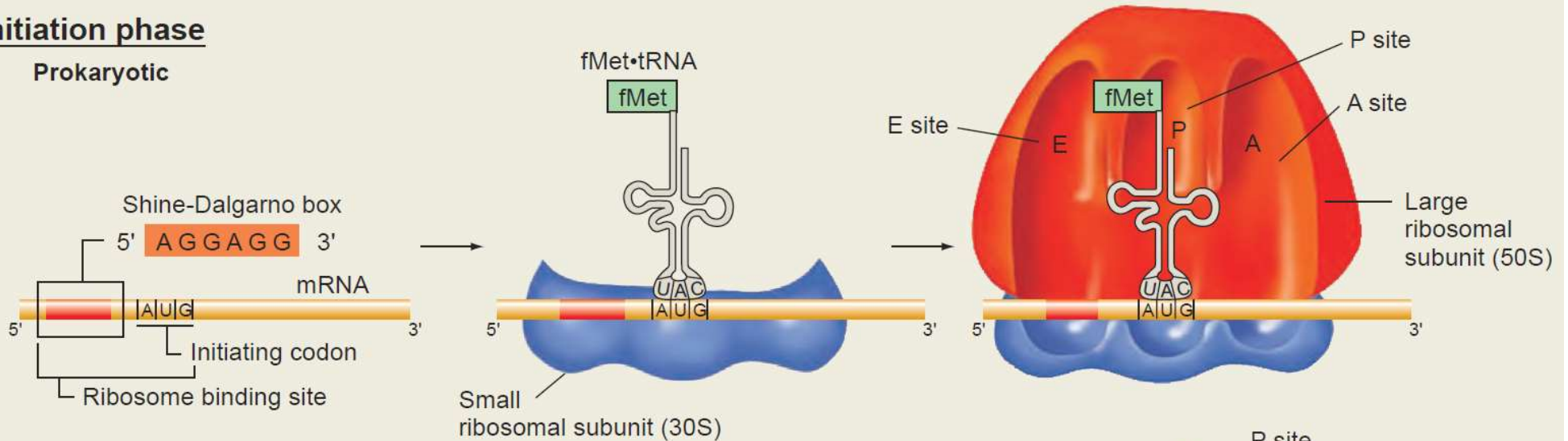
原核生物和真核生物采用不同的翻译起始方式

- ❖ **原核生物：核糖体小亚基与mRNA的RBS结合**
- ❖ **真核生物：mRNA没有RBS序列，核糖体小亚基与mRNA 5'端结合，沿着mRNA移动，直到遇到起始密码子AUG**

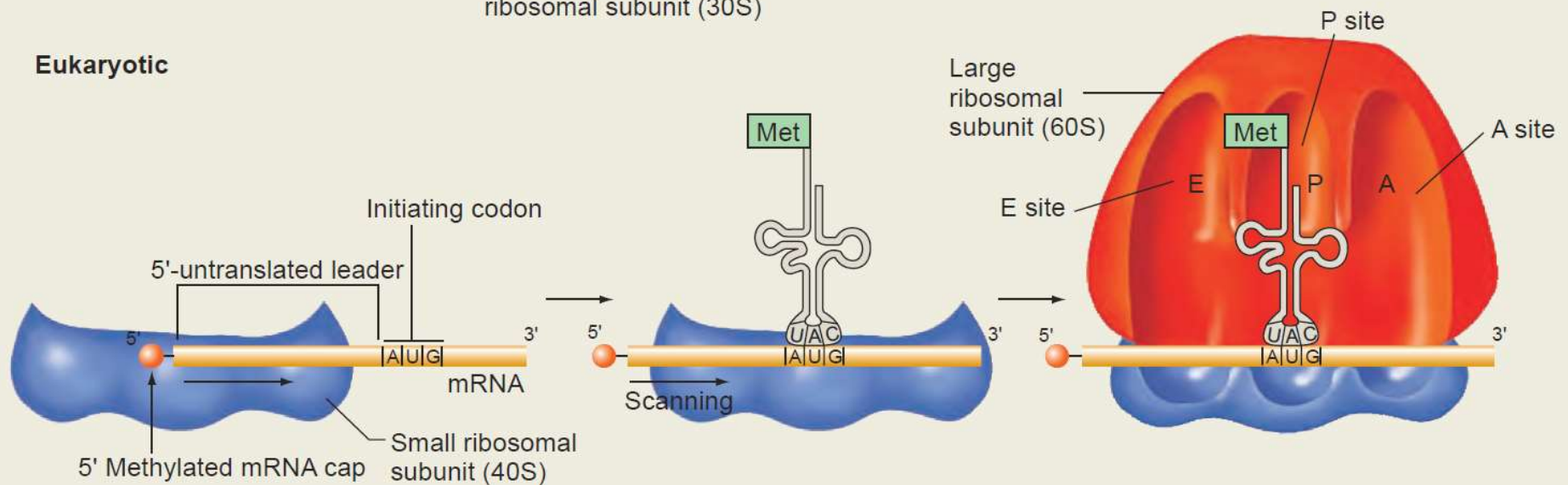
原核生物和真核生物采用不同的翻译起始方式

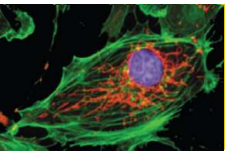
Initiation phase

Prokaryotic

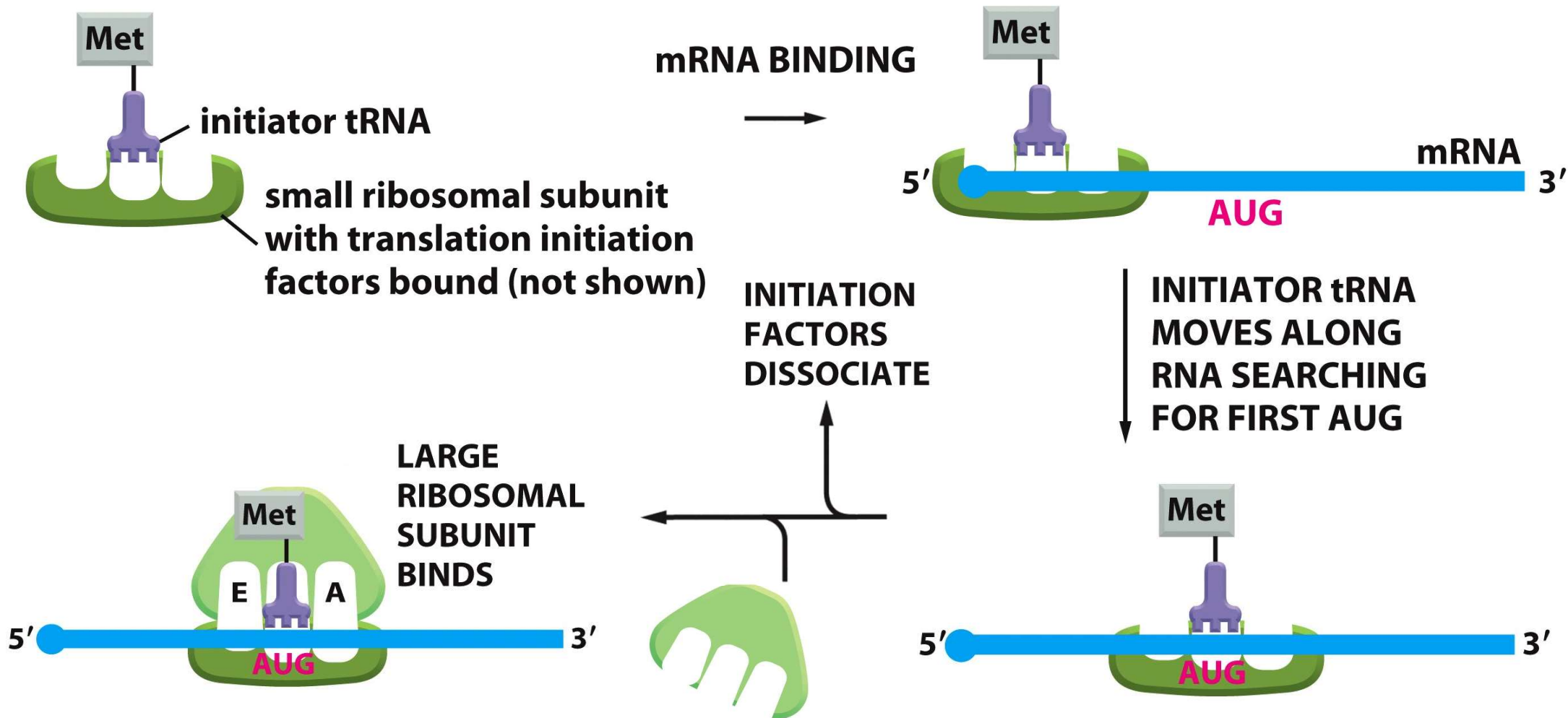


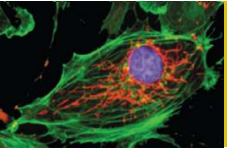
Eukaryotic





真核生物翻译的起始



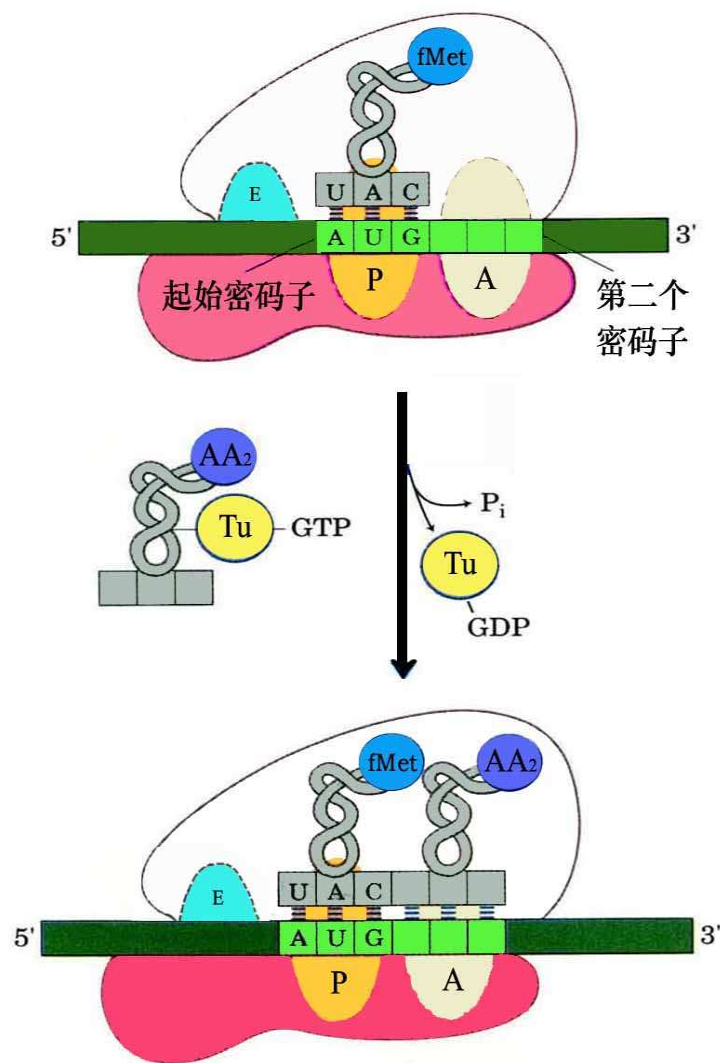


翻译的延伸

- ❖ **延伸：指在mRNA模板的指导下，氨基酸依次进入核糖体并聚合成多肽链的过程**
 - **进位 (Positioning)**
 - **成肽 (Peptide bond formation)**
 - **转位 (Translocation)**
- ❖ **每轮循环使多肽链增加一个氨基酸**

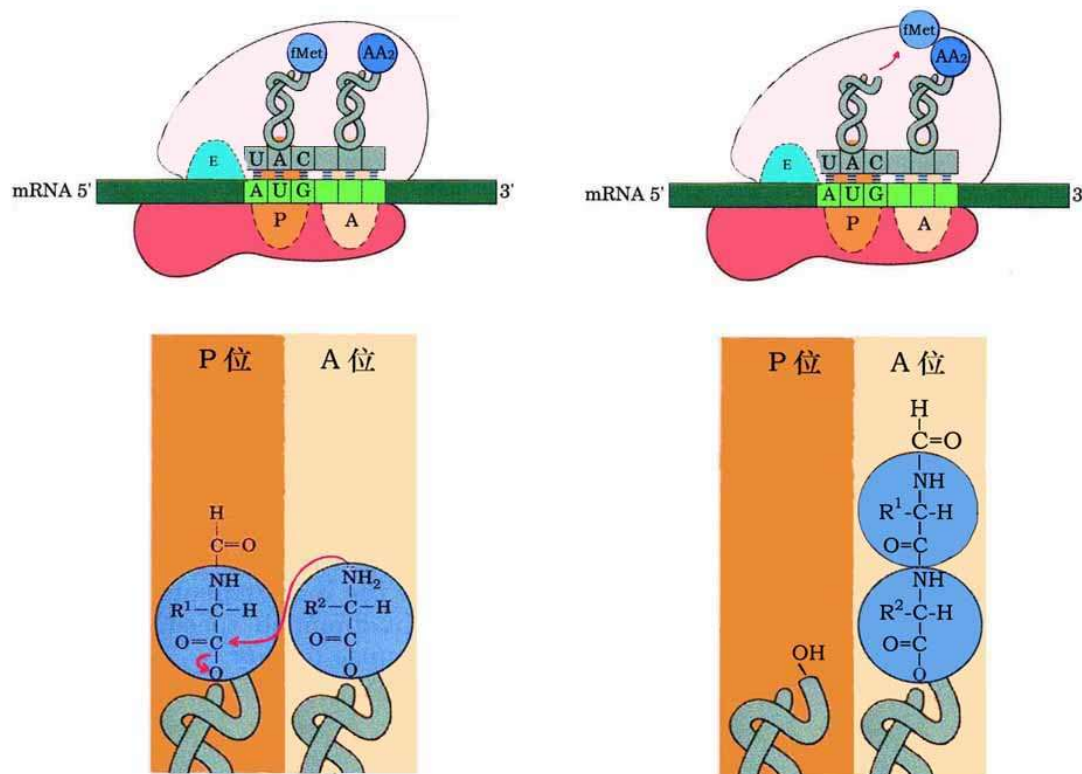
翻译的延伸

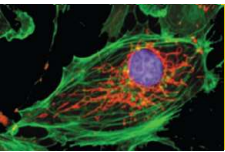
❖ **进位：**是指一个氨酰-tRNA按照mRNA模板的指令进入并结合到核糖体A位点的过程



翻译的延伸

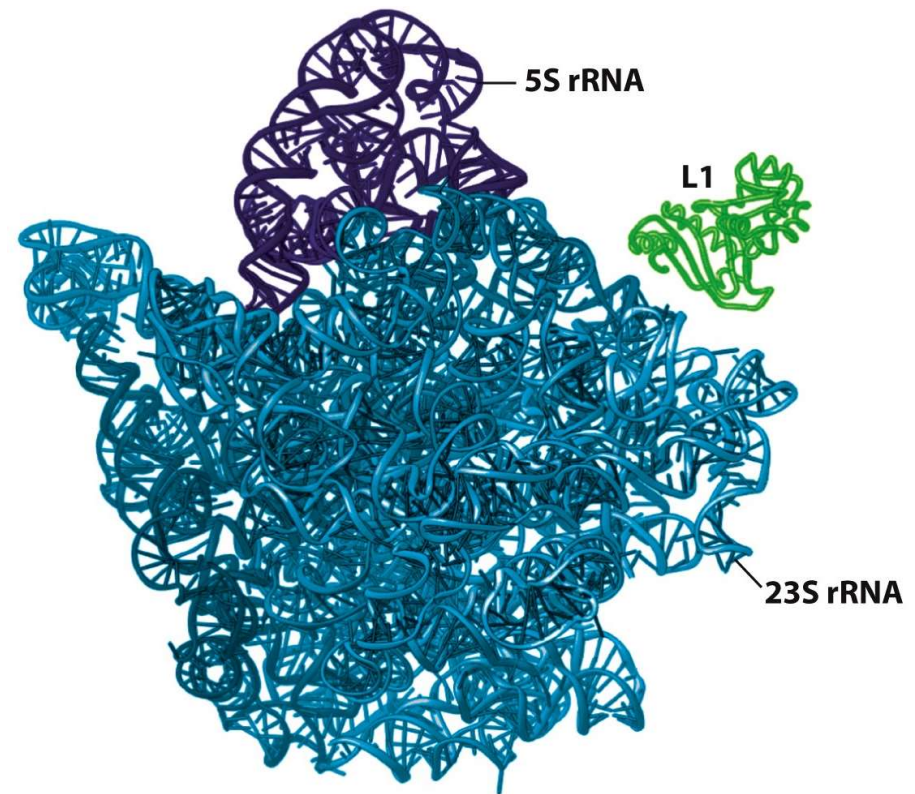
❖ 成肽：在肽酰转移酶（23S rRNA）的催化下，P位点上肽酰-tRNA上的肽链与A位点上的氨酰-tRNA中的氨基酸形成肽键

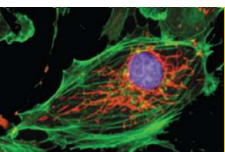




23S rRNA催化肽键的形成

- ❖ 大亚基的**23S rRNA**催化肽键的形成
- ❖ 该rRNA的催化位点具有**肽酰转移酶 (Peptidyl transferase)** 活性，其结构在许多方面与某些蛋白酶中的催化位点相似
- ❖ 具有催化活性的RNA分子称为**核酶 (Ribozyme)**

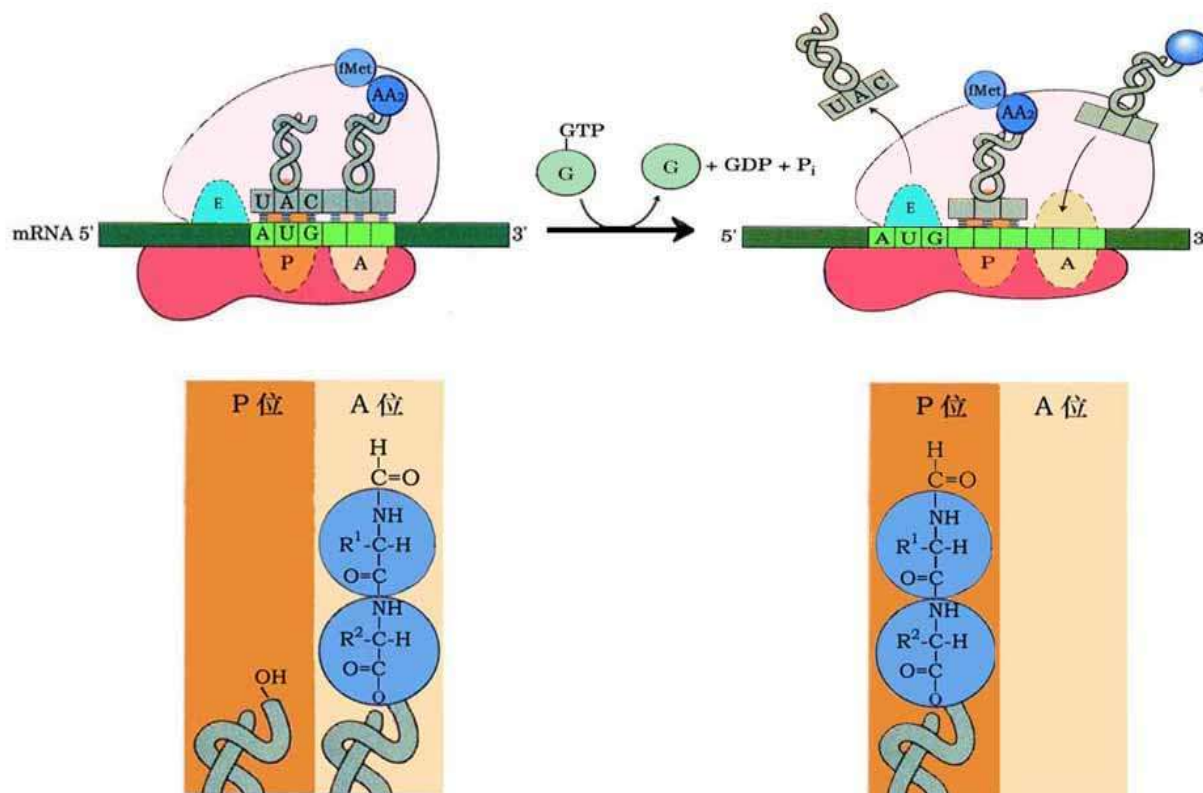


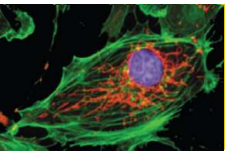


翻译的延伸

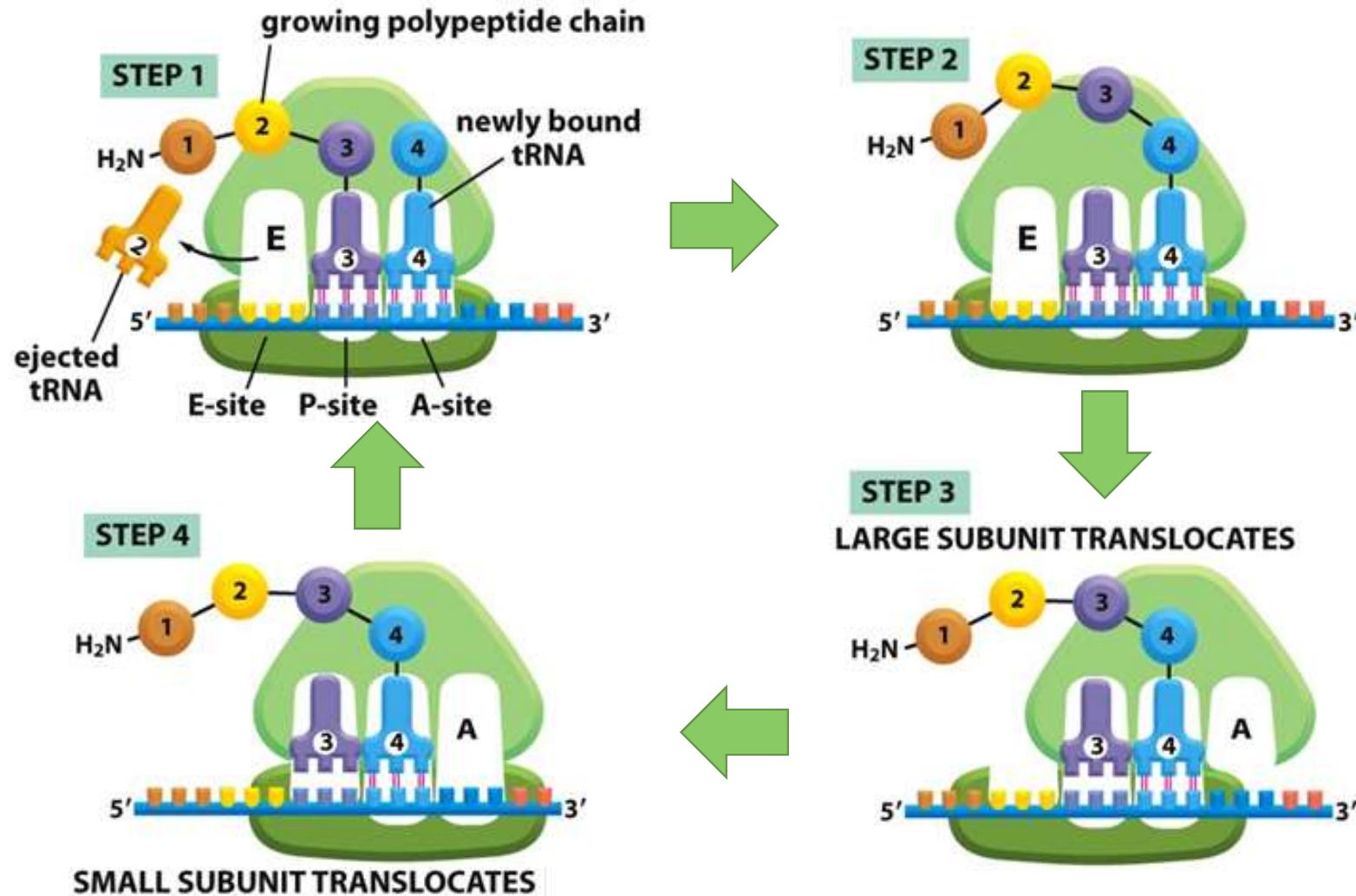
❖ **转位：**在转位酶的催化下，核糖体向mRNA的3'-端移动一个密码子的距离，使mRNA序列上的下一个密码子进入核糖体的A位点，而占据A位的肽酰-tRNA移入P位点

❖ **延伸因子EF-G有转位酶**
(Translocase) 活性





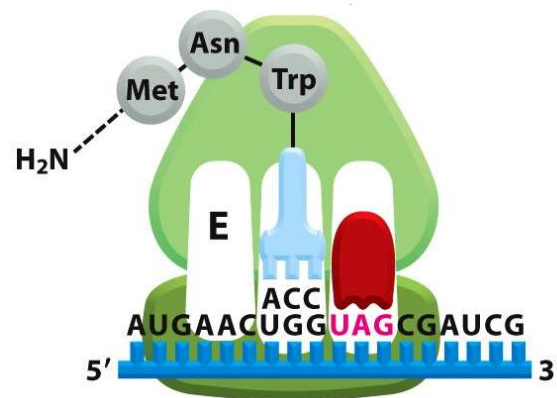
翻译的延伸

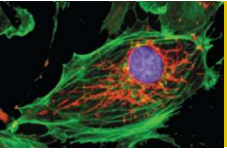


翻译的终止

❖ 终止：当核糖体A位点出现mRNA的终止密码子，多肽链合成停止，肽链从肽酰-tRNA中释出，mRNA、核糖体大、小亚基分离

- 释放因子 (Release factor) 结合在A位点
- 释放因子给多肽链的羧基末端添加水分子而不是氨基酸，从而导致肽链的释放

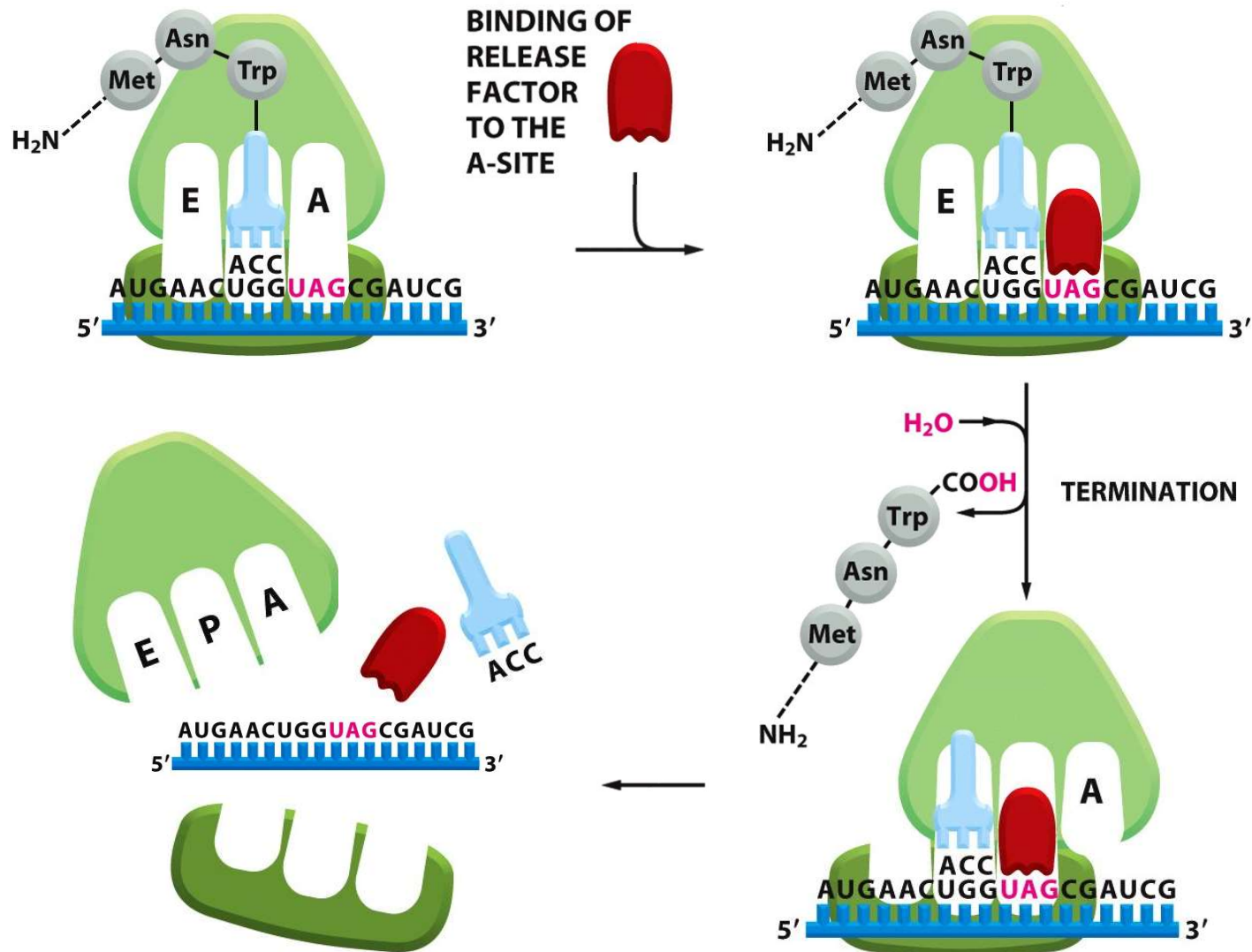


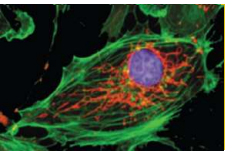


终止密码子

- ❖ 三种终止密码子 UAA, UAG和UGA 终止蛋白质的合成
- ❖ 细菌中，三种终止密码子使用频率不同
UAA>UGA>UAG
- ❖ 终止密码子不被任何一种氨酰-tRNAs 所识别，而是被释放因子识别

翻译的终止



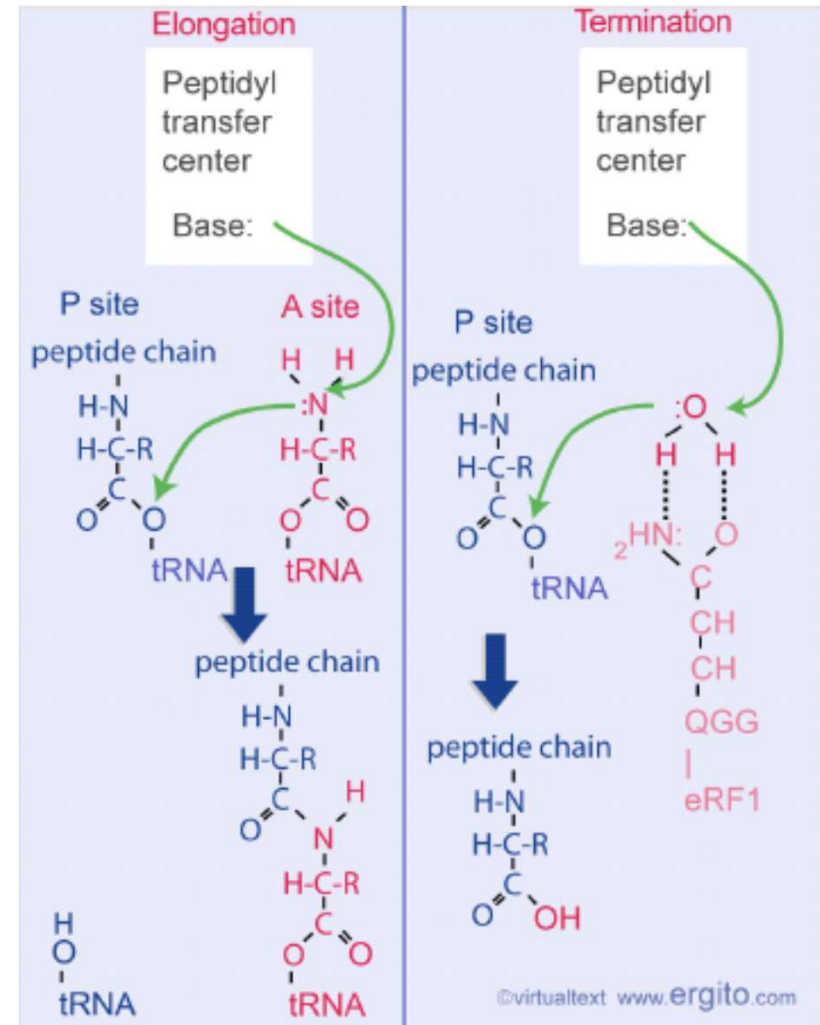


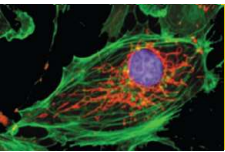
释放因子

- ❖ **蛋白质合成终止过程需要释放因子协助，有两类释放因子：**
 - **I类释放因子识别终止密码子**
 - **II类释放因子协助I类释放因子的释放，其没有密码子特异性**

I类释放因子激活核糖体水解肽酰-tRNA

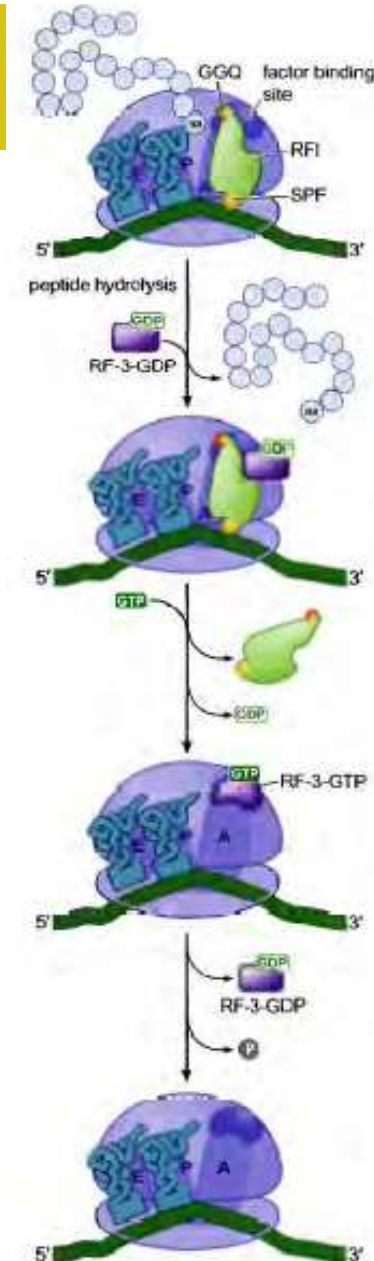
- ❖ I类释放因子RF1和RF2识别终止密码子，激活核糖体将肽酰-tRNA水解，并将肽链从肽酰-tRNA上切割下来
- ❖ 这一反应的机制类似于肽链合成过程中的肽链的转移，只是其受体分子是水而不是氨酰-tRNA





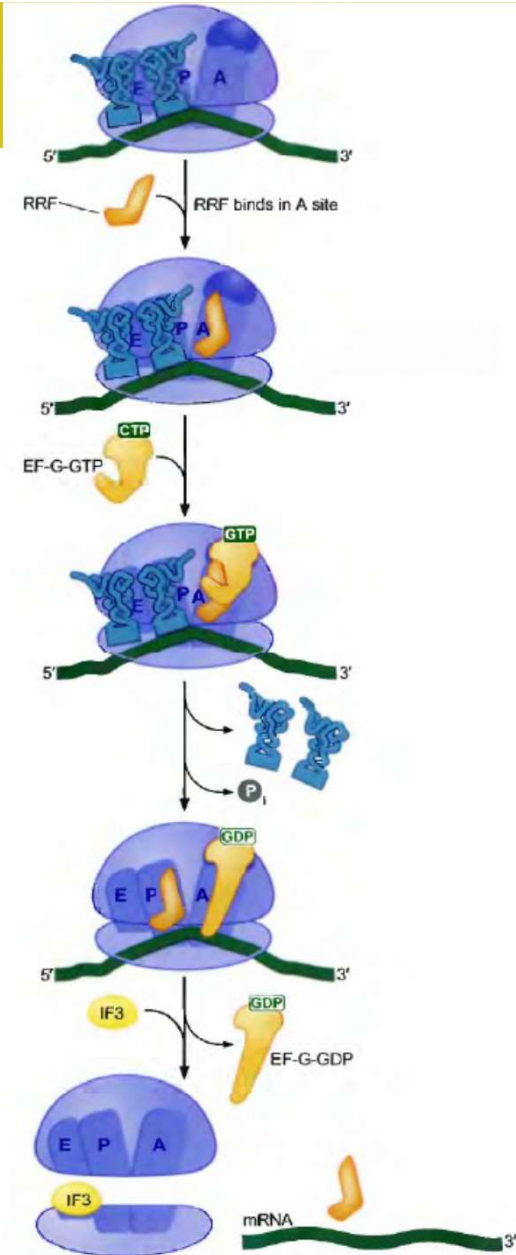
II类释放因子

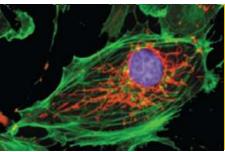
- ❖ II类释放因子是GTP结合蛋白，其不识别任何特异的密码子。其作用是辅助一类释放因子的释放
- ❖ 在E. coli中, II类释放因子RF3 协助I类释放因子RF1 或RF2从核糖体上释放



核糖体循环因子

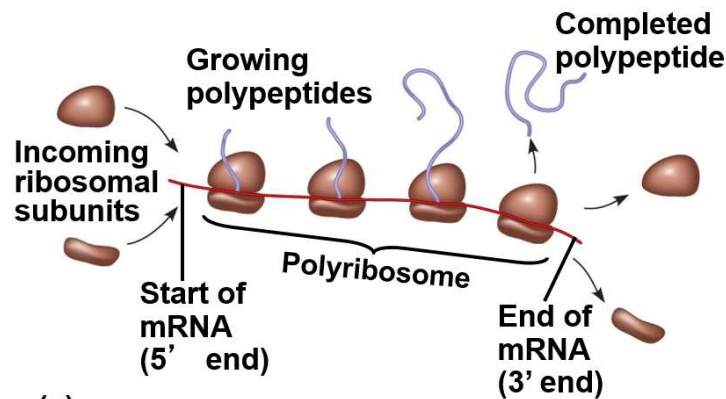
- ❖ 翻译结束时多肽链被释放，核糖体上留下空载的tRNA，同时核糖体大小亚基仍结合在一起
- ❖ 空载tRNA的释放和核糖体大小亚基的解离需要核糖体循环因子（ Ribosome recycling factor, RRF ），其在EF-G因子的协助下，将空载tRNA释放并使核糖体大小亚基与mRNA分离。



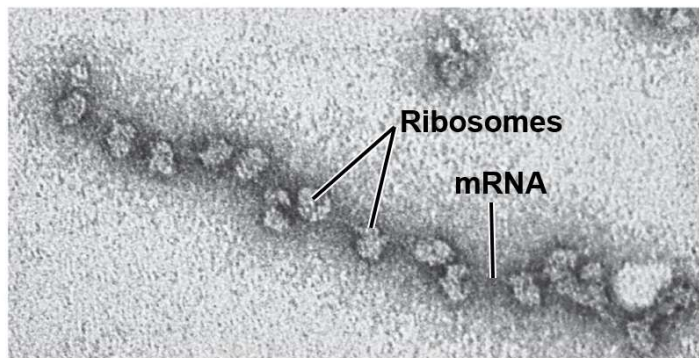


多聚核糖体

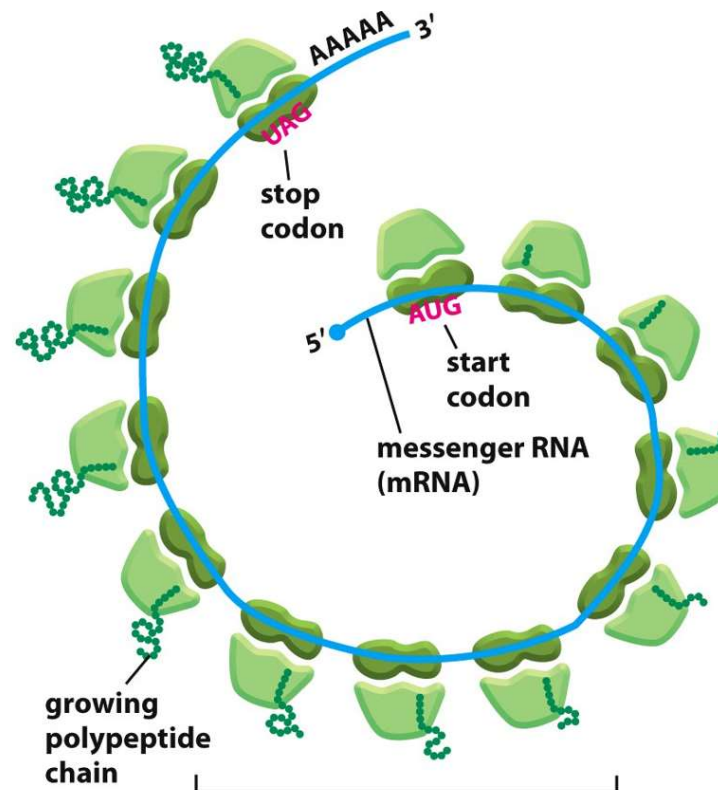
❖ 许多核糖体可以同时翻译单个mRNA，形成**多聚核糖体**（polyribosome），使细胞能够非常快速地产生多肽的多拷贝



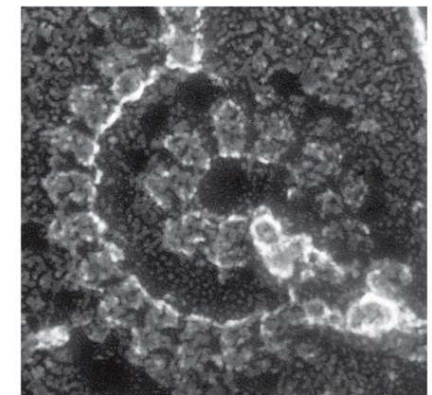
(a)



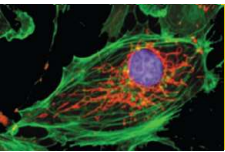
(b)



(A)



(B)



A summary of RNA functions

Types of RNA	Functions
Messenger RNA (mRNA)	蛋白质翻译的模板，携带从DNA到蛋白质氨基酸序列的遗传信息
Transfer RNA (tRNA)	蛋白质合成中运输氨基酸的工具，起到衔接氨基酸和mRNA的功能，负责将mRNA密码子翻译成氨基酸
Ribosomal RNA (rRNA)	在蛋白质合成中起催化作用（核酶），构成核糖体
Small nuclear RNA (snRNA)	在剪接体中发挥结构和催化作用