

讲座

分子遗传学简介

吴鹤龄

(北京大学生物系)

rRNA (核糖体 RNA)

rRNA 与蛋白质组成核糖体,核糖体是蛋白质合成的场所。每个核糖体由大小两个亚基组成,它们的形状、大小和化学组成是不同的。来源于真核细胞的核糖体是由 40S 小亚基与 60S 大亚基组成的,它自身沉降系数为 80S。来源于原核细胞的核糖体则是由 30S 小亚基与 50S 大亚基组成的,它自身沉降系数为 70S。

核糖体的形状是随溶液中的离子状态而定,特别重要的是镁离子的浓度。若在溶液中除去 Mg^{++} ,则使核糖体中的大小亚基分离。如若恢复 Mg^{++} 浓度,则可使分离的大小亚基又聚合成核糖体。如图 69 所示。

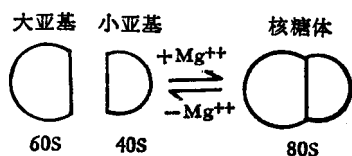


图 69 镁离子对核糖体亚基结构的作用

E. coli 细胞中核糖体,它的大亚基中含有两类 rRNA,一个是 23S rRNA,另一个是 5S rRNA。小亚基则只含有一个 16S rRNA。

现在简述一下 23S rRNA、16S rRNA 和 5S rRNA 的生成和加工过程。

23S rRNA、16S rRNA 和 5S rRNA 在原核细胞中,它们的基因都是毗邻连在一起的。当转录时,首先生成的是 16S rRNA、23S rRNA 和 5S rRNA 的 rRNA 前体。它包含了以上三种 rRNA。然后,经酶切后,16S rRNA 首先脱离 rRNA 前体,尔后 23S rRNA 和 5S rRNA 也断裂开来,形成分离的 23S rRNA、16S rRNA 和 5S rRNA。16S rRNA 与蛋白质组成了 30S 小亚基。23S rRNA 和 5S rRNA 共同与蛋白质组成了 50S 大亚基(图 70)。

真核细胞中核糖体的大亚基中含有两类 rRNA,一个是 28S rRNA,另一个是 5S rRNA。小亚基则只含有一个 18S rRNA。

真核细胞的 rRNA 的加工过程是比较复杂的。现在我们来讲一下它们的加工过程。

28S rRNA 和 18S rRNA 的基因都是位于核仁组

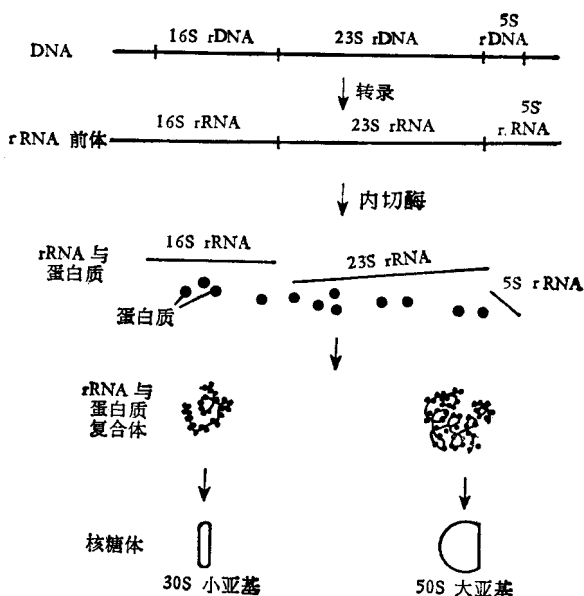


图 70 原核细胞的 rRNA 前体的加工过程

织者中的。它们二者之间有一段可转录的间隔序列(TS)。于是 28S rDNA、18S rDNA 以及它们之间的间隔序列连成了一个转录区段[图 71(1)]。二个转录区段之间又有一段非转录的间隔序列(NS)把它们分开。因此,转录区段加上一个非转录的间隔序列组成了一个重复单位。每个核仁组织者中有许多这样重复单位成簇地排列在 DNA 上[图 71(2)]。

以核糖体 DNA 转录区段为模板,由 RNA 聚合酶 I 转录成一段很长的 rRNA 前体,这段 rRNA 前体的沉降系数为 45S。然后这段 45S rRNA 前体被酶切除掉多余的核苷酸片段,形成 41S rRNA 前体。41S rRNA 前体又被酶切开成为两个部分,一部分为 20S rRNA 前体,另一部分为 32S rRNA 前体。20S rRNA 前体在酶的作用下,很快裂解为 18S rRNA,它迅速地被送到细胞质内与蛋白质结合,形成 40S 小亚基。32S

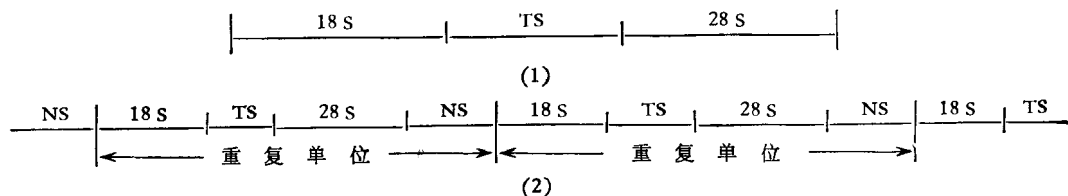


图 71 真核细胞核糖体 DNA 重复单位的结构模型

(1) 核糖体 DNA 转录区段。

(2) 核糖体 DNA 重复单位的结构。18 S 代表 18S rDNA；28S 代表 28S rDNA；TS 代表转录间隔序列；NS 代表非转录间隔序列。

rRNA 前体在酶的作用下裂解为 28S rRNA，它也被送到细胞质内，与 5S rRNA 一起同蛋白质结合成 60S 大亚基。这里的 5S rRNA 是从处在核仁组织区以外的 5S rRNA 的基因转录而来的。5S rRNA 基因分布在很多染色体上，以它为模板转录出的 5S rRNA 不需要加工，因为转录出的 5S rRNA 就是最后的完成品（图 72）。

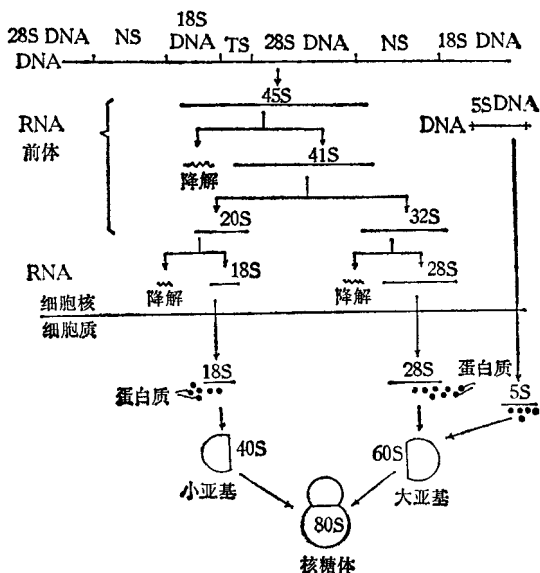


图 72 真核细胞的 rRNA 前体加工过程

28S DNA 代表 28S rRNA 基因；18S DNA 代表 18S rRNA 基因；TS 代表转录间隔序列；NS 代表非转录间隔序列；45S 代表 45S rRNA 前体；41S 代表 41S rRNA 前体；20S 代表 20S rRNA 前体；32S 代表 32S rRNA 前体；18S 代表 18S rRNA；28S 代表 28S rRNA；5S DNA 代表 5S rRNA 基因；5S 代表 5S rRNA。

第五讲 蛋白质的合成

蛋白质合成是一个极其复杂而又十分协调的连续过程。参与蛋白质合成的物质，有 mRNA（模板），tRNA（特异的“运输工具”），核糖体（“装配机”），有关合成的酶和辅助因子。还有作为原料的氨基酸及能源 ATP、GTP 与必要的双价离子如 Mg^{++} 等。

现在我们简述一下一条特定的肽链是如何在上面

的物质互相协同的作用下产生出来的。

蛋白质的生物合成过程可分为三个具体步骤：氨基酸的活化，活化氨基酸的搬运及活化氨基酸在核糖体上的缩合。

氨基酸的活化

氨基酸不能自动缩合成肽链，必须提高氨基酸的能量，使其活化后，才能缩合成肽链。

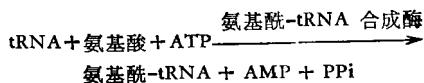
氨基酸的活化是由特异的氨酰-tRNA 合成酶催化完成的。活化的具体过程是氨基酸在氨酰-tRNA 合成酶的作用下，与三磷酸腺苷（ATP）结合形成一种氨酰腺苷酸-活化酶复合物[图 73（1）]。

活化氨基酸的搬运

活化了的氨基酸并不能直接缩合成肽链，而必须挂在携带它的 tRNA 上，被运送到核糖体上与其他氨基酸缩合成肽链。

氨酰腺苷酸-活化酶复合物与其相应的 tRNA，在氨酰-tRNA 合成酶的催化下，形成一个新的复合物，即氨酰-tRNA。在这个复合物中，氨基酸的羧基，与 tRNA 的 3' 末端腺苷酸中的核糖上的 2' 或 3' 位羟基，以酯键相结合，从而使氨基酸连在 tRNA 的上面[图 73（2）]。

上面两个反应过程可简写成为如下反应式：



活化氨基酸在核糖体上的缩合

活化氨基酸在核糖体上的缩合过程也称为转译过程。转译过程大体可分为三个阶段：启动阶段，肽链延长阶段和终止阶段。

启动阶段 启动这一步骤是需要很多因子来参加完成的。这些因子都是蛋白质。启动因子在原核细胞中有三种：启动因子₁(IF₁)，启动因子₂(IF₂)，启动因子₃(IF₃)。在真核细胞中启动因子则有五种：启动因子₁(eIF₁)，启动因子₂(eIF₂)，启动因子₃(eIF₃)，启动因子₄(eIF₄)，启动因子₅(eIF₅)。其中 eIF₄ 又分为四种，即：eIF_{4a}，eIF_{4b}，eIF_{4c}，eIF_{4d}。

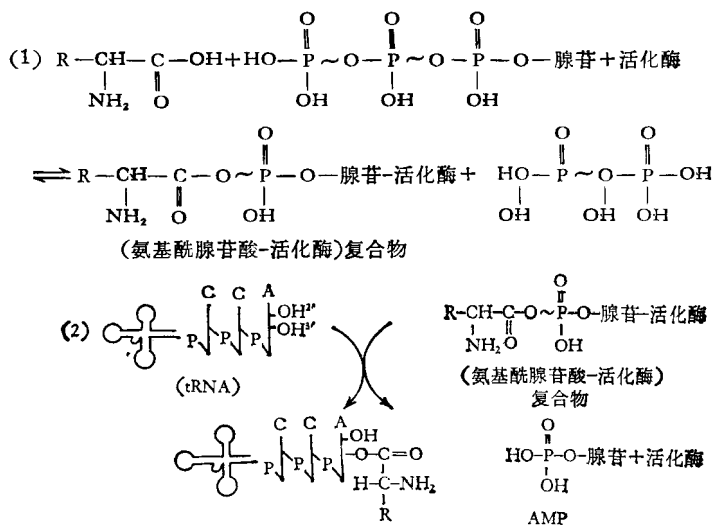



图 73 活化氨基酸及其与 tRNA 结合的示意图

活化酶代表氨基酸-tRNA 合成酶； 表示除-C-C-A 末端外的 tRNA 结构部分。

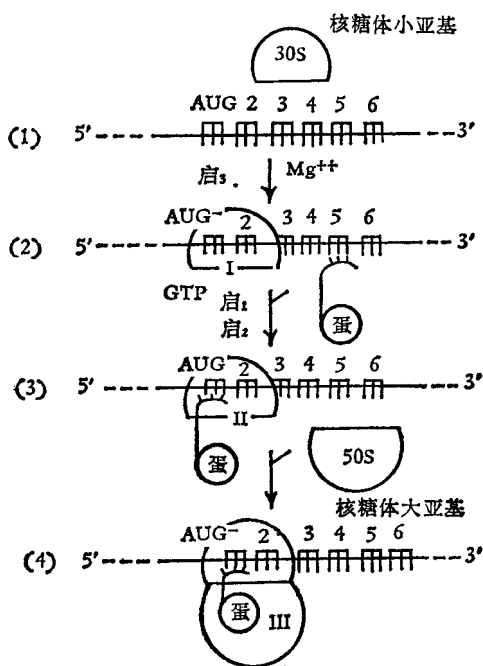





图 74 原核细胞的肽链形成的启动阶段

 代表氨基酸-tRNA； 代表 mRNA 的“三联体”密码子； 代表 tRNA 的反密码子；蛋代表甲酰甲硫氨酸；启₁代表启动因子₁；启₂代表启动因子₂；启₃代表启动因子₃。

原核细胞的启动阶段开始时，由一个小亚基(30S)在启动因子，IF₁，的作用下，与 mRNA 的启动信号 AUG 结合起来，构成一个 30S 小亚基-mRNA 的启动复合体 I [图74(2)]。这时，带有甲酰甲硫氨酸的 tRNA (Met-tRNA_i) 进入启动复合体 I，它在启动因子，IF₁和启动因子，IF₂ 的参与下，通过 tRNA 的反密码子 UAC，认出 mRNA 上的起始密码子 AUG，并与 AUG 相互配对，形成启动复合体 II [图 74 (3)]。随后，大亚基 (50S) 结合到 30S 小亚基上去，形成一个完整的70S 核

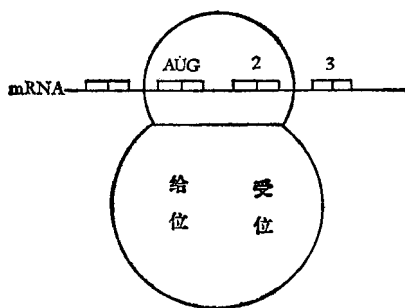


图 75 核糖体大亚基上的“给位”与“受位”

糖体，并与甲酰甲硫氨酸的 tRNA 结合，使启动复合体 II 变为启动复合体 III [图 74 (4)]，从而结束了启动阶段。

这里还要讲清楚的一点是大亚基 (50S) 上有两个附着位置。分别称为氨酰基附着位置(Aminoacyl attachment site “A”)和肽基附着位置 (Peptidyl attachment site “P”)。氨酰基附着位置又称为“受位”(A 位)，肽基附着位置又称为“给位”(P 位)(图 75)。起始的甲

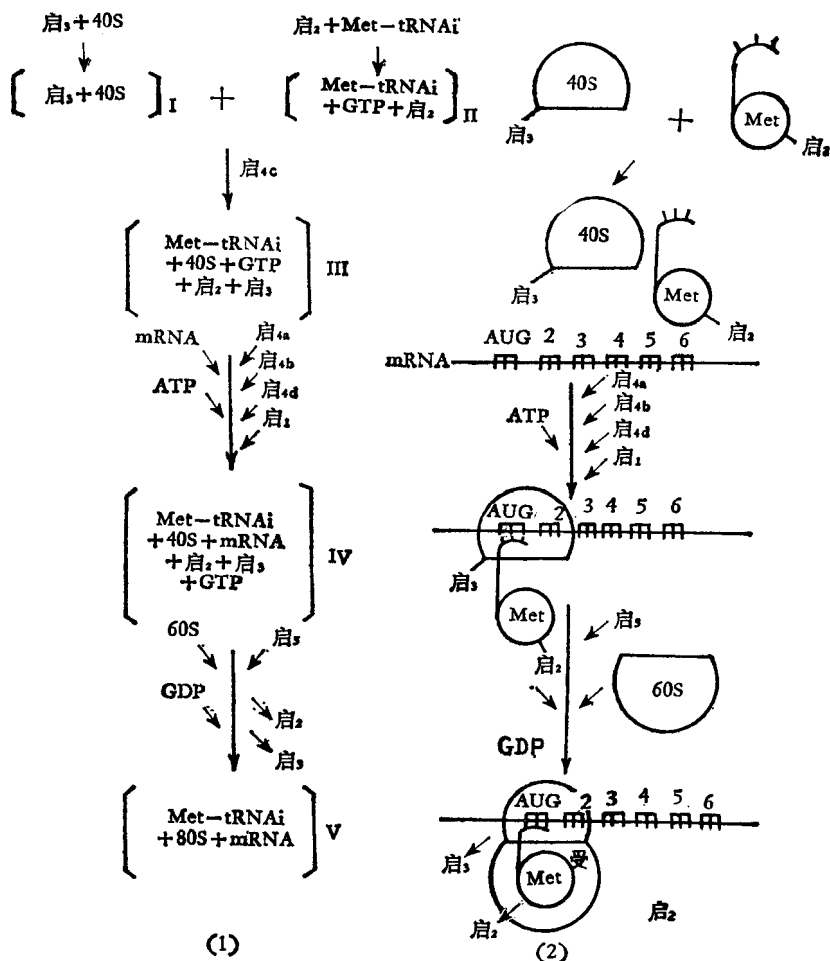


图 76 真核细胞的肽链形成的启动阶段

启₁代表启动因子₁; 启₂代表启动因子₂; 启₃代表启动因子₃; 启_{4a}代表启动因子_{4a}; 启_{4b}代表启动因子_{4b}; 启_{4c}代表启动因子_{4c}; 启_{4d}代表启动因子_{4d}; 启₅代表启动因子₅; 40S 代表真核细胞核糖体小亚基; 60S 代表真核细胞核糖体大亚基; Met-tRNA_i 代表甲硫氨酰-tRNA;

代表 mRNA 的“三联体”密码子; 代表 tRNA 的反密码子; Met 代表甲硫氨酰-tRNA; []_{I-V} 代表 I 到 V 复合物。

- (1) 用文字表示真核细胞的肽链形成启动阶段的示意图。
- (2) 用图表示真核细胞的肽链形成启动阶段的示意图。

酰甲硫氨酸的 tRNA 总是与 50S 大亚基的“给位”相结合的 (参见图 74)。第二个新进入的 tRNA 则是结合在“受位”上的。

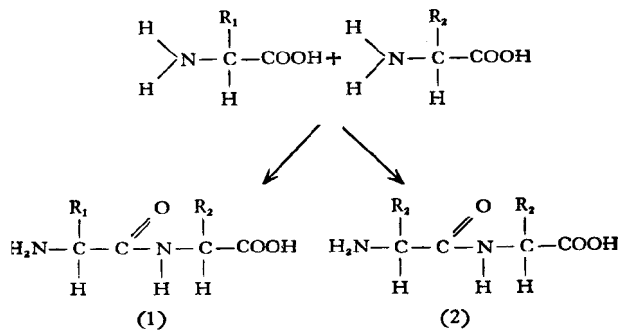
真核细胞的启动阶段比原核要复杂的多。其过程如图 76。

首先, eIF₃ 和 40S 的亚基结合成为一个暂时的复合物 I。随之甲酰甲硫氨酸与 eIF₂ 也结合成暂时的复合物 II, 此步骤需要 GTP 为能源。甲酰甲硫氨酸-

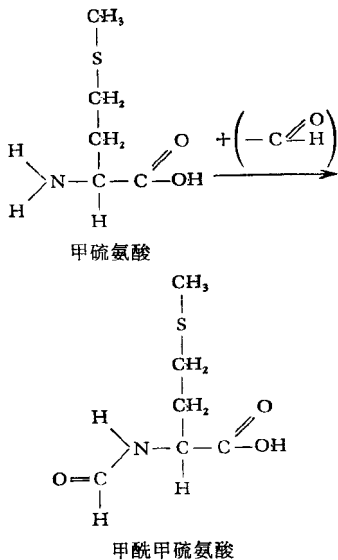
eIF₂ 的复合物 II, 在 eIF₄ 的作用下, 与 eIF₃-40S 亚基的复合物 I 结合形成新的复合物 III。这个新复合物 III 包括五种成份: Met-tRNA_i、40S 亚基、GTP、eIF₂ 和 eIF₃。随后, mRNA 在 eIF_{4a}、eIF_{4b}、eIF_{4d}、eIF₁ 的作用下, 与复合物 III 结合成新复合物 IV。此复合物包括六种成份: Met-tRNA_i、40S 亚基、mRNA、eIF₂、eIF₃ 和 GTP。再下一步是 60S 大亚基在 eIF₅ 的作用下与复合体 IV 中 40S 小亚基结合, 形成 80S 的核糖

体,同时把复合体中的 eIF_2 和 eIF_3 去掉,其中的 GTP 也水解成 GDP 和 P_i ,最后形成复合体 V。复合体 V 是启动阶段的最后产物,所以也称为启动复合物,它的成份为 Met-tRNA_i、80S 核糖体和 mRNA。

这里必须交代一下为什么起始信号 AUG 一定要携带甲酰甲硫氨酸的 tRNA 来识别。这是因为当两个氨基酸通过肽键形成二肽时,它们可以有两种结合方式,一种如下图(1)所示,另一种如下图(2)所示:



现在已经知道蛋白质合成总是以图(1)所示的方式不断地延长肽链(也就是说,新加入的氨基酸,总是以它的氨基与已有的肽链上的自由羧基结合,脱水形成肽键),而不是以图(2)所示的方式延长肽链的。这个现象不是偶然的,而是有道理的。道理在于肽链的起始氨基酸无例外地都是甲酰甲硫氨酸。甲硫氨酸的氨基中的一个氢被甲酰基($-C(=O)-H$)所置换,形成了甲酰甲硫氨酸。如下图所示:



这就是说,甲酰甲硫氨酸就是用甲酰基把甲硫氨酸的氨基封闭住,使它不可能参加形成肽键的生化反应。这样就能保证在蛋白质合成过程中,新加入的

氨基酸逐个地在肽链的羧基端接上去,即永远是以上述图(1)方式延长肽链的(图 77)。

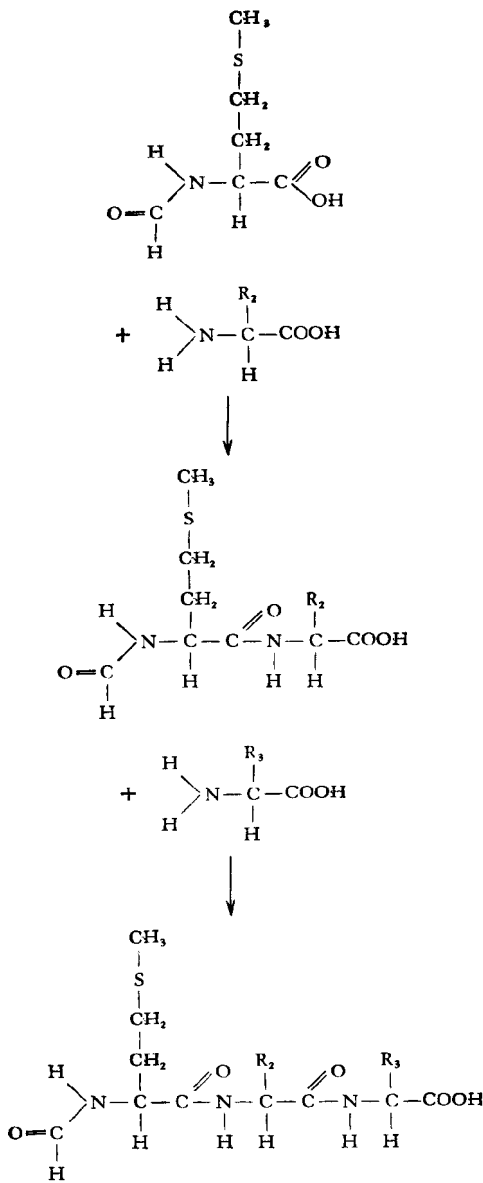


图 77 肽链延长方向的示意图

肽链延长阶段 当第二个带有氨基酸的 tRNA 分子进入启动复合体 III 时,就开始了肽链延长阶段。

这个进入启动复合体 III 的带有某一氨基酸的 tRNA,在一种称为肽链延长因子,EF₁ 的作用下,与核糖体上的“受”位相结合,它的反密码子与其相应的密码子的碱基互补配对,连在 mRNA 上。这样就形成了新的复合体物 IV [图 78 (2)]。此反应过程叫做进位反应。随后,由于肽合成酶(peptide synthetase)的作用,“给”位上的甲酰甲硫氨酸的 tRNA 上的甲酰甲硫

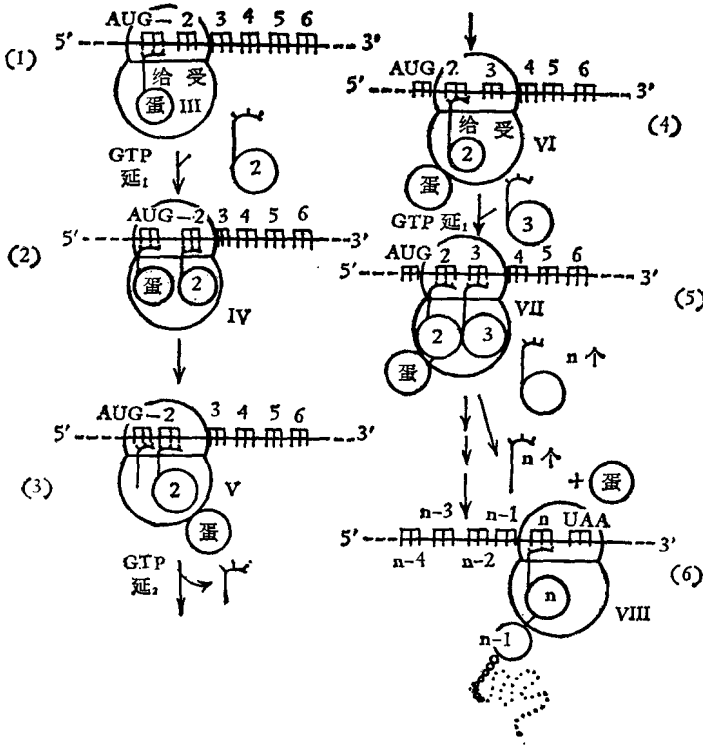




图 78 肽链形成的延长阶段

延₁代表肽链延长因子₁; 延₂代表肽链延长因子₂; n 代表组成肽链的氨基酸个数;  代表 tRNA;  代表氨基酰-tRNA; 给代表“给位”受代表“受位”

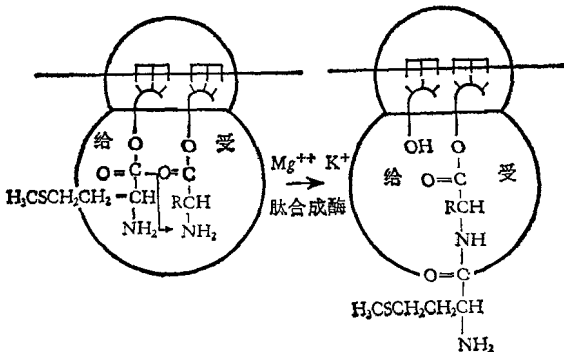


图 79 肽键的形成

III 代表 mRNA 的密码子;

IV 代表 tRNA 的反密码子

氨酸与“受”位上的 tRNA 所带的氨基酸形成肽键(图 79),使甲酰甲硫氨酸脱离自己的“给”位上的 tRNA,挂

连到“受”位上的 tRNA 上去,形成复合物 V [图 78(3)]。这个反应过程叫做转位反应。“给”位置上 tRNA 失去了氨基酸后,就从核糖体上脱落下来。随后,核糖体向 mRNA 的 3' 端挪动相当一个密码子(三个核苷酸)的距离,使原来在“受”位上带有二个氨基酸的 tRNA 由“受”位移至“给”位上,同时使空出来的“受”位准确地定位于第三个密码子上。这样就产生了复合物 VI。此反应过程称为移位反应。移位反应需要在肽链延长因子, EF₂ 参加下完成 [图 78(3)]。肽链延长因子₁和肽链延长因子₂都是蛋白质性质的。

此后,肽链上每增加一个氨基酸残基,就按着下列四个过程进行:(1)新的氨基酰 tRNA 进入“受”位;(2)经转位形成新的肽键;(3)转肽后“给”位上的 tRNA 脱落;(4)在核糖体挪动一个密码子距离的同时,原处于“受”位上带有肽链的 tRNA 随之转到“给”位上去。以上几个反应过程一次次地重复,直至肽链增长到必要的长度[图 78(6)]。在肽链延长阶段中的各个反应都需要有 GTP 和 Mg⁺⁺的参与才能顺利进行。肽链延长到一定长度时,启动的甲酰甲硫氨酸从肽链上被水解下来,使肽链启动端恢复正常[图 78(5)(6)]。

真核细胞肽链延长阶段的各步骤与原核细胞肽链延长阶段的各步骤是相似的,这里就不赘言了。

终止阶段 从复合物 VIII 可以看到,“受”位上已出现终止信号 UAA (也可以是 UAG 或 UGA)。多肽链合成已接近完毕。从此时起,转入终止阶段。终止信号可以被终止因子(RF)所识别,并使其进入“受”位与终止信号相结合,形成复合物 IX [图 80(2)]。终止因子使肽合成酶失去转肽作用,转而使肽合成酶起水解作用,把“给”位上的 tRNA 所携带的多肽与 tRNA 之间的酯键水解断开。于是完整的多肽链即从核复合物 IX 释放出来,形成复合物 X [图 80(3)]。

最后,核糖体与 mRNA 分开,同时携带肽链最后一个氨基酸的 tRNA 也从核糖体上脱落下来。于是复合物 X 解离不复存在了。脱落下来的核糖体,在启动因子₃的参与下,分解成为大与小亚基。它们重新进入新的蛋白质合成过程,起着自己的作用[图 80(4)]。这个阶段在真核细胞与原核细胞之间是相似的。

总起来说,运送活化氨基酸的 tRNA 分子中的反密码子,与 mRNA 分子中的密码子对应配对结合起来,从而使 tRNA 运送的活化氨基酸按一定排列顺序,

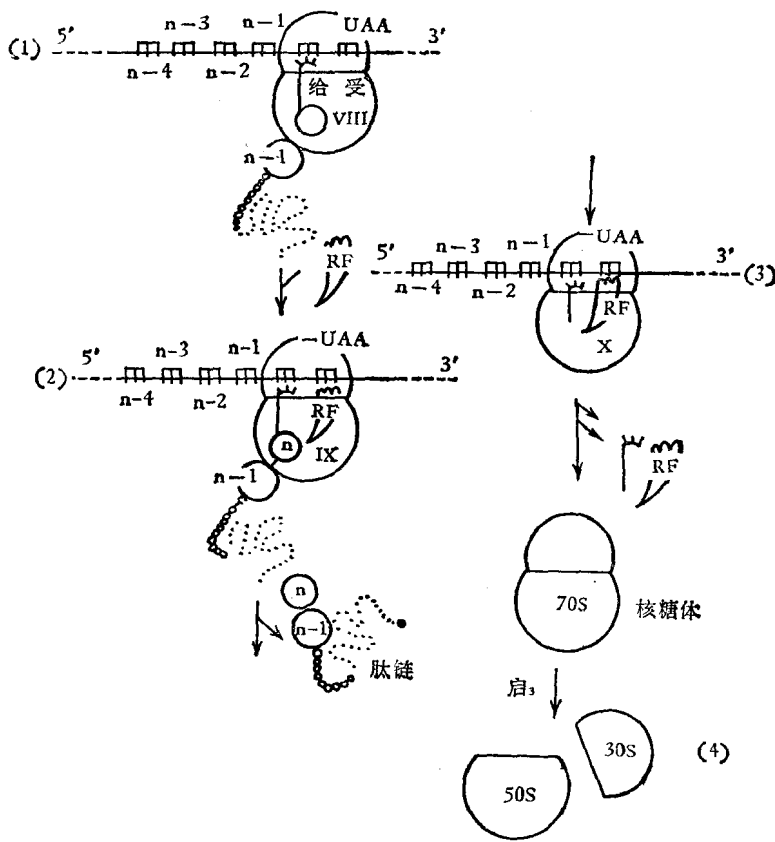


图 80 肽链形成的终止阶段

RF 代表终止因子

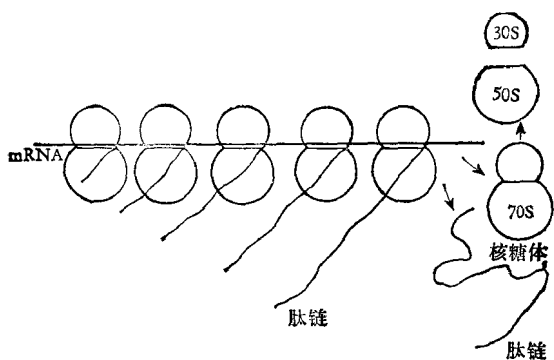


图 81 多聚核糖体上的转译过程

在核糖体上井然有序地串联起来,缩合成肽链,这个过程即是转译过程。

在活细胞中,每条 mRNA 分子上都带有许多核糖体。这样的一群核糖体成串排列在一条 mRNA 分子上,称为多聚核糖体。例如血红蛋白的多肽链,每条大约含 150 个氨基酸,相当于 mRNA 中 45 个核苷酸,在这条 mRNA 分子上,同时有 5—6 个核糖体。

多聚核糖体上的每个核糖体从 mRNA 一端的起始点开始合成蛋白质,当它们沿着 mRNA 行进时,转录出来越来越长的多肽链,直到它们到达 mRNA 的另一端的终止点时,才从 mRNA 上脱落下来。同时释放出多肽链。因此,多聚核糖体上每一个核糖体上都携带一条处于不同阶段合成的肽链。离起点最近的核糖体上的肽链是最短的。离终点最近的核糖体上的肽链最长。结果,这样一个 mRNA 分子上同时可转录几条同样性质的肽链(图 81)。(待 续)