



中山大學

SUN YAT-SEN UNIVERSITY

第四章第四节

蛋白质合成的调控



概说

- ◆ 生物体内蛋白质合成的速度，主要在转录水平上，其次在翻译过程中进行调节控制。
- ◆ 它受性别、激素、细胞周期、生长发育、健康状况和生存环境等多种因素及参与蛋白质合成的众多的生化物质变化的影响。
 - ◆ 由于原核生物的翻译与转录通常是偶联在一起的，且其RNA的寿命短，因而蛋白质合成的速度主要由转录的速度决定。



一、蛋白质合成速率的调节

- ◆ 在蛋白质生物合成的起始反应中主要涉及到细胞中的四种装置：
 - ① 核糖体,它是蛋白质生物合成的场所;
 - ② 蛋白质合成的模板mRNA, 它是传递基因信息的媒介;
 - ③ 可溶性蛋白因子, 这是蛋白质生物合成起始物形成所必需的因子;
 - ④ tRNA, 它是氨基酸的携带者。
- ◆ 只有这些装置和谐统一才能完成蛋白质的合成。

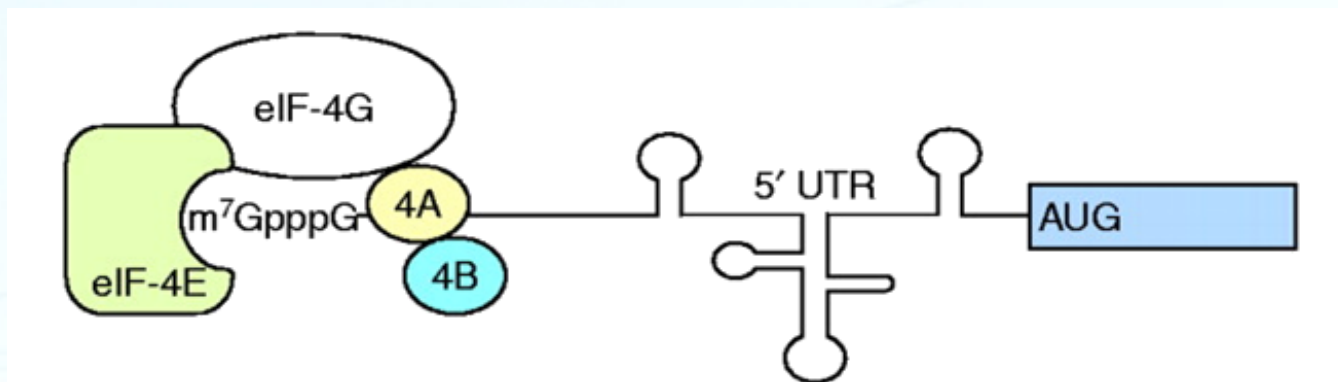


(一) 翻译起始的调节

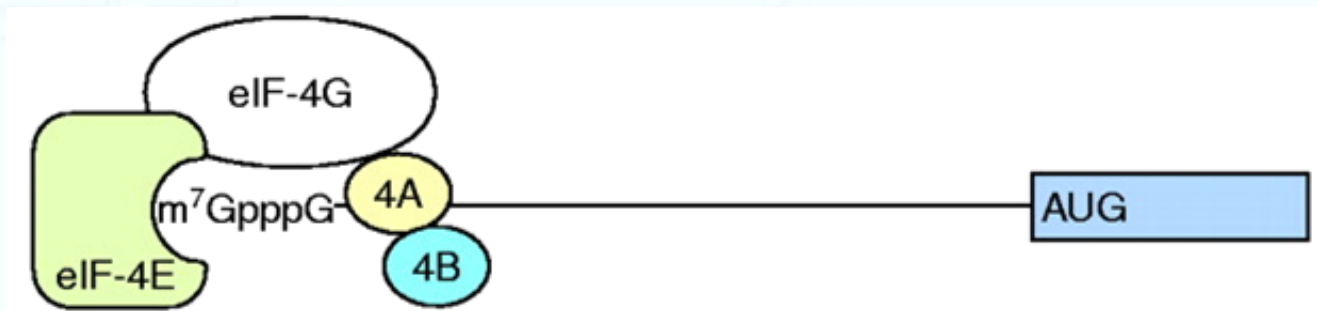
1. 翻译起始因子的调节作用

- ◆ mRNA翻译起始的调控是翻译水平调控的一个重要途径。
 - ◆ 在真核生物的卵细胞中，贮存着许多mRNA，但在受精前它们中的大多数并不起始翻译。
 - ◆ 这些没有翻译活性的mRNA称为**隐蔽mRNA**（masked mRNA）。
 - ◆ 在受精后几分钟，这些隐蔽mRNA被活化，蛋白质合成急剧增加，以满足快速卵裂的需要。可见受精卵中一定存在着激活隐蔽mRNA的某种机制。

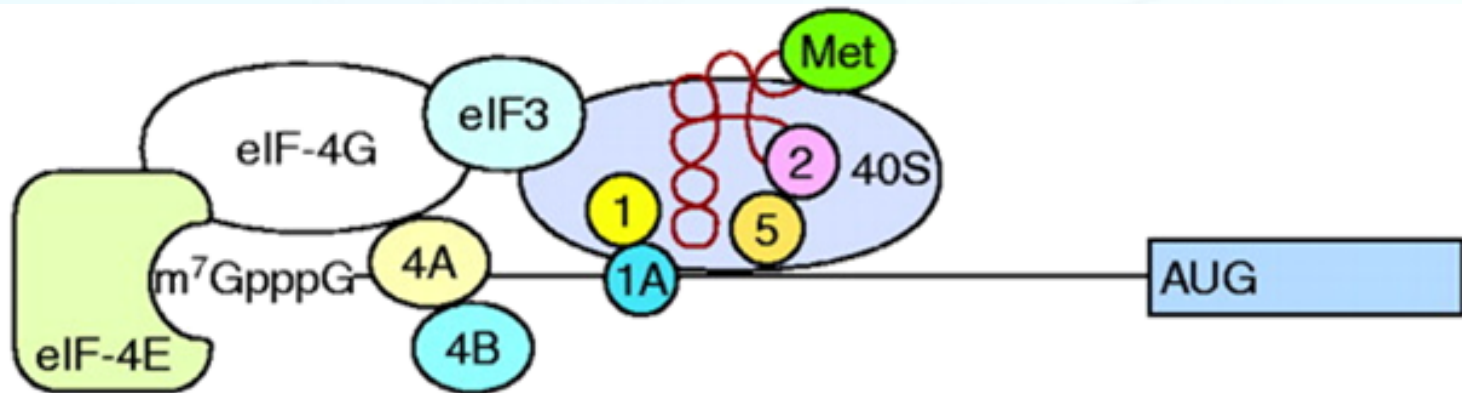
翻译的起始过程



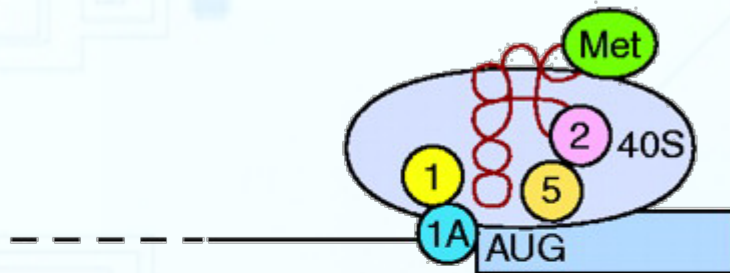
1. **eIF4E**与5'mRNA末端结合，并由此将eIF4E复合物(eIF4A,eIF4E和eIF4G)结合至Cap。此时eIF4B活化，并激活ATP依赖RNA解旋酶活性的eIF4A；



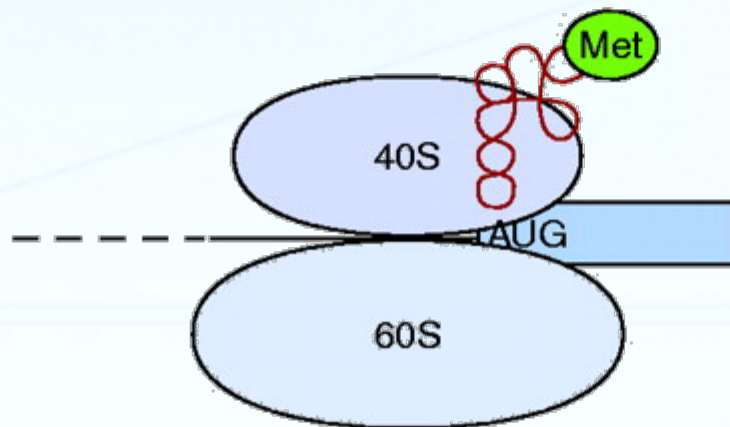
2. eIF4A解旋酶活化，并删除二级结构的5'UTR。



3. 删除二级结构可促进小核糖体亚单位(40S)绑定在或接近Cap。40S带有许多起始因子；包括起始子tRNA复合物(eIF2-GTP-tRNA_i), eIF1, eIF1A, eIF5和eIF3。



4. 40S及其相关因子“扫描”5'UTR，沿着mRNA模板滑动，直至找到一个合适的起始密码(最常遇到的第一个AUG)。



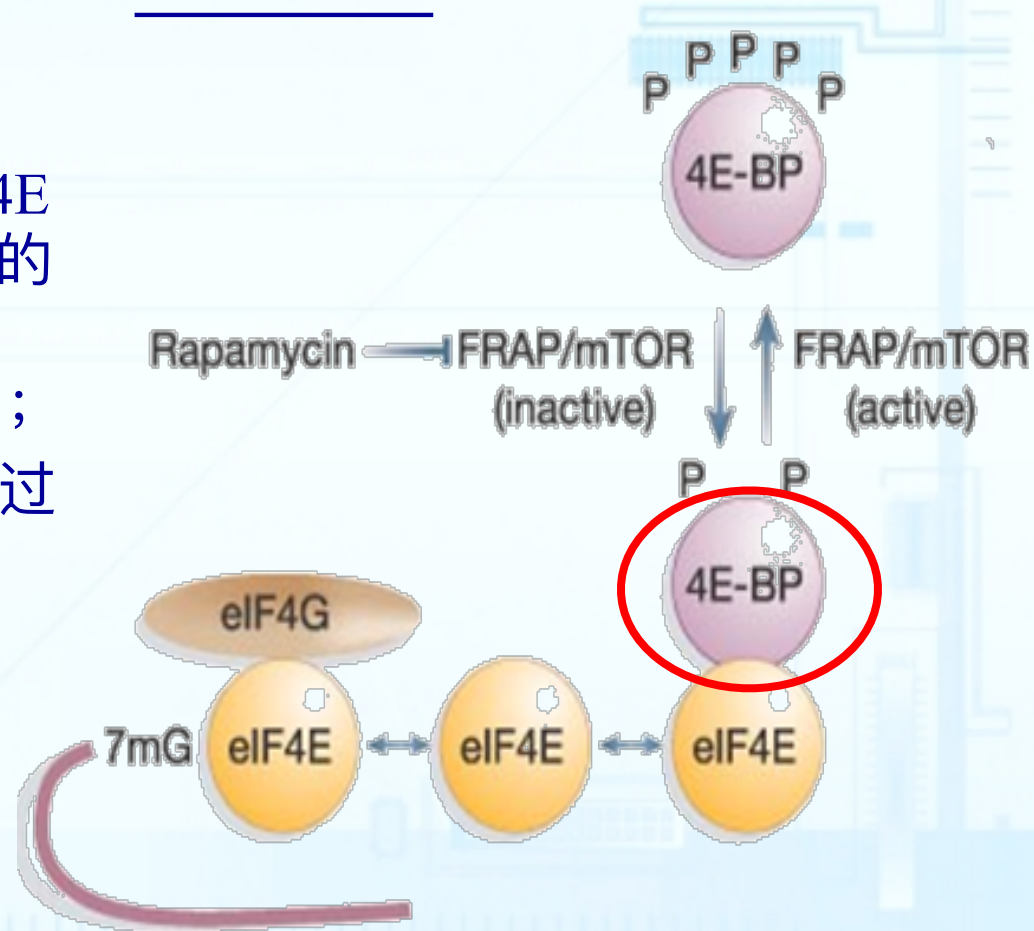
5. 起始密码识别的结果，导致eIF2三磷酸鸟苷水解，释放多个起始因子，核糖体大亚基单位(60S)的加入，形成了80S翻译核糖体；
 - 由此可见，eIF4E、eIF2-GTP在转录起始过程中起到了关键作用。

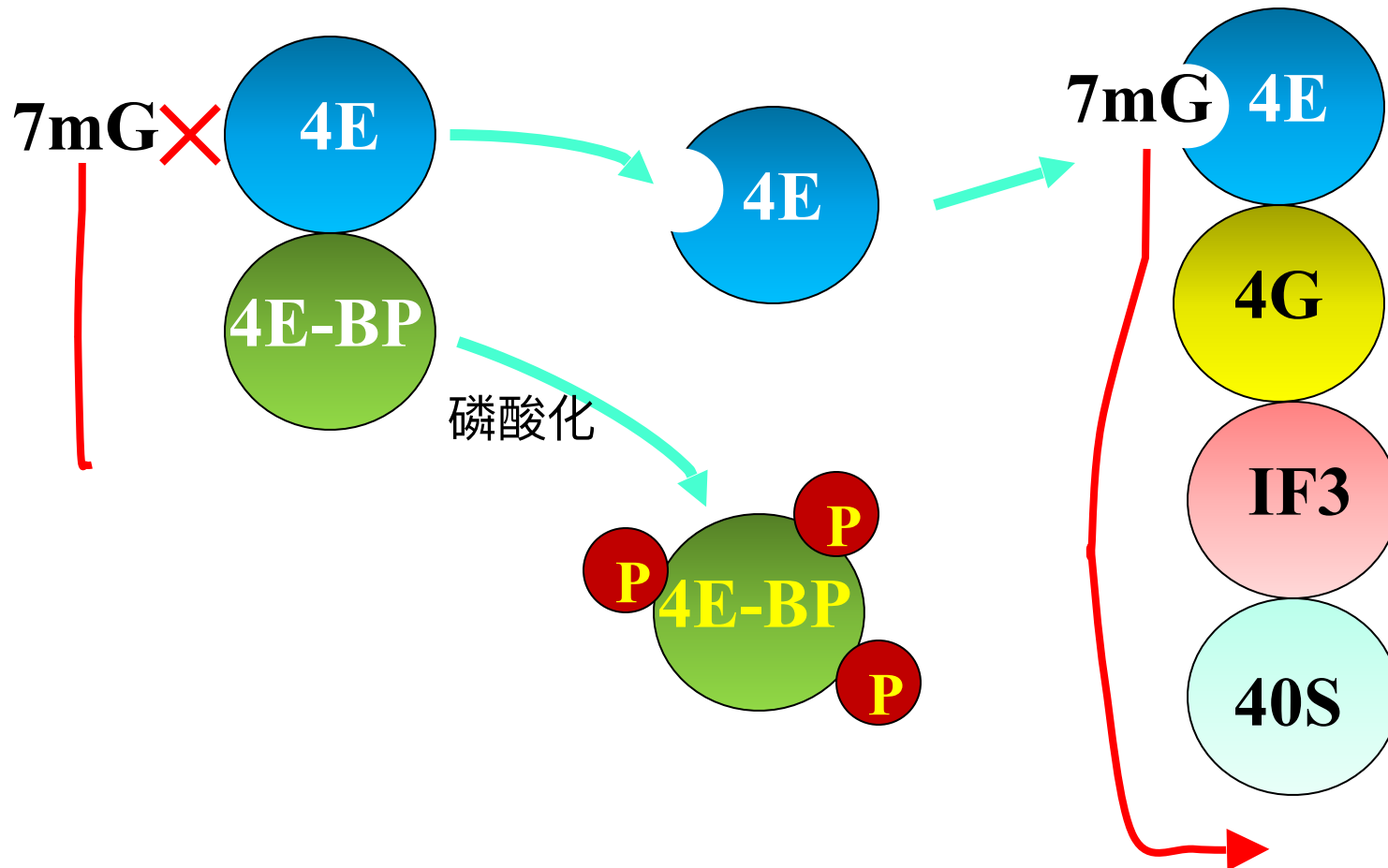


① eIF-4E

◆ 真核生物翻译起始的限速步骤

- ◆ eIF-4E结合蛋白**4E-BP**抑制4E与Cap结合，从而抑制翻译的起始；
- ◆ 4E-BP过磷酸化时与4E解离；
- ◆ 胰岛素、丝裂原可使4E-BP过磷酸化，启动翻译过程。

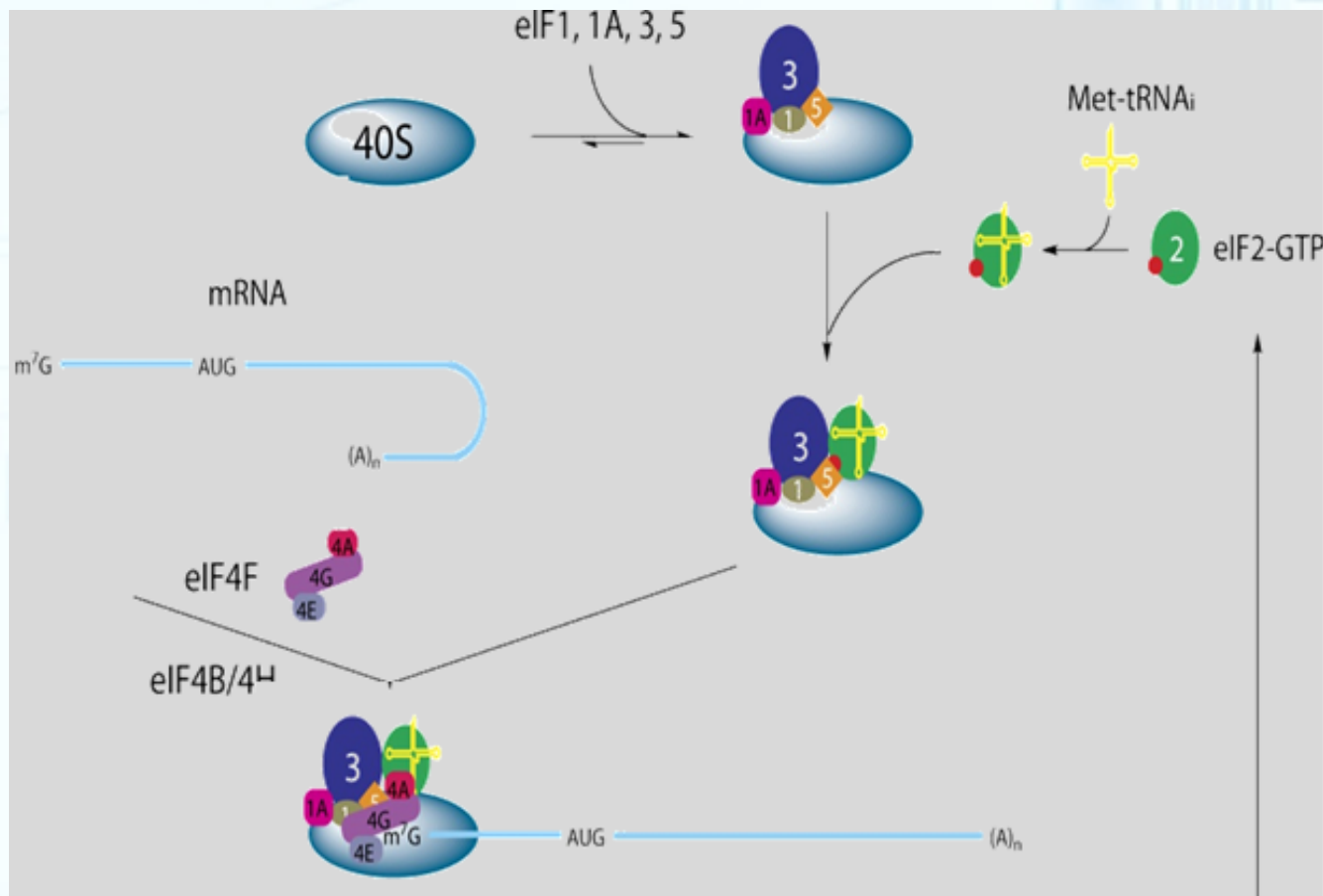




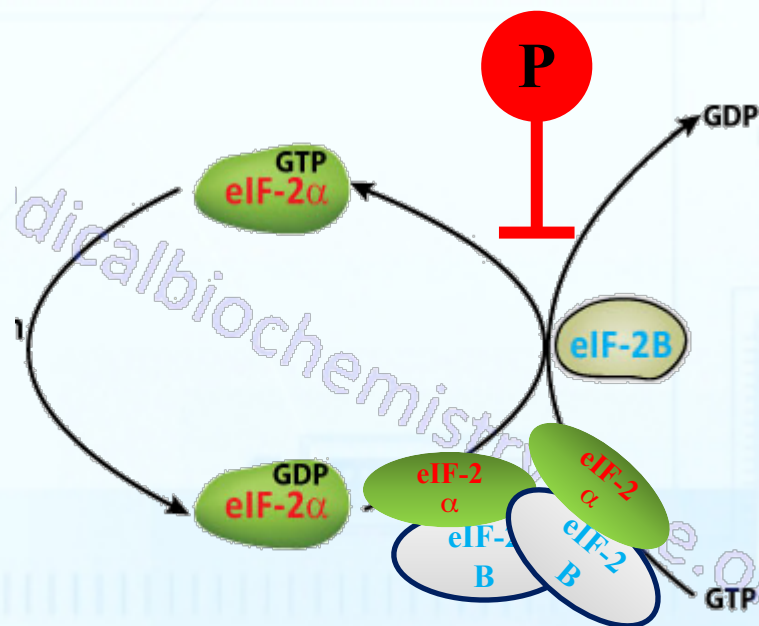
② eIF-2：活性形式为eIF-2-GTP

- ◆ Met-tRNA_i与核糖体结合是受到eIF-2的控制。

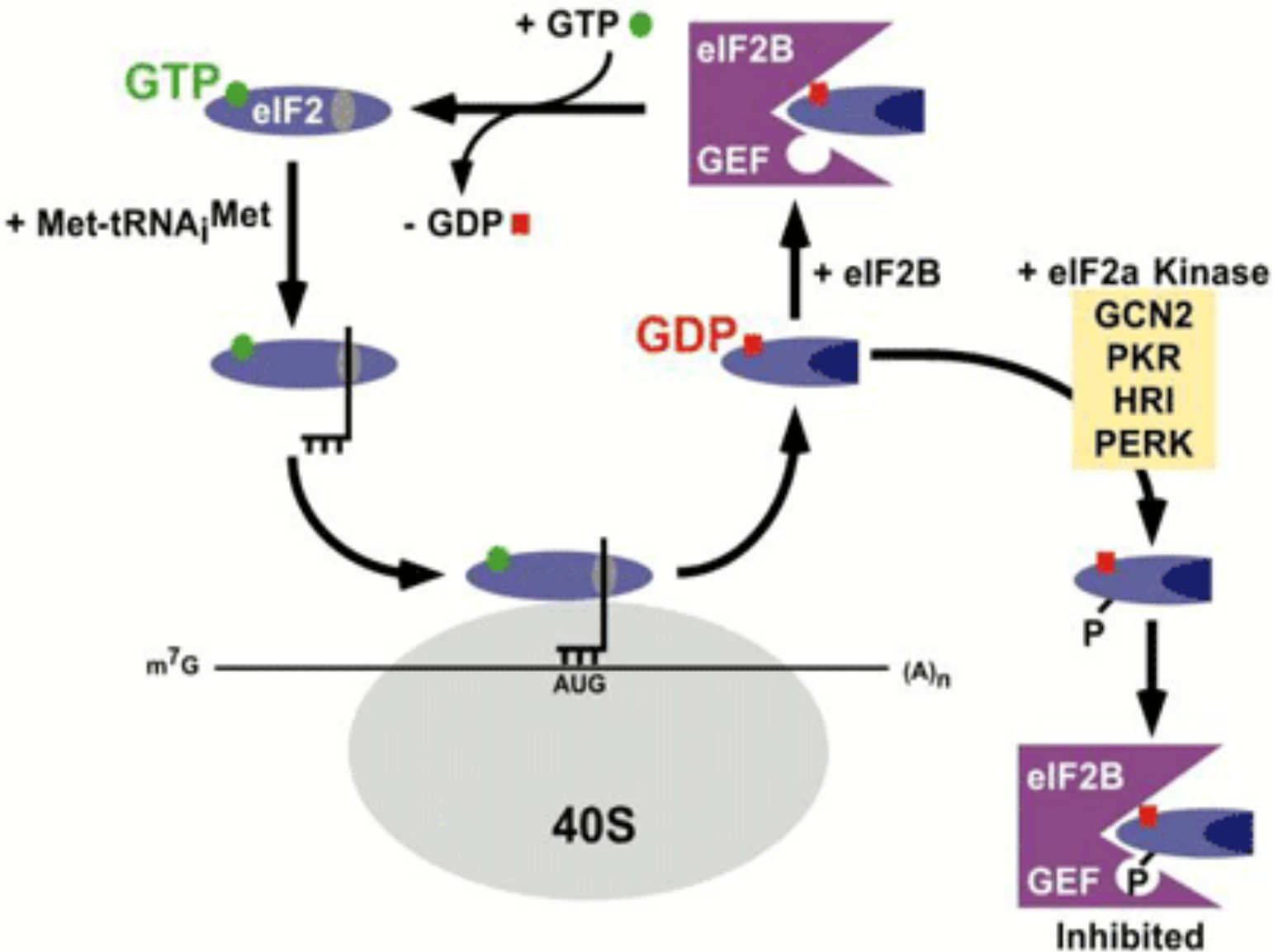
在eIF-2的协助下，Met-tRNA_i识别对应核糖体P位的mRNA起始密码子AUG，并与之结合，促进mRNA的准确就位。

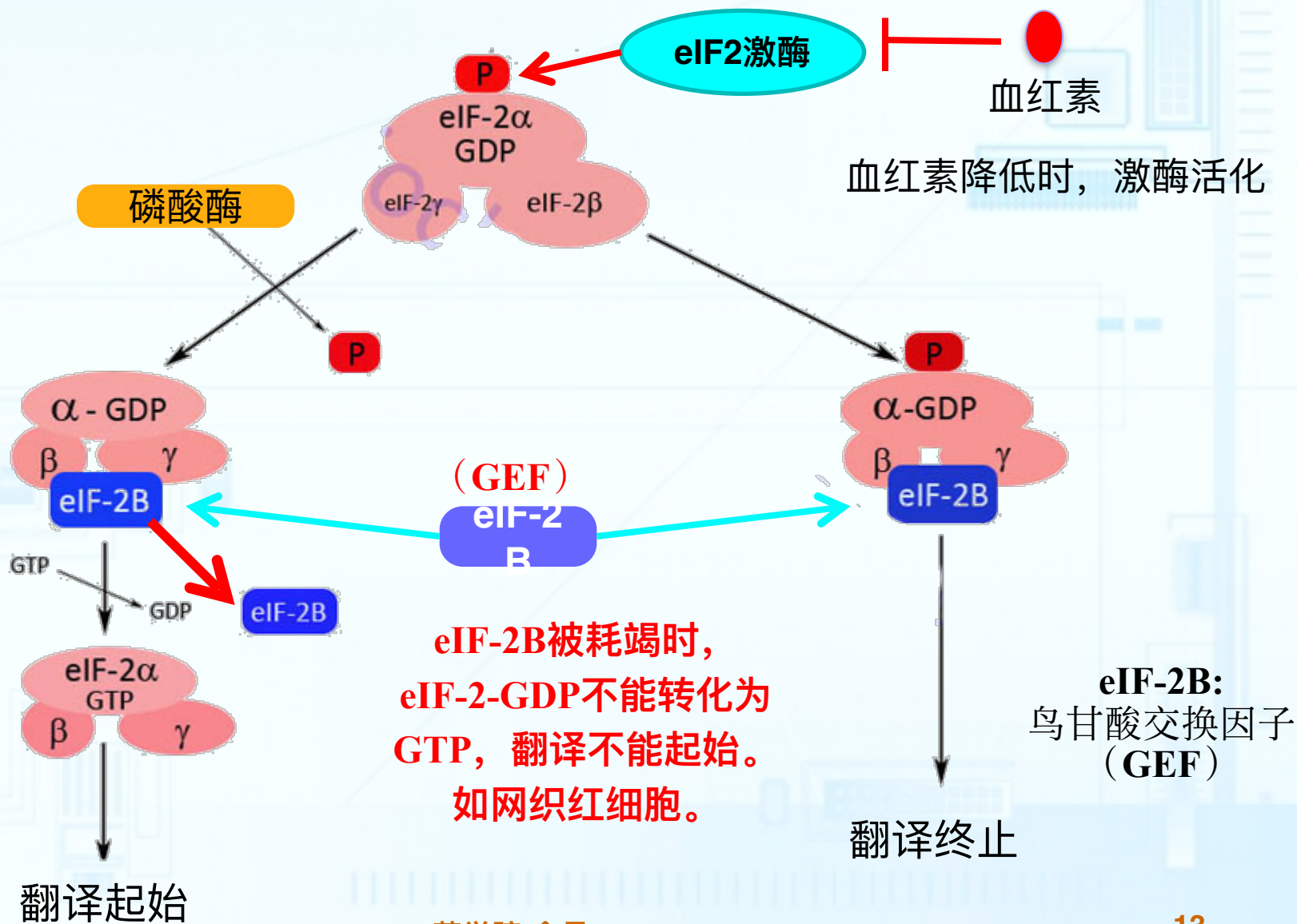


- ◆ eIF2的磷酸化调节对起始阶段有重要的控制作用。
- ◆ eIF-2 α 在特异激酶的作用下磷酸化后，使鸟苷酸交换因子（eIF-2B、GEF）与非活化状态的eIF-2GDP紧密结合在一起，妨碍了eIF-2的再循环利用，从而影响eIF-2-GTP-Met-tRNA^{Met}前起始复合物的形成，抑制了蛋白质合成的起始。



Recycling of eIF2 by eIF2B and Regulation by eIF2α Kinases

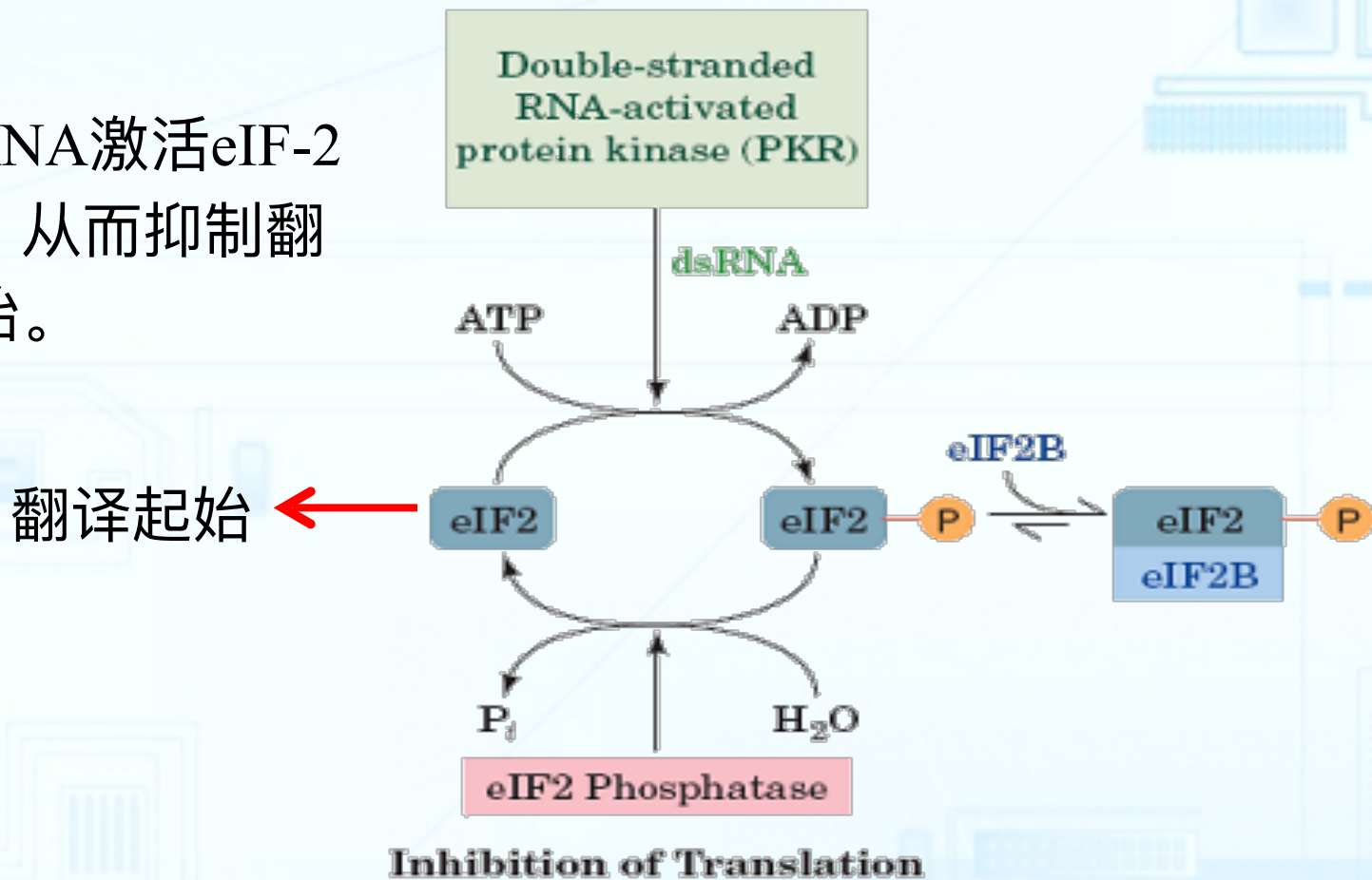






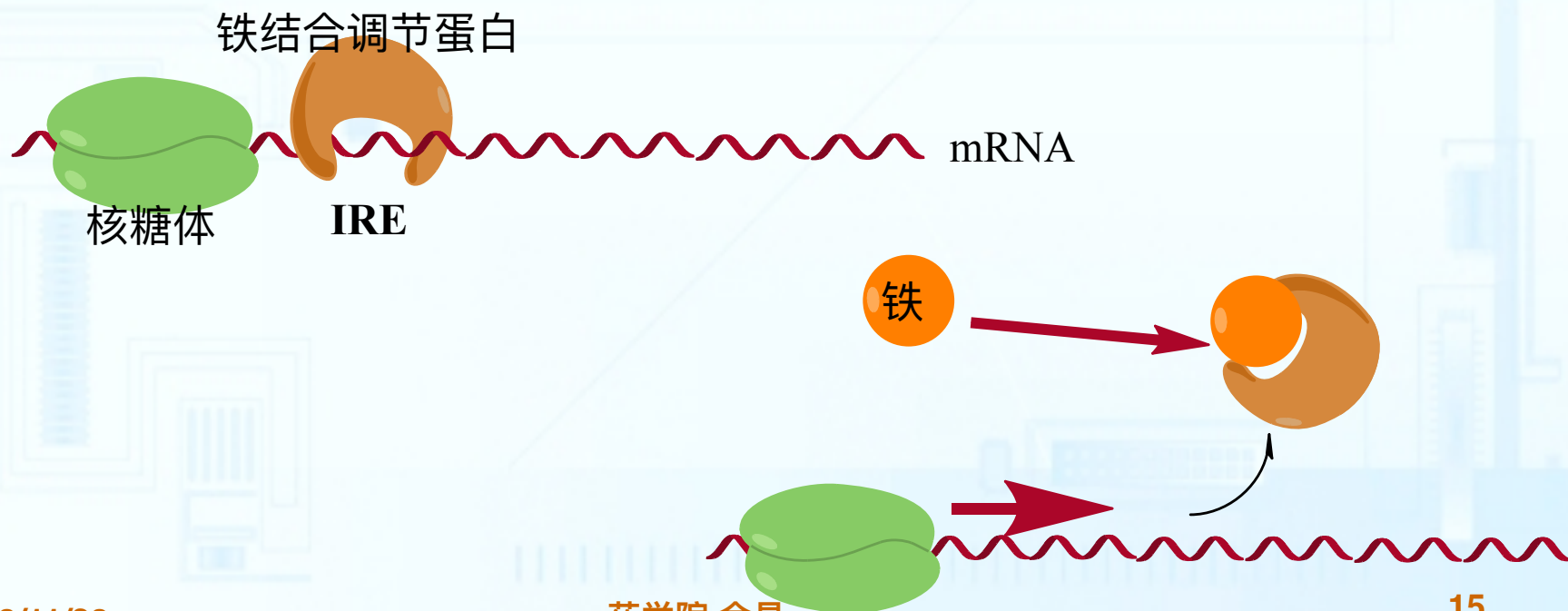
双链RNA调控翻译的起始

双链RNA激活eIF-2
激酶，从而抑制翻
译起始。



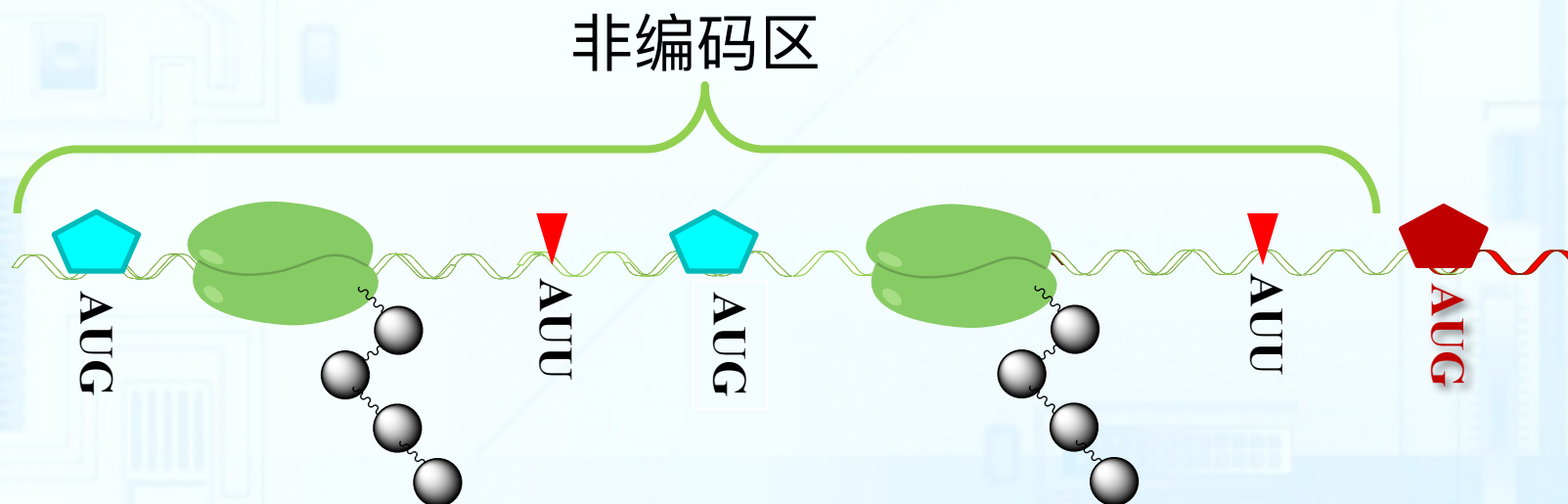
2. 阻遏蛋白的调控作用

- ◆ 并不是所有进入细胞质的mRNA都可以翻译成蛋白；
- ◆ 如铁蛋白mRNA的铁反应元件 (**IRE**)



3. 5'AUG的调控作用

- ◆ 大多数mRNA翻译为第一AUG规律
- ◆ 10%的mRNA作为翻译的第一AUG的5'端的非编码区有多个‘AUG’，其作用在于导致无效翻译，从而减少翻译的水平。



4. mRNA的5'-非编码区长度对翻译的影响

- ◆ 5'端非翻译区的长度也会影响到翻译的效率和起始的精确性
- ◆ 当此区长度在17~80之间时，体外翻译效率与其长度变成正比
- ◆ 此区长度太近时，40S亚基不易识别AUG
 - ◆ 当mRNA 5'非编码区长度小于12个碱基时，一半以上的40S亚基会滑过第一个AUG。



(二) mRNA的稳定性对翻译水平的影响

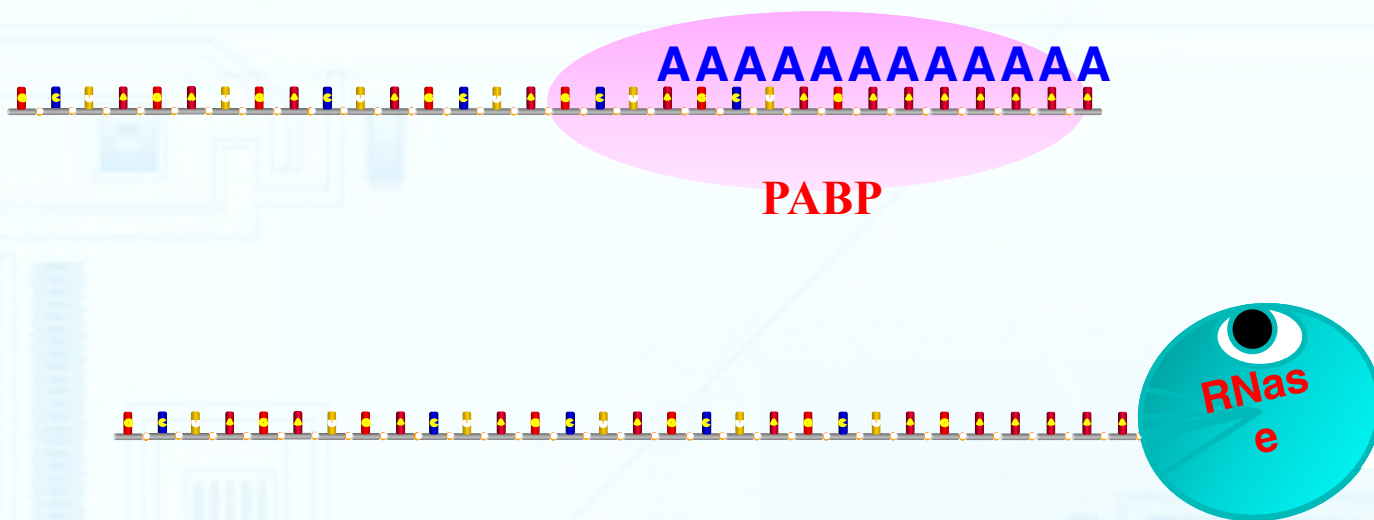
- ◆ 在细胞质中所有的RNA都要受到降解控制 (degradation control) 在控制中RNA降解的速率 (也称为RNA的转换率)是受到调节的;
- ◆ mRNA分子的稳定性很不一致, 有的mRNA的寿命可延续好几个月, 有的只有几分钟;
 - ◆ 5'的帽子结构和3'末端的polyA对mRNA分子的稳定性起到很大作用
 - ◆ 在某些真核细胞中的mRNA进入细胞质以后, 并不立即作为模板进行蛋白质合成, 而是与一些蛋白质结合形成RNA蛋白质 (RNP) 颗粒;
 - ◆ 真核细胞中mRNA的平均寿命通常为3 h, 而家蚕的丝心蛋白的mRNA的平均寿命却长达4 天。



- ◆ mRNA 3'端的poly(A):
 - ◆ 不仅和mRNA穿越核膜的能力有关，而且影响到mRNA的稳定性和翻译效率。
 - ◆ 有poly (A) 的mRNA其翻译效率明显高于无poly(A)的mRNA，Poly A长度和翻译效率有关。
 - ◆ 有人将poly(A)比做翻译的计数器，随着翻译次数的增加，poly(A)在逐步缩短，也就是说poly(A)越长mRNA作为模板的使用的半衰期越长。



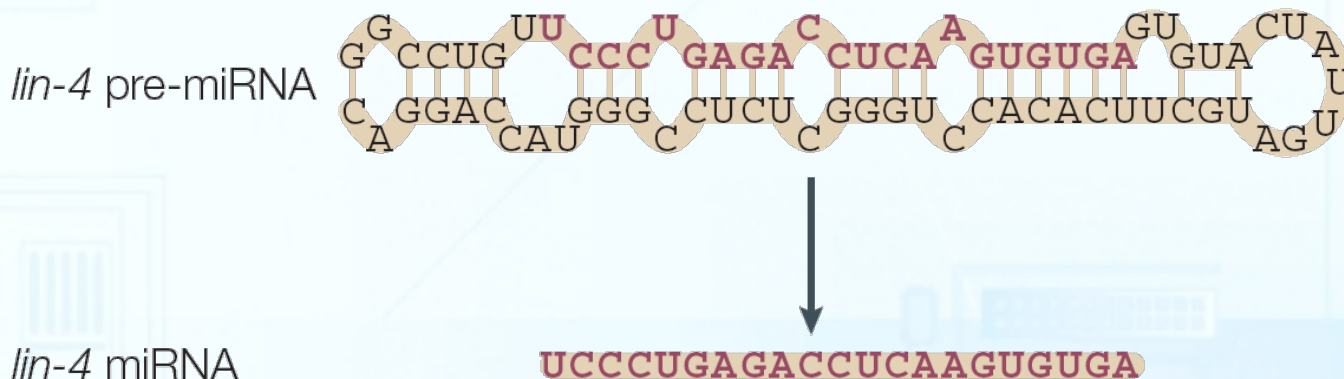
- ◆ Poly(A)对翻译的促进作用是需要PABP（poly(A)结合蛋白）的存在，PABP结合poly(A)最短的长度为12 nt，当poly(A)缺乏PABP的结合时，mRNA 3'端的裸露易招致降解。





(三) 小分子RNA对翻译水平的影响

- ◆ Lee等（1993）发现有一种小分子RNA可对真核生物的mRNA起抑制作用，称为Lin-4RNA
 - ◆ 其由Lin-4基因编码，它能抑制一种调控生长发育的时间选择的核蛋白Lin-14的合成。
 - ◆ Lin-4基因编码2个小分子的RNA，其中主要的一个长度为22个核苷酸，另一个则可在其3'端延长至4个核苷酸。它们的核苷酸序列高度保守，只要有一个碱基的变化就会失去它对mRNA的抑制作用。

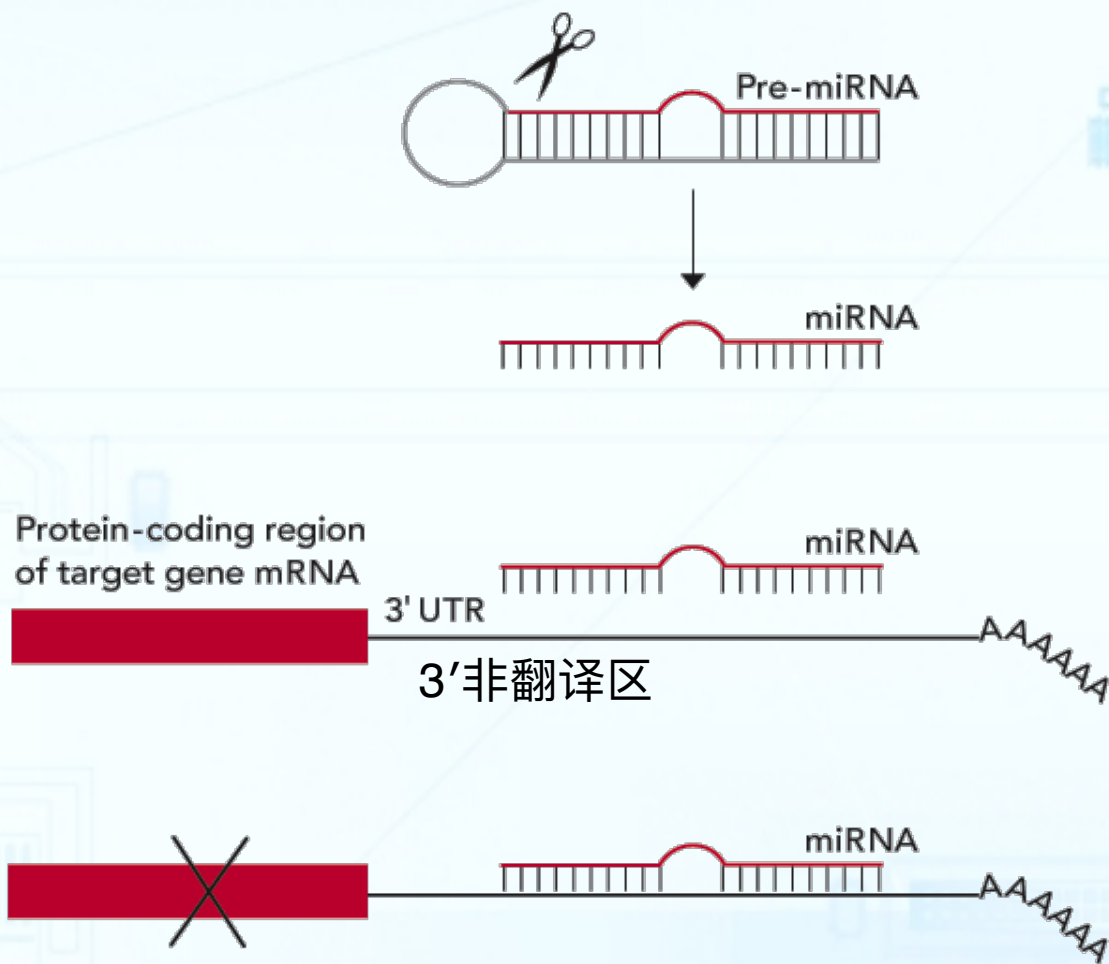




- ◆ Lin-4 RNA 调控翻译的机制，目前尚不清楚。
 - ◆ 可能机制是
 - ① 与3'-UTR相结合调控poly A尾长度
 - ② 调控细胞骨架
 - ③ 调整mRNA在细胞中的位置，而从翻译机制中隐蔽mRNA。
- ◆ 总之，以前一直认为由蛋白质完成的事情，现在发现RNA也能完成，这是一个十分有趣和值得进一步深入研究的课题。

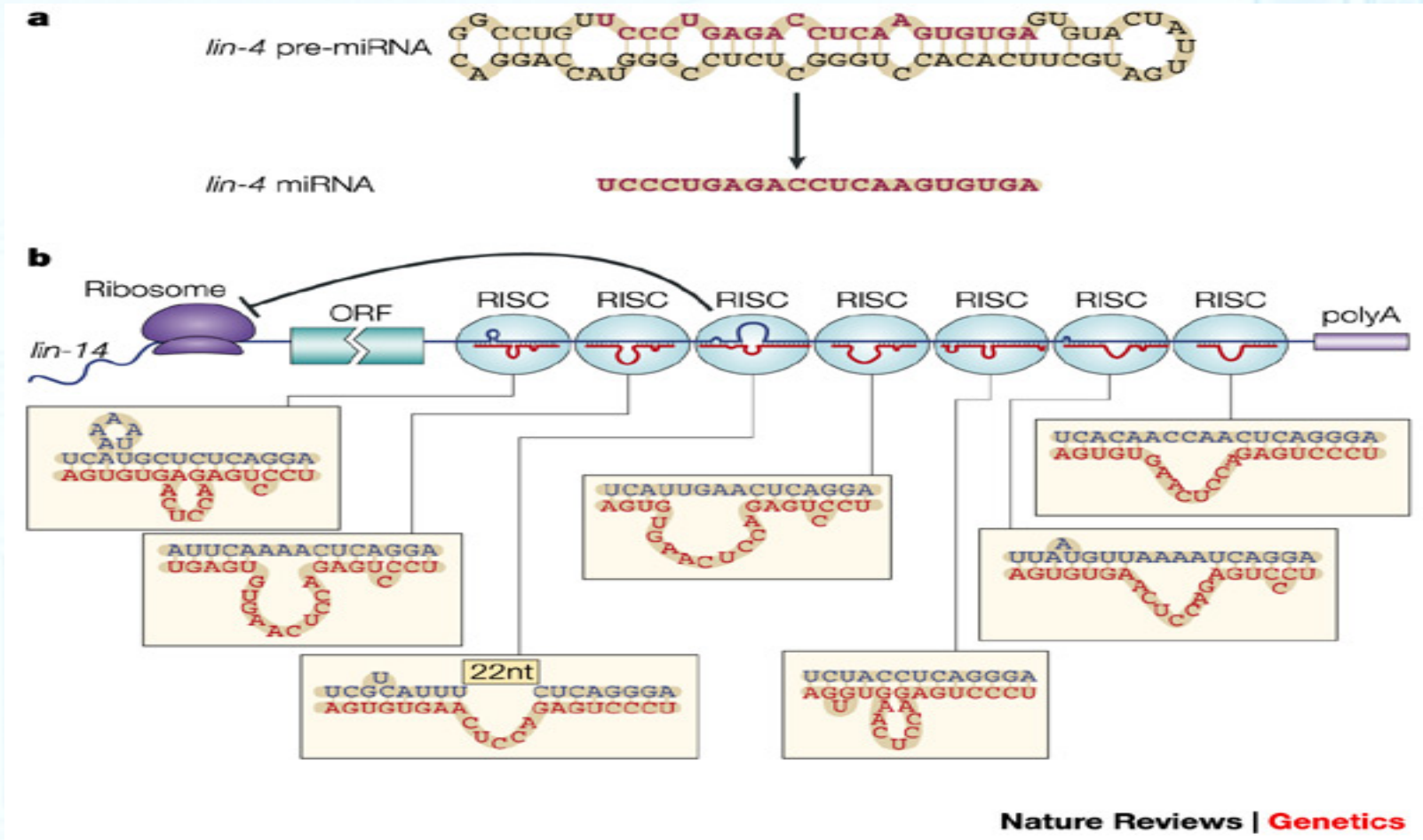


Lin-4调控翻译机制的模式图





Lin-4调控Lin-14mRNA翻译作用的示意图



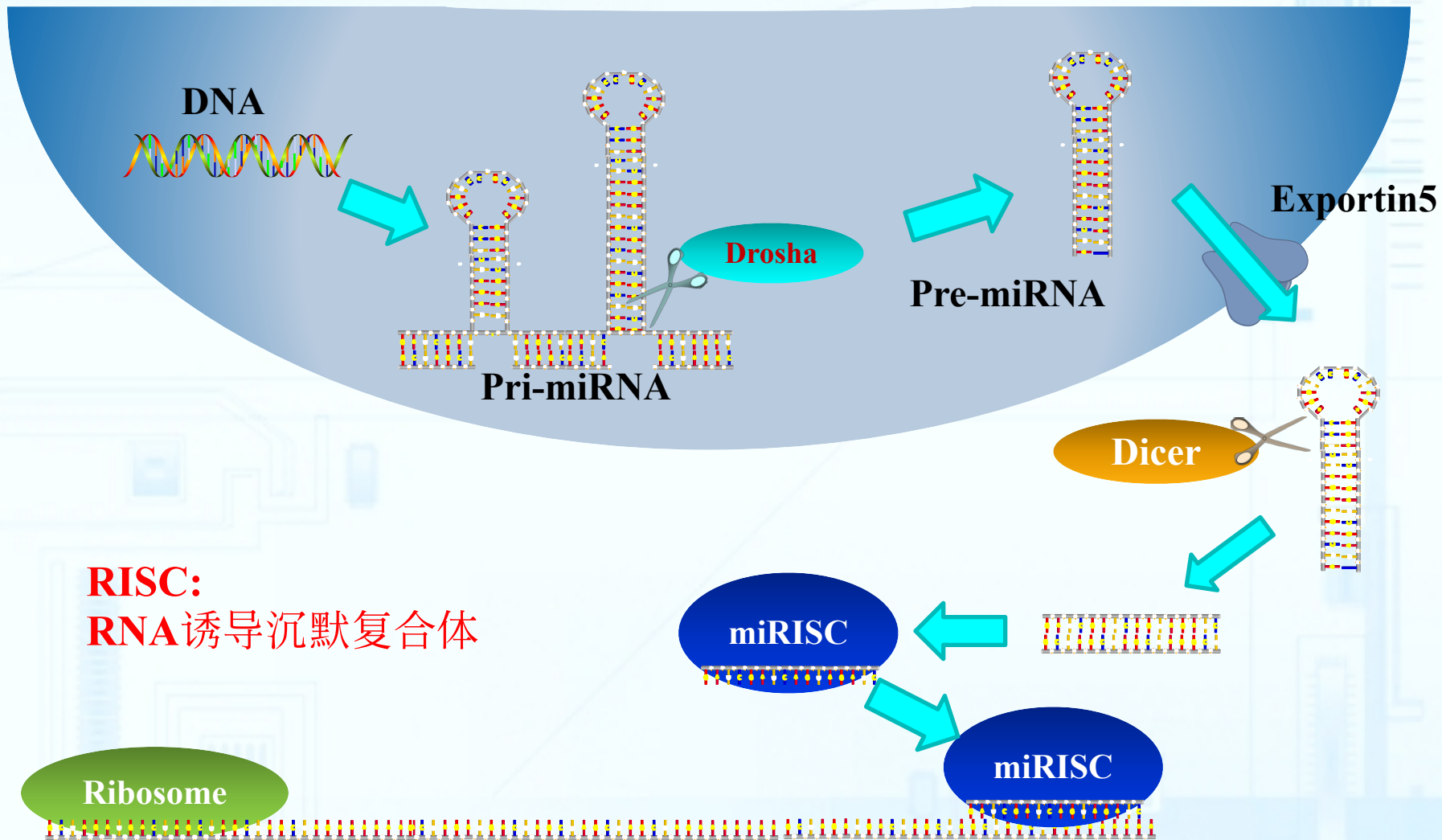


引发基因沉默的microRNA (miRNA)

- ◆ microRNA (miRNA) 是一类长度约为20-24个核苷酸长度的具有调控基因表达功能的非编码RNA。
 - ◆ 是由具有发夹结构的约70-90个碱基大小的单链RNA前体经过Dicer酶加工后生成
 - ◆ miRNA 主要参与基因转录后水平的调控。
 - ◆ 在动物和植物体内广泛存，目前已被证实miRNA有几百种之多。



microRNA作用原理





miRNA的特点

1. miRNA 在反复冻融，PH改变，DNA以及RNA裂解酶的作用下，不易降解，具有很高的稳定性。
2. 相同的miRNA在不同细胞、不同组织器官以及不同种属之间具有相似的序列以及调控功能。
3. miRNA在不同组织、不同细胞间的表达谱表现特征不同，因此miRNA表达谱可以作为某些组织或细胞的特异性分子标志。
4. miRNA的组成在细胞的不同发育阶段不同，特定的miRNA在特定细胞的特定阶段出现，决定细胞的分化方向和分化时相，因此miRNA是细胞定时、定向分化的开关。
5. miRNA的调控不是一一对应的，而是同时调节一组功能相似或相近的蛋白。
6. miRNA的调控力度不是很强，一般仅占蛋白表达量的30%或以下。



miRNA and siRNA

- ◆ 转录后基因表达的调节小分子RNA主要有两种：
 - ◆ 小干涉RNA (small interfering RNA; **siRNA**) 和微小RNA (microRNA; **miRNA**)
 - ◆ 它们的相关性密切，既具有相似性，又具有差异性



miRNA and siRNA的不同点

1. 来源

- ◆ 是miRNA是内源性的，是生物体的固有因素；而siRNA是由外界因素（如：病毒感染或人工插入）诱导产生，属于异常情况，多为人工体外合成的，通过转染进入体内，是RNA干涉的中间产物；
- ◆ miRNA前体是发卡状pre-miRNA，而siRNA长链dsRNA

2. 结构

- ◆ miRNA是单链RNA，而siRNA是双链RNA；

3. 在作用位置上

- ◆ miRNA主要作用于靶基因的3'-UTR区，而siRNA可作用于mRNA的任何部位；

4. 与靶基因的互补性

- ◆ miRNA不完全互补，存在错配，特异性较低；而siRNA一般要求完全互补，一个碱基的突变容易引起RNAi沉默效应的改变；



5. 在作用方式上

- ◆ miRNA可抑制靶标基因的翻译，也可导致靶标基因降解，即在转录水平后和翻译水平起作用；
- ◆ 而siRNA只能导致靶标基因的降解，引起mRNA的破坏，抑制了其mRNA的翻译，即为转录水平后调控；

6. 生物学功能

- ◆ miRNA主要在发育过程中起作用，调节内源基因表达，而siRNA不参与生物生长，是RNAi的产物，原始作用是抑制转座子活性和病毒感染

7. 进化关系

- ◆ ① siRNA是miRNA的补充说；② miRNA在进化中替代了siRNA说。

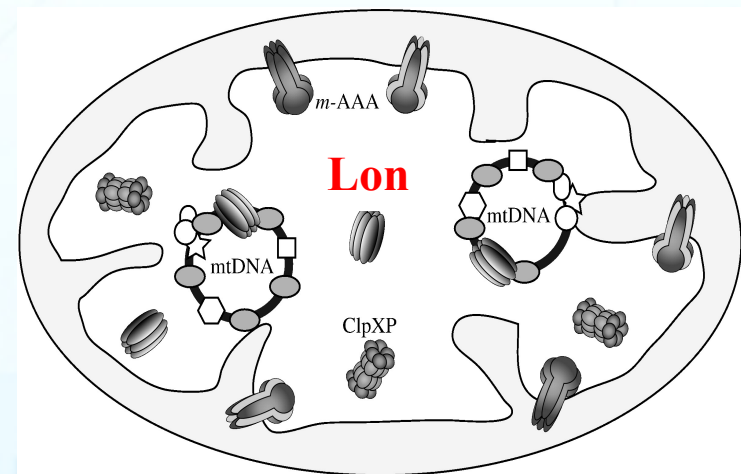


二、蛋白质降解速率的调节

- ◆ 细胞内存在4 种蛋白质水解体系：
 - ◆ 自噬- 溶酶体体系
 - ◆ 线粒体蛋白酶体系
 - ◆ 钙依赖蛋白酶体系
 - ◆ 泛素- 蛋白酶体系
- ◆ 真核细胞中蛋白质降解主要有两种途径
 - ◆ 不依赖于ATP
 - ◆ 溶酶体降解：外来蛋白质、膜蛋白和长寿命蛋白
 - ◆ 依赖于ATP
 - ◆ 泛素-蛋白酶体降解：异常蛋白和短寿命蛋白

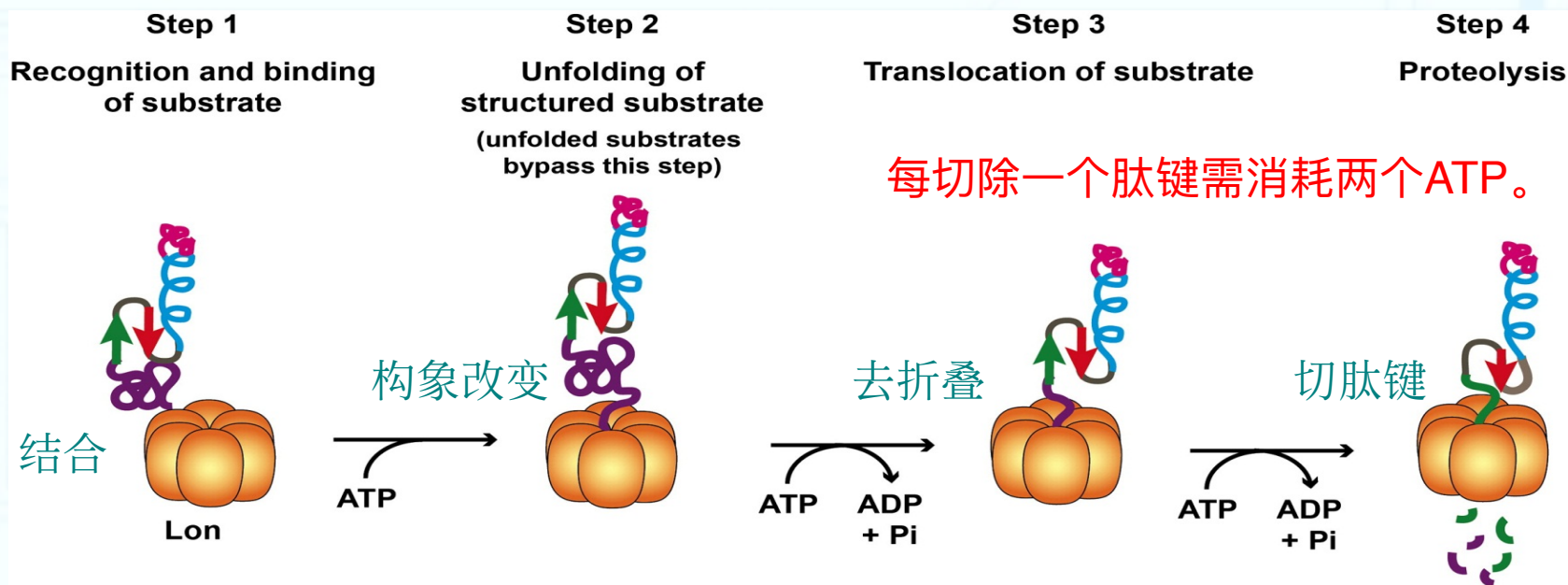
线粒体蛋白酶体系 -Lon蛋白酶-

- ◆ Lon蛋白酶主要存在原核生物的胞质以及真核生物的线粒体和过氧化物酶体中；
- ◆ Lon作为一种多功能蛋白酶, 对线粒体的多种功能起着重要的调控作用, 包括呼吸链蛋白复合体的组装、异常和受损伤蛋白质的降解、mtDNA完整性的维持；
- ◆ 每切除一个肽键, 需消耗2个ATP



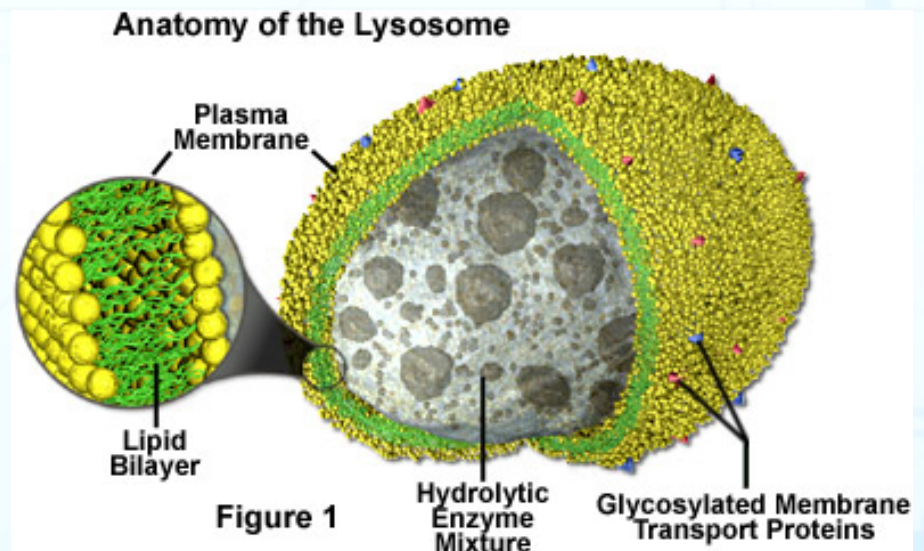
Lon蛋白酶降解蛋白的过程

- ◆ 第一、通过全酶的N端结构域识别并结合蛋白底物的特异性识别位点;
- ◆ 第二、ATP的结合和水解使复合体的构象发生改变, 底物多肽去折叠, 底物进入蛋白水解部位;
- ◆ 第三、当去折叠的底物进入蛋白降解部位后, 肽键剪切开始发生。



溶酶体

- ◆ 溶酶体 (lysosomes) 真核细胞中的一种细胞器；为单层膜包被的囊状结构，直径约0.025~0.8微米，**是不需ATP蛋白降解体系**；
- ◆ 溶酶体内有50余种酸性水解酶
 - ◆ 包括蛋白酶、核酸酶、磷酸酶、糖苷酶、脂肪酶、磷酸酯酶及硫酸脂酶等





泛素-蛋白酶体体系

- ◆ 泛素-蛋白酶体系统ubiquitin-proteasome system：一个多步骤反应过程，有多种不同蛋白质参与。
 - ◆ 蛋白质先被泛素（多肽）标记，然后被蛋白酶体识别和降解。
- ◆ 该系统包括泛素Ub、泛素活化酶E1，泛素结合酶E2s，泛素-蛋白连接酶E3s，26S蛋白酶体和泛素解离酶DUBs。

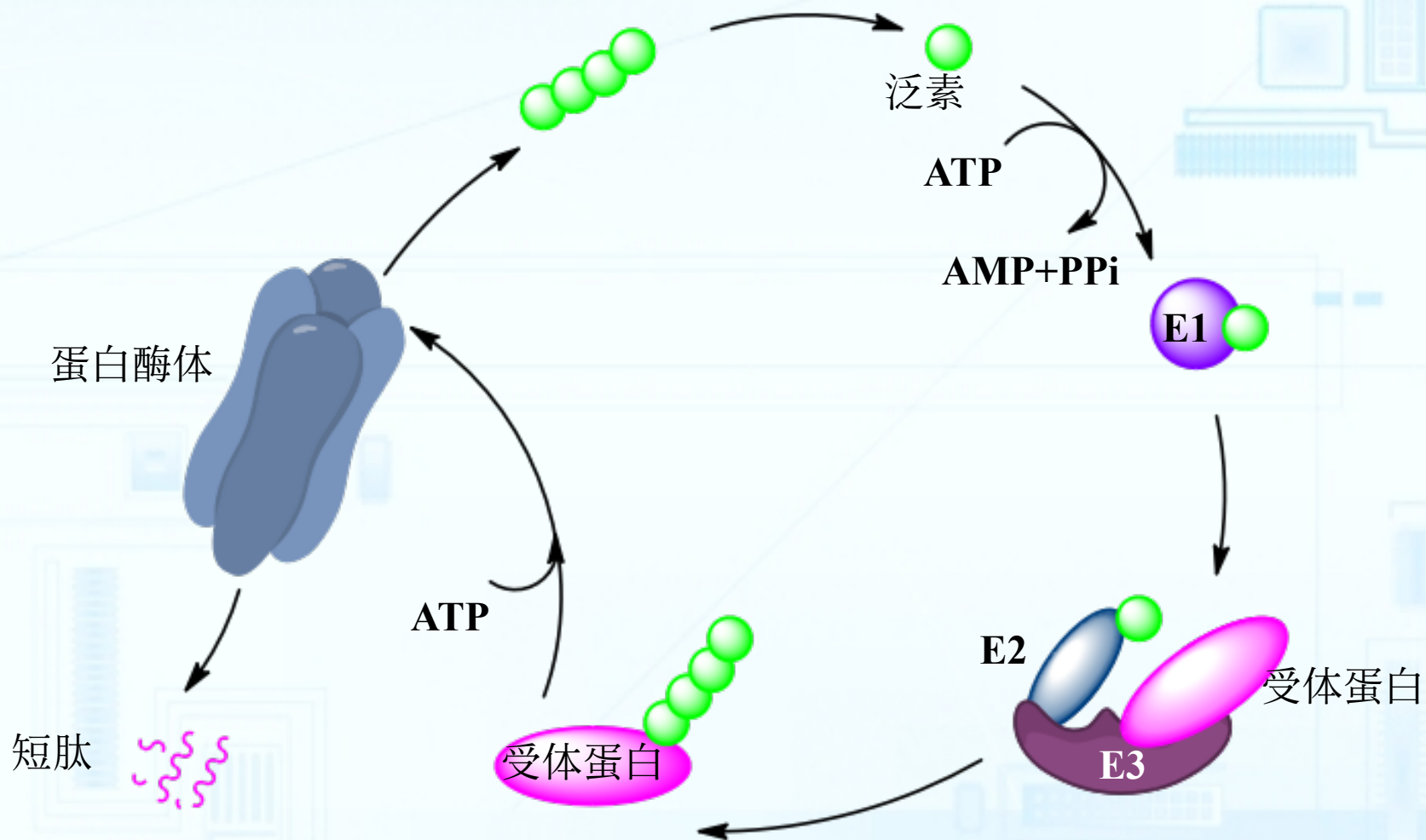


泛素-蛋白酶体降解过程

- ◆ 包括两个主要阶段
 - ◆ 第一阶段为泛素与蛋白底物的相互作用：将蛋白底物用活化的泛素进行标识；
 - ◆ 第二阶段为蛋白酶体对底物的降解：包括对底物泛素链的识别与蛋白的逐步降解。



泛素-蛋白酶体降解过程



- ◆ 泛素-蛋白酶体系统与蛋白质质量控制、细胞周期、DNA修复、转录及免疫应激等密切相关，也与许多种疾病的发生相关。



蛋白质的寿命

- ◆ 半衰期介于几十秒到百余天。
- ◆ 哺乳动物细胞内各种蛋白质的平均周转率为1 ~ 2d。
- ◆ 代谢过程中的关键酶以及处于分支点的酶寿命仅几分钟，有利于体内稳态在情况改变后快速建立。
 - ◆ – 大鼠肝脏的鸟氨酸脱羧酶半衰期仅11min，是大鼠肝脏中降解最快的蛋白质。
 - ◆ – 肌肉肌动蛋白和肌球蛋白的寿命约1~2w。
 - ◆ – 血红蛋白的寿命超过一个月。
- ◆ 蛋白质的半衰期并不恒定，与细胞的生理状态密切相关。



蛋白质寿命的N端规则

- ◆ 细胞质中蛋白质的寿命与肽链的N端氨基酸残基的性质有一定的关系。
 - ◆ N端的氨基酸残基为天冬氨酸D、精氨酸R、组氨酸H、亮氨酸L、赖氨酸K、色氨酸W和苯丙氨酸F的蛋白质，其半衰期只有2~3min。
 - ◆ N端的氨基酸残基为丙氨酸A、苏氨酸T、丝氨酸S、甘氨酸G、甲硫氨酸M和缬氨酸V的蛋白质，它们在原核细胞中的半衰期可超过10h，而在真核细胞中甚至可超过20h。



第四章第四节 复习范围

- ◆ 一、蛋白质合成速率的调节
 - ◆ 掌握翻译起始调控的作用点
 - ◆ 熟悉翻译起始因子eIF-4E、eIF-2的调控方式
 - ◆ 了解小分子RNA对翻译的影响
- ◆ 二、蛋白质降解速率的调节
 - ◆ 熟悉泛素-蛋白酶体降解体系
 - ◆ 了解蛋白质稳定的N端规则