

# 第四讲 生物信息的传递

## (下) 从**mRNA**到蛋白质

# 2012年诺贝尔化学奖



罗伯特·莱夫科维茨

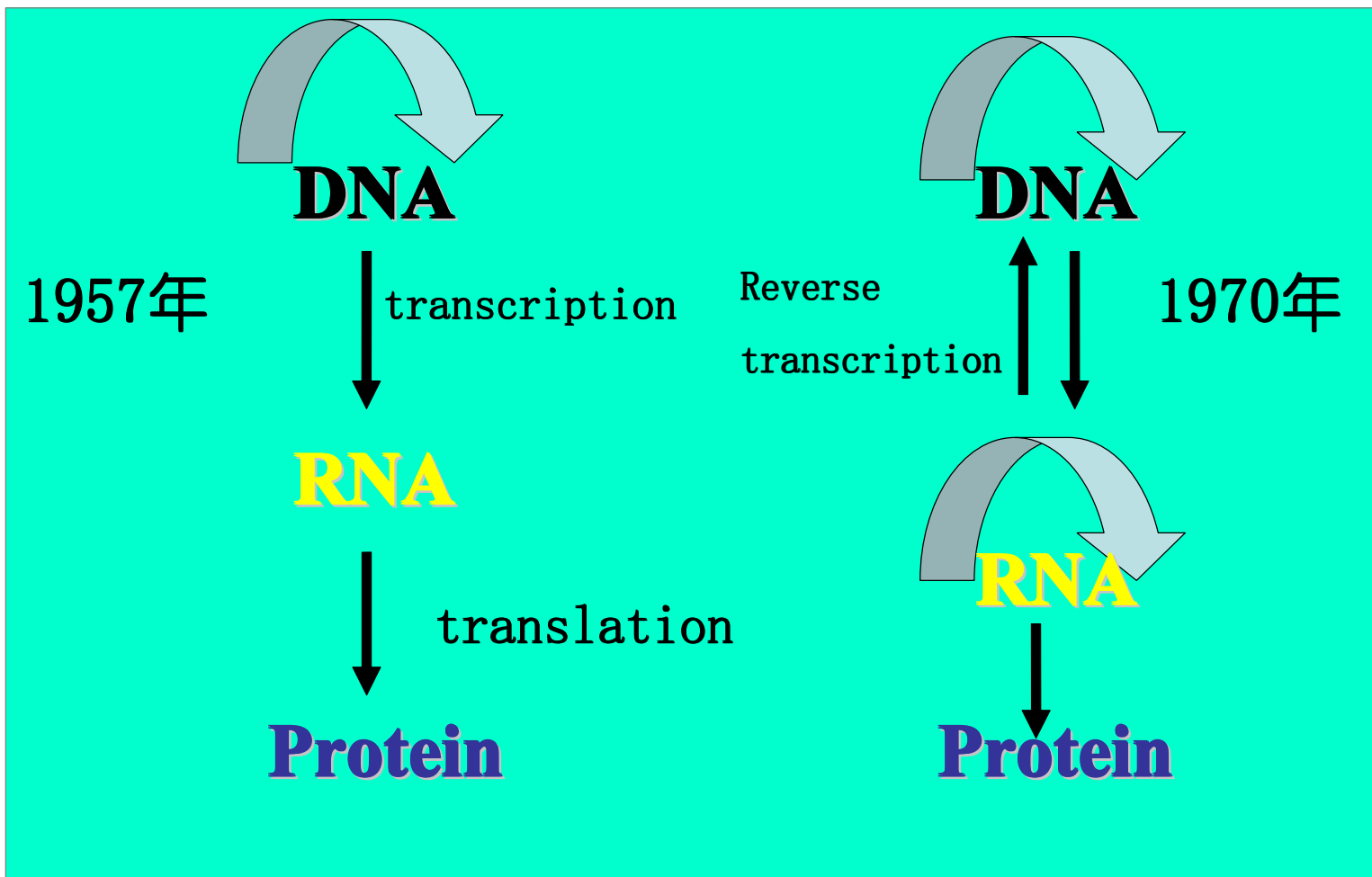
霍华德·休斯医学研究所  
和杜克大学医学中心  
医学和生物化学教授

布赖恩·科比尔卡

斯坦福大学医学院  
医学及分子和  
细胞生理学教授

对**G**蛋白偶联受体的研究所获成果具有“奠基意义”，揭示了受体中最大家族“**G**蛋白偶联受体”的内部运作机制。

# Crick的中心法则



- 蛋白质是生物信息通路上的**终产物**，一个活细胞在任何发育阶段都需要数千种不同的蛋白质。

- 活细胞内时刻进行着各种蛋白质的合成、修饰、运转和降解反应。

- **翻译**是指将**mRNA**链上的核苷酸从一个特定的起始位点开始，按每**3**个核苷酸代表一个氨基酸的原则，依次合成一条多肽链的过程。

# 蛋白质的生物合成

- 场所：核糖体；
- 模板：**mRNA**；
- 转移**RNA(tRNA)**是模板与氨基酸之间的接合体。
- 蛋白质合成需要多种蛋白质、酶和其他生物大分子的参与(**50% of the cell's dry weight**)。
- 蛋白质合成是一个需能反应(**80-90% of the cell's energy**)。

## 遗传密码——三联子

贮存在**DNA**上的遗传信息通过**mRNA**传递到蛋白质上，**mRNA**与蛋白质之间的联系是通过**遗传密码**的破译来实现的。

**遗传密码：**

**mRNA**上每**3**个核苷酸翻译成多肽链上的一个氨基酸，这**3**个核苷酸就称为一个密码子（三联子密码）。

# The genetic code is triplet

## -- Key terms

**Codon** is a triplet of nucleotides that represents an amino acid or a termination signal.

**Genetic code** is the correspondence between triplets in DNA (or RNA) and amino acids in protein.

**Initiation codon** is a special codon (usually AUG) used to start synthesis of a protein.

**ORF** is an open reading frame; presumed likely to code for a protein.

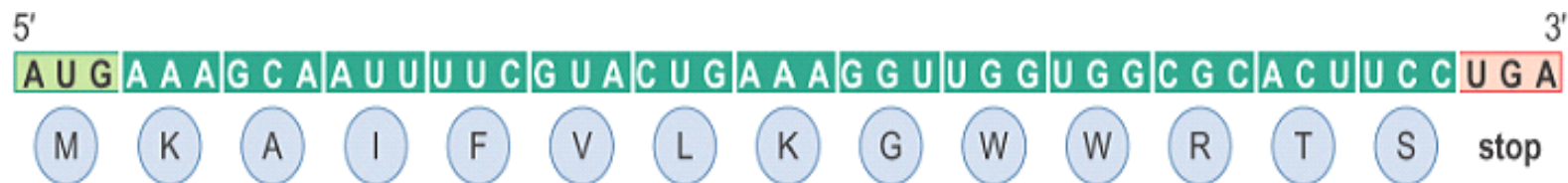
**Reading frame** is one of three possible ways of reading a nucleotide sequence as a series of triplets.

**Termination codon** is one of three (UAG, UAA, UGA) that causes protein synthesis to terminate.



# Polypeptide chains are specified by ORF

- The protein coding region of each mRNA is composed of a contiguous, non-overlapping string of codons called an **opening reading frame (ORF)**.
- Each ORF begins with a **start codon** and ends with a **stop codon**.



一个**RNA**分子可以以三种可能的阅读框进行翻译

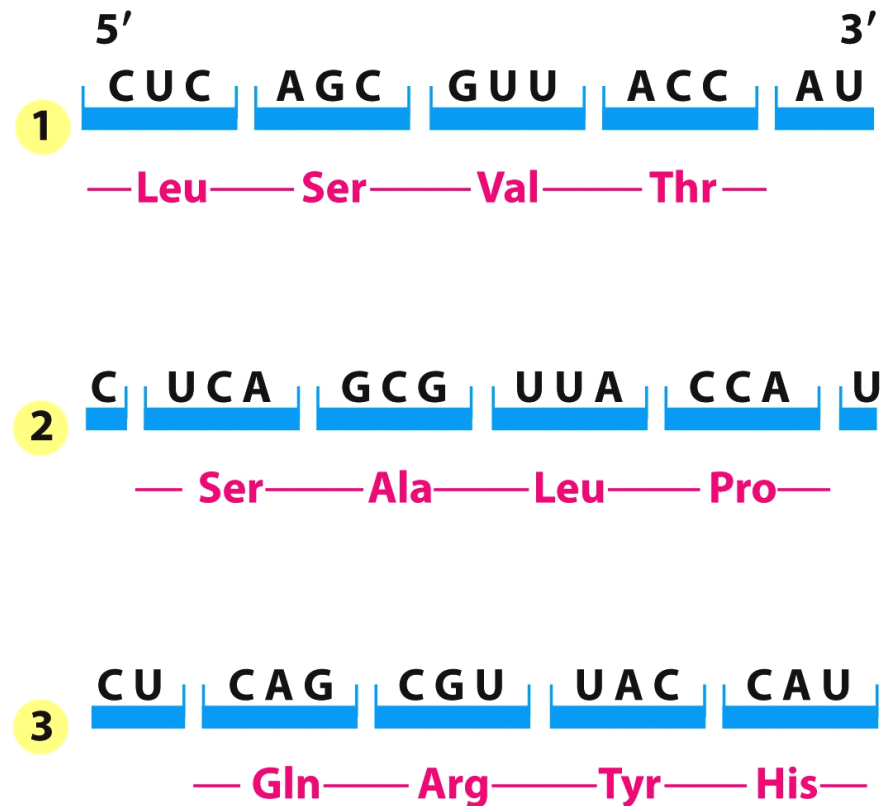
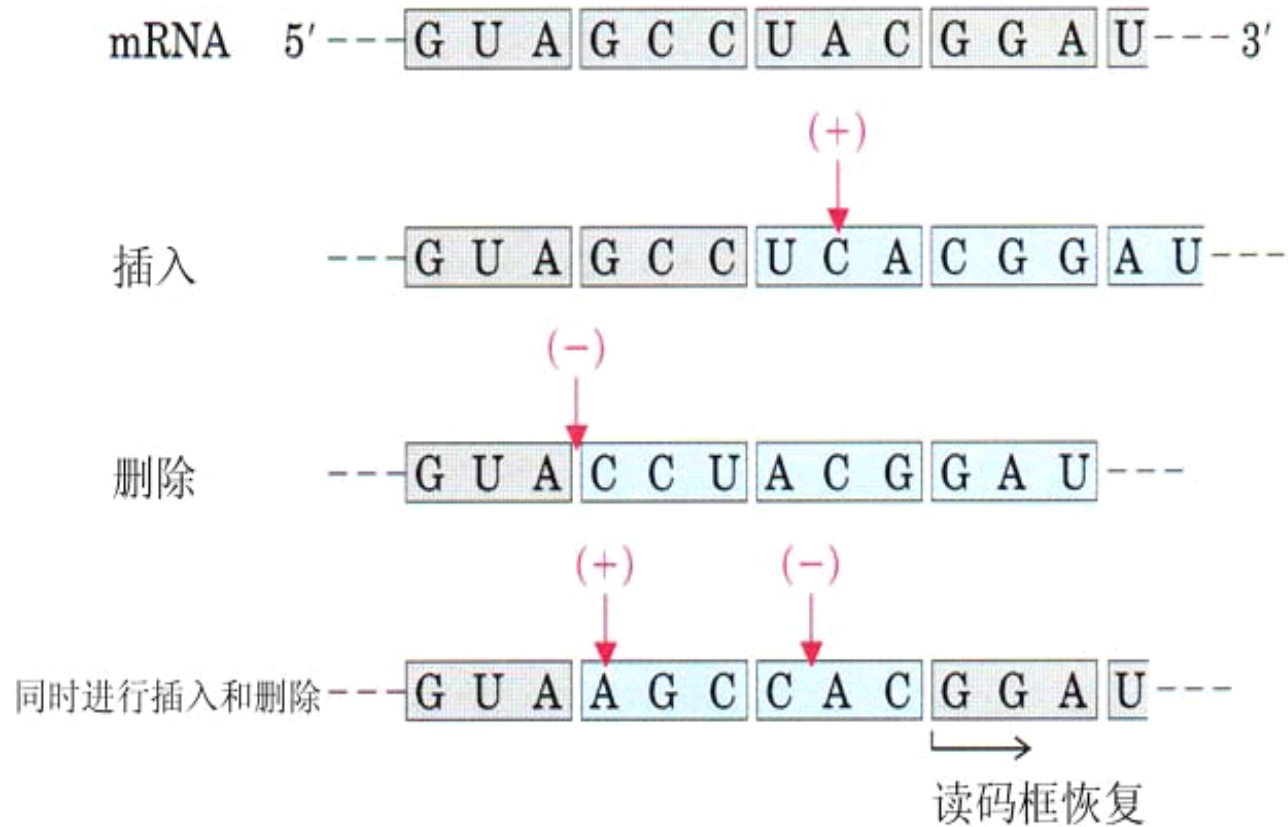


Figure 7-25 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

只有一种阅读框编码实际信息

## 三联子密码及其破译

若以**3**个核苷酸代表一个氨基酸，  
有 **$4^3=64$** 种密码子，满足了编码**20**种氨基酸的需要。



一次删去5'-GUA  $\begin{matrix} (-) & (-) & (-) \\ \downarrow & \downarrow & \downarrow \end{matrix}$  UAC GGA U.....3'

读码框不变

用核苷酸的插入或删除实验证明**mRNA**模板上每三个核苷酸组成一个密码子。

## 三联子密码的破译

- 制备*E.coli*无细胞合成体系，以均聚物、随机共聚物和特定序列的共聚物模板指导多肽的合成。
- 核糖体结合技术。

***E. coli* 无细胞蛋白合成体系  
(cell-free protein synthesizing system)**

- 1. Cell lysate treated by DNase to prevent new transcription**
- 2. Add homopolymeric synthetic mRNAs [poly(A)] + 19 cold (non-labeled) and one labeled aminoacids**
- 3. *In vitro* translation**
- 4. Analyze the translated polypeptides**

## 均聚物为模板

**Nirenberg**把多聚（**N**）作为模板加入到无细胞体系时发现，新合成的多肽链是：

**poly(U) ---UUU--- polyphenylalanine**

**poly(C) ---CCC--- polyproline**

**poly(A) ---AAA--- polylysine**

**poly(G) --- did not work because of  
the complex secondary structure**

## 随机共聚物为模板

**Poly(UG)---poly(Cys-Val):**

**5'.....UGU GUG UGU GUG UGU GUG.....3'**

无论读码从**U**开始还是从**G**开始，都只能有**UGU(Cys)**及**GUG(Val)**两种密码子。



## 特定序列的共聚物为模板

- 只含**A、C**的共聚核苷酸作模板：  
→ **8**种三联子编码的 **Asn、His、Pro、Gln、Thr、Lys** 6种氨基酸。
- 以多聚 (**UUC**) 为模板  
→ **UUC**苯丙氨、**UCU**丝氨酸、**CUU**亮氨酸

## 核糖体结合技术

- 以人工合成的三核苷酸如**UUU**、**UCU**、**UGU**等为模板，在含核糖体、**AA-tRNA**的适当离子强度的反应液中保温后通过**硝酸纤维素滤膜**。
- 游离的**AA-tRNA**因相对分子质量小能自由过膜，与<sup>14</sup>C标记模板对应的**AA-tRNA**能与核糖体结合，体积超过膜上的微孔而被滞留。

三核苷酸密码子能使特定的氨基酰-tRNA结合到核糖体上

密码子	与核糖体相结合的 <sup>14</sup> C标记的氨基酰-tRNA		
	<b>Phe-tRNA<sup>Phe</sup></b>	<b>Lys-tRNA<sup>Lys</sup></b>	<b>Pro-tRNA<sup>Pro</sup></b>
<b>UUU</b>	<b>4.6 *</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>AAA</b>	<b>0</b>	<b>7.7</b>	<b>0</b>
<b>CCC</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3.1</b>

\*数字代表特定氨基酰tRNA与带有模板三核苷酸的核糖体相结合的效率。

# 遗传密码的性质

1. 密码的连续性(**commaless**)
2. 密码的简并性(**degeneracy**)
3. 密码的普遍性(**universality**)
4. 密码的特殊性(**specificity**)
5. 密码子与反密码子的相互作用

## 密码的连续性(**commaless**)

- 三个核苷酸编码一个氨基酸。
- 三联子密码是非重叠(**non-overlapping**)和连续的(**commaless**)。

## 密码的简并性(**degeneracy**)

- 4**种核苷酸可组成**64**个密码子:
- **61**个是编码氨基酸的密码子;
  - **3**个即**UAA**、**UGA**和**UAG**是终止密码子



由一种以上密码子编码同一个氨基酸的现象称为**简并** (**degeneracy**)

		Second position							
		U	C	A	G				
First position (5' end)	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U	C		
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys			A	
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } Stop	UGA } Stop				G
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Stop	UGG } Trp				
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U	C		
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg			A	
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg				G
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg				
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U	C		
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser			A	
		AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg				G
		AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg				
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U	C		
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly			A	
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly				G
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly				

## 通用遗传密码及相应的氨基酸

除色氨酸 (**UGG**) 只有一个密码子外，其他氨基酸都有一个以上的密码子：

- **9**种氨基酸有**2**个密码子，
- **1**种氨基酸有**3**个密码子，
- **5**种氨基酸有**4**个密码子，
- **3**种氨基酸有**6**个密码子。

### 同义密码子

**(synonymous codon):**  
对应于同一氨基酸的密码子

## 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 degeneracy** describes the lesser effect on codon meaning of the nucleotide present in the third codon position.

Third base relationship	Third bases with same meaning	Codon Number
third base irrelevant	U, C, A, G	32
purines differ	U or C	14
from pyrimidines	A or G	10
unique	U, C, A	3
definitions	G only	2



# 突变的影响

## 1. Transition (转换):

purine  $\Leftrightarrow$  purine or

pyrimidine  $\Leftrightarrow$  pyrimidine

At third position: no effect except for

Met (AUG)  $\Leftrightarrow$  Ile (AUA, AUC, AUU):

Trp (UGG)  $\Leftrightarrow$  stop (UGA)

At second position: results in similar chemical type of amino acids.

# 突变的影响

## 2. Transversions (颠换):

purine  $\Leftrightarrow$  pyrimidine

**At third position:** over half have no effect and result in a similar type of amino acid.

Asp (GAU, GAC)  $\Leftrightarrow$  Glu (GAA, GAG)

**At second position:** change the type of amino acid.

In the first position, both transition and transversion **specify a similar type** of amino acid, and **in a few cases it is the same amino acid**

**(Leu: CUA or UUA).**

## 起始密码子和终止密码子

**AUG**→甲硫氨酸及起始密码子

**GUG**→缬氨酸及起始密码子

**UAA**→终止密码子(Ochre)

**UAG**→终止密码子(Amber)

**UGA**→终止密码子(Opal)

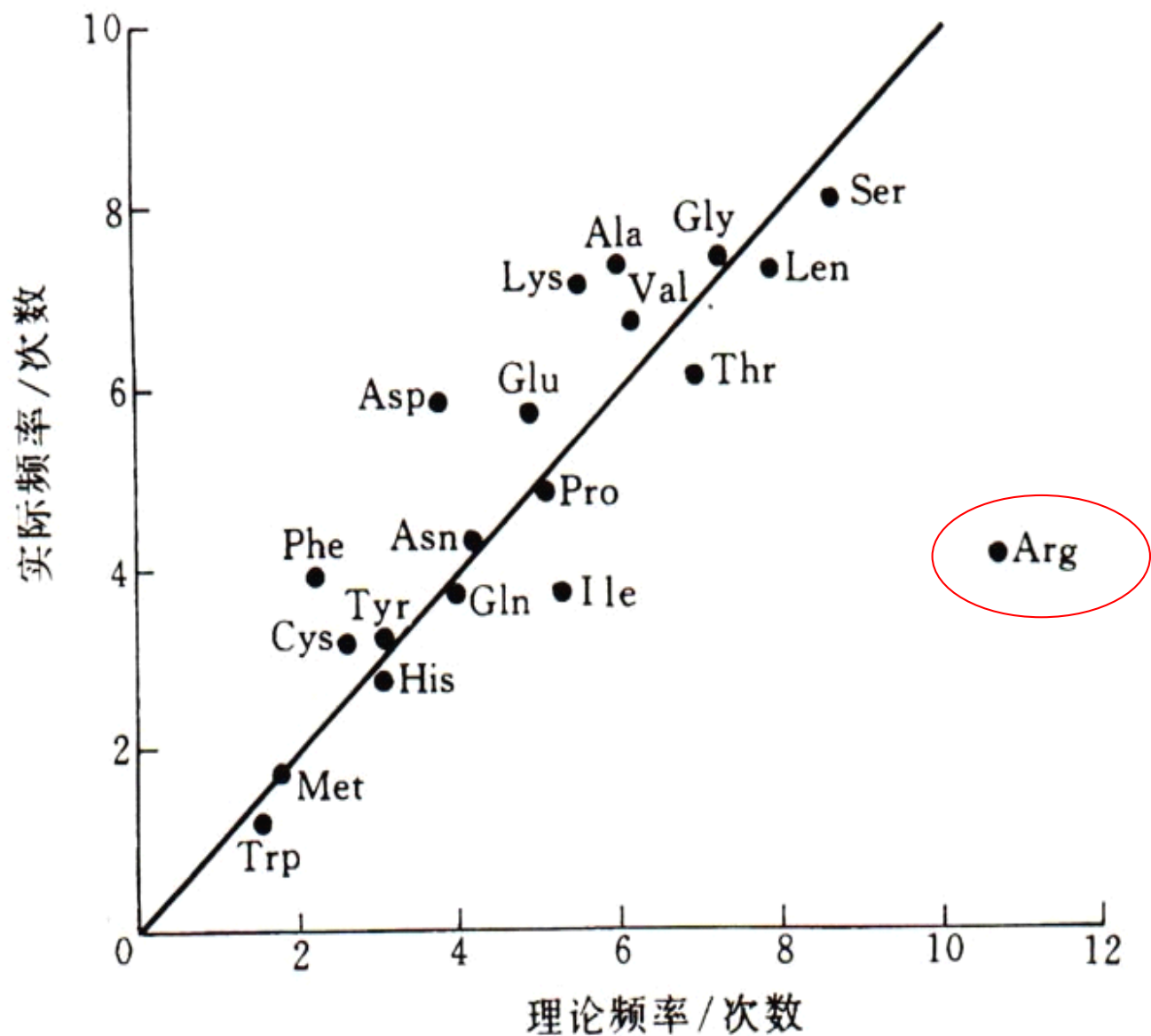


图4-3 除了 Arg 以外，编码某一特定氨基酸的密码子个数  
与该氨基酸在蛋白质中的出现频率是相吻合的

		Second position						
		U	C	A	G			
First position (5' end)	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U	Third position (3' end)	
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys			C
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } Stop	UGA } Stop			A
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Stop	UGG } Trp			G
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U		
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C		
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A		
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G		
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U		
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C		
		AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A		
		AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G		
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U		
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C		
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A		
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G		

## 密码的普遍性

生物界基本共用同一套遗传密码。

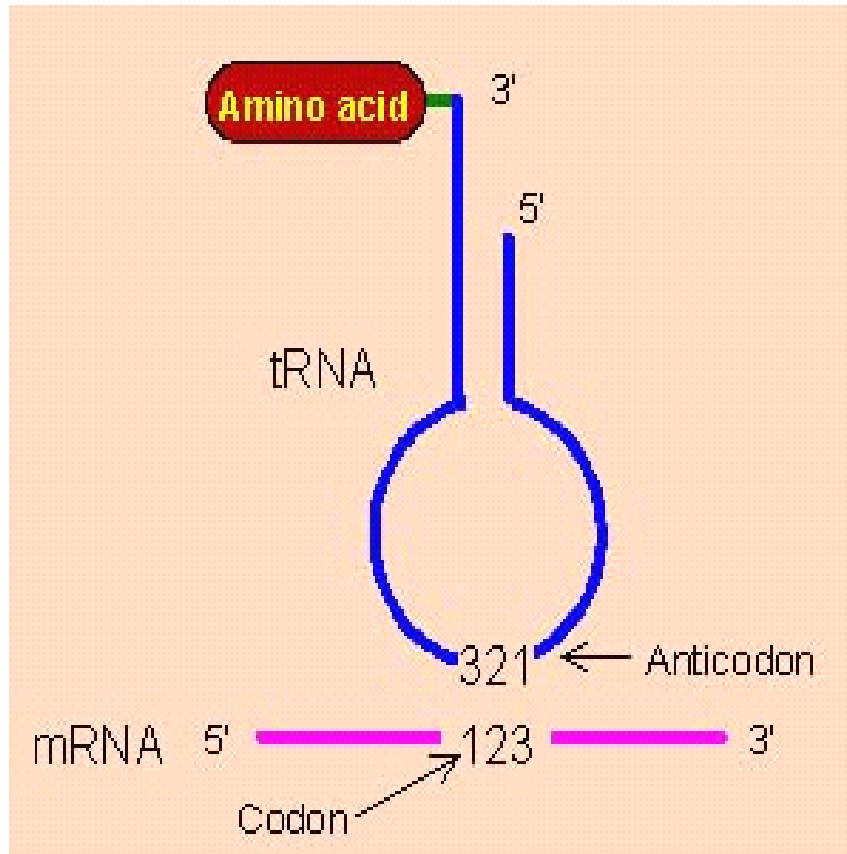
## The standard codons are true for most organisms, but not for all

### 密码的特殊性

Codon	Usual Use	Alternate Use	Where Alternate Use Occurs
AGA AGG	Arg	Stop, Ser	Some animal mitochondria, some protozoans
AUA	Ile	Met	Mitochondria
CGG	Arg	Trp	Plant mitochondria
CUU CUC CUA CUG	Leu	Thr	Yeast mitochondria
AUU GUG UUG	Ile Val Leu	Start ( <i>N</i> -fMet)	Some prokaryotes <sup>#</sup>
UAA UAG	Stop	Glu	Some protozoans
UGA	Stop	Trp Selenocysteine	Mitochondria, mycoplasmas <i>E. coli</i> <sup>#</sup>

<sup>#</sup>Depends on context of message, other factors

# 密码子与反密码子的相互作用



**tRNA** 的反密码子在核糖体内是通过碱基的 **反向配对** 与 **mRNA** 上的密码子相互作用的。

Codon 5' A C G 3'

Anticodon 3' U G C 5'

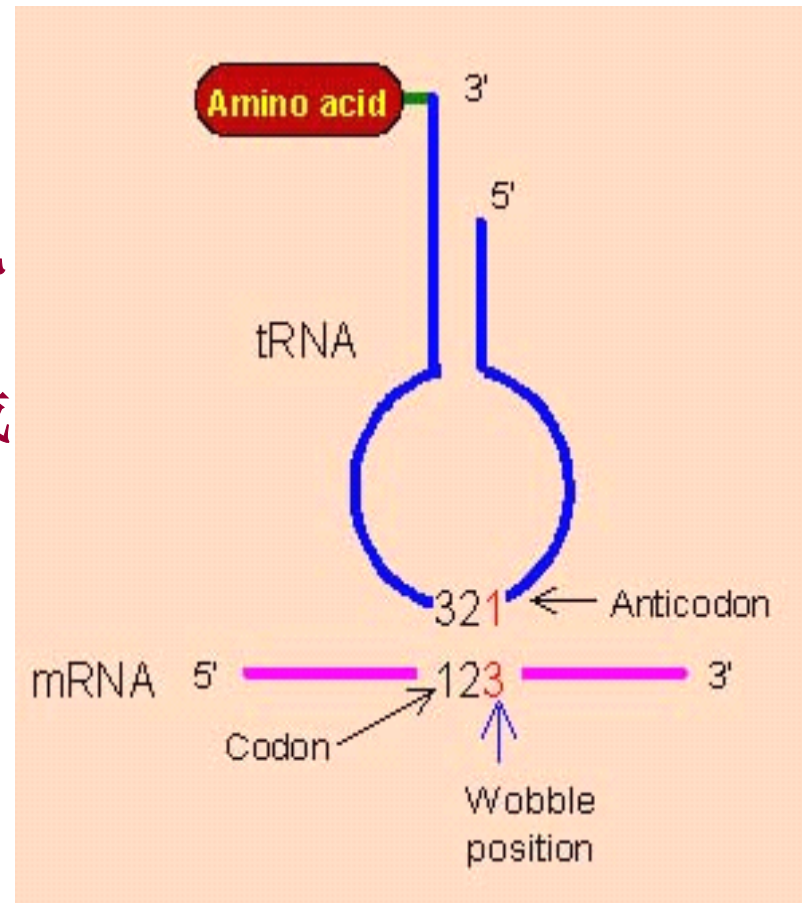
is usually written as codon ACG/anticodon CGU,  
ACG and CGU





# Wobble hypothesis

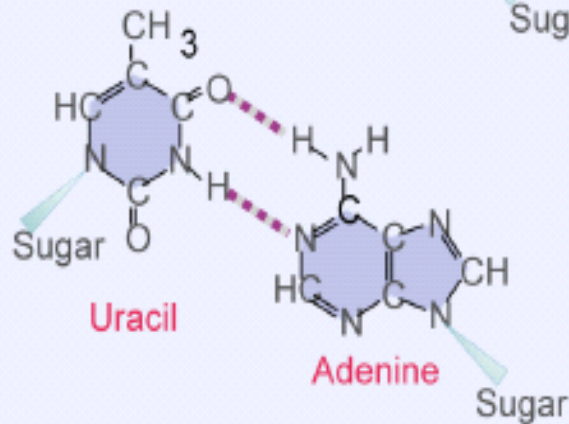
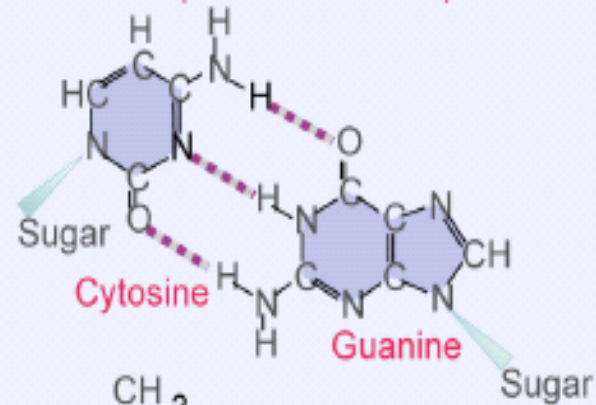
1966年,Crick提出摆动假说(wobble hypothesis), 解释了反密码子中某些稀有成分(如I)的配对, 以及许多氨基酸有2个以上密码子的问题。



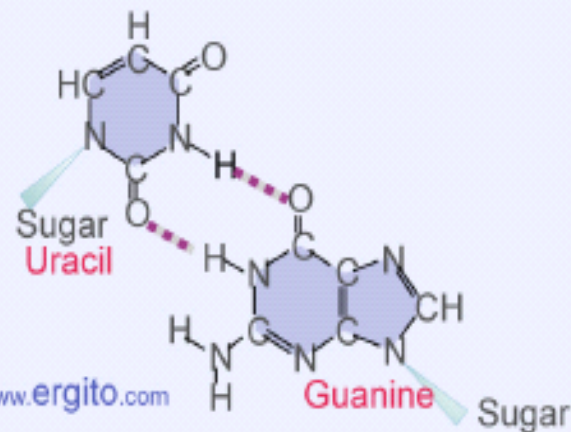
5'-anticodon base is able to undergo more movement than the other two bases and can thus form non-standard base pairs as long as the distances between the ribose units are close to normal.

## G-U pairs form at the third codon base

Standard base pairs occur at all positions



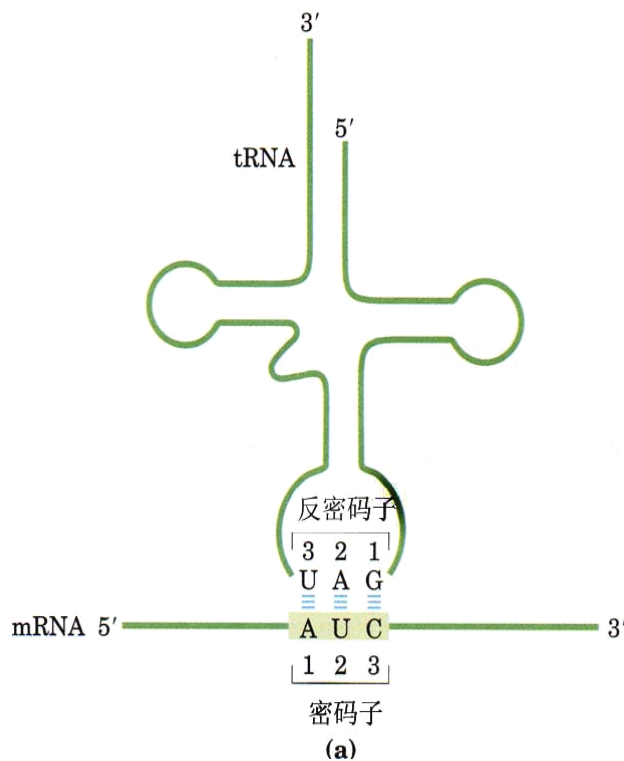
G-U wobble pairing occurs only at third codon position



Wobble in base pairing allows G-U pairs to form between the third base of the codon and the first base of the anticodon.

# 密码子与反密码子的配对

- 前两对严格遵守碱基配对原则
- 第三对碱基有一定的自由度，可以“摆动”，因而使某些tRNA可以识别1个以上的密码子。



Base in 5' Anticodon	in 3' Codon
<b>G</b>	<b>U or C</b>
<b>C</b>	<b>G</b>
<b>A</b>	<b>U</b>
<b>U</b>	<b>A or G</b>
<b>I</b>	<b>A, U, or C</b>



一个tRNA究竟能识别多少个密码子是由反密码子的第一位碱基的性质决定的。

多个密码子同时编码一个氨基酸，凡是第一、二位碱基不同的密码子都对应于各自独立的**tRNA**。

- 原核生物中大约有**30-45种tRNA**,
- 真核细胞中可能存在**50种tRNA**。

# tRNA

- 为每个三联密码子翻译成氨基酸提供了**接合体**,
- 为准确无误地将所需氨基酸运送到核糖体上提供了**运送载体**。



又被称为**第二遗传密码**

# tRNA

- tRNA一级结构(Primary Structure)
- tRNA二级结构(Secondary Structure)
- tRNA三级结构(Tertiary Structure)
- tRNA的功能

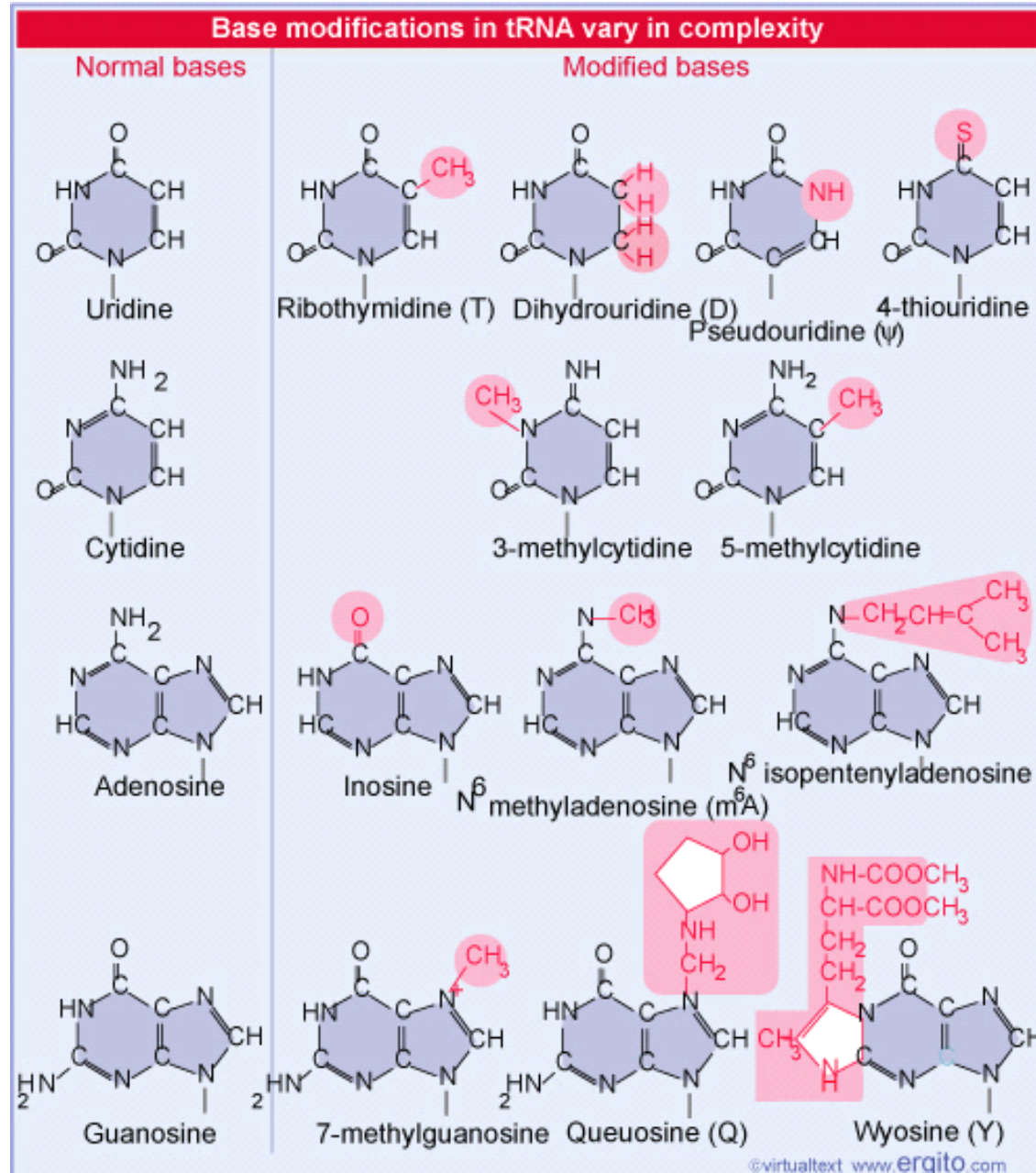
## tRNA一级结构(primary structure)

- 长度: **60-95 nt (commonly 76)**
- 残基: **15** 个 invariant(恒定) 和 **8** 个 semi-invariant(半恒定). **invariant** 和 **semi-variant** 核苷的位置在二级结构和三级结构中起着重要的作用。

### 含有修饰碱基(Modified bases):

- 有时一个tRNA分子的 **20%** 的碱基是经过修饰的。
- 已发现有超过**50** 种不同类型的修饰碱基。

# tRNA中所有4种碱基都能被修饰

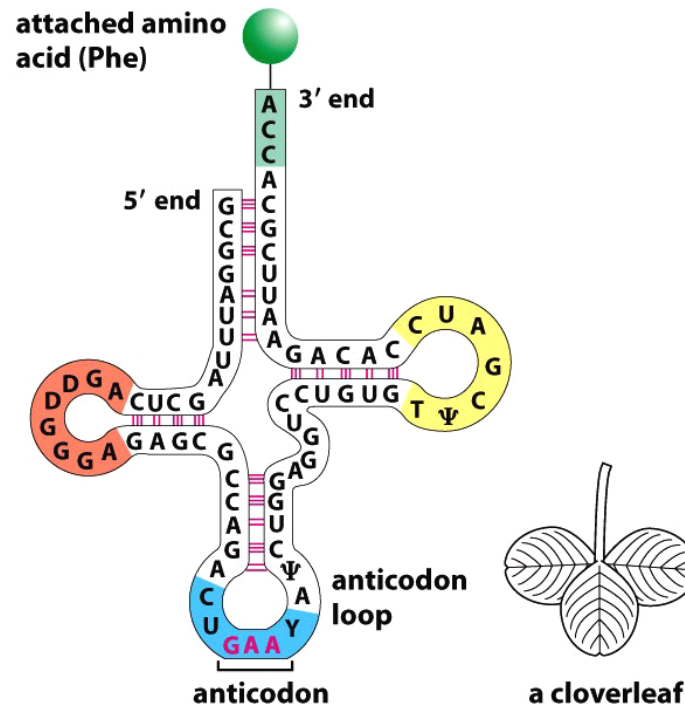




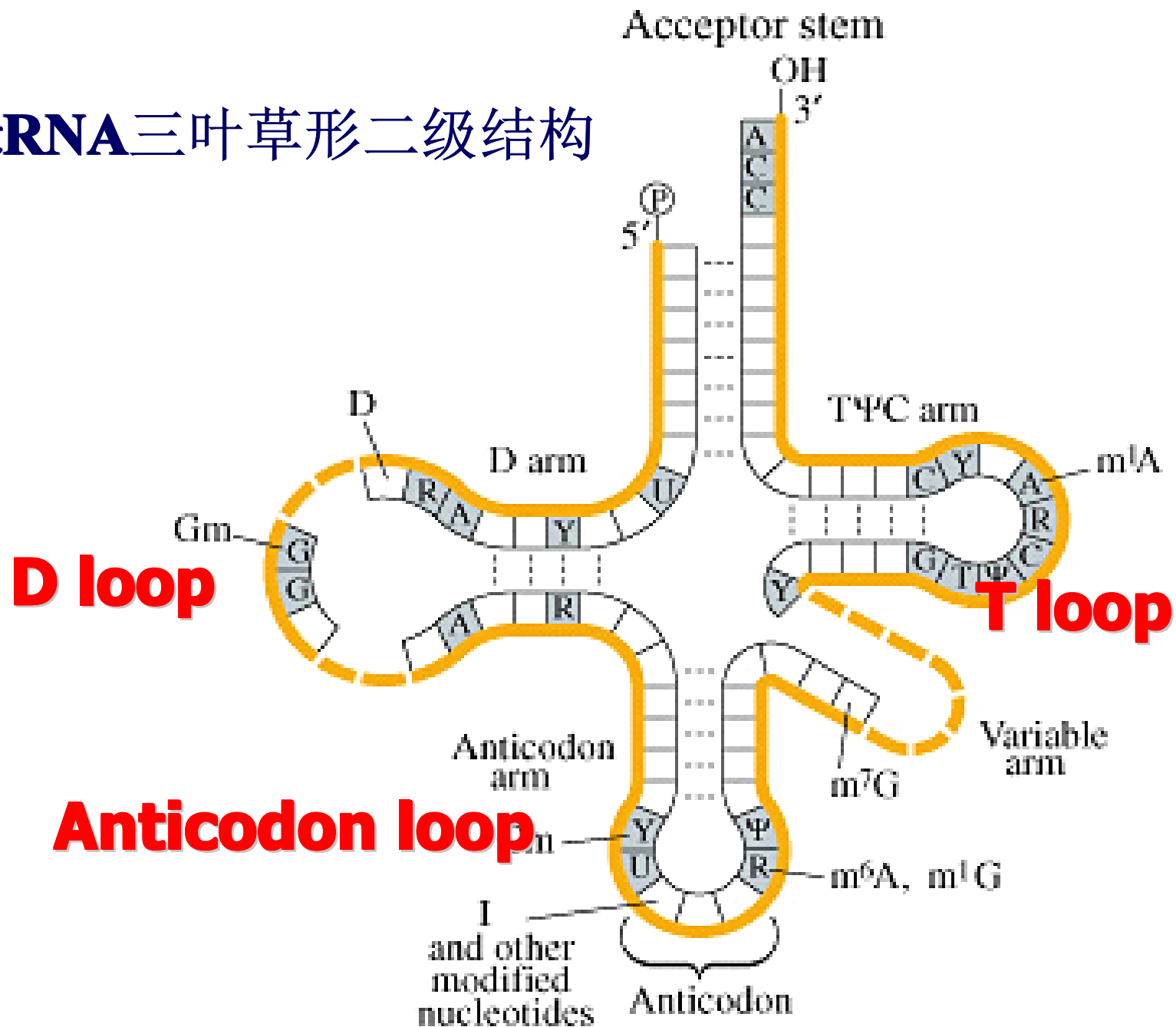
# tRNA二级结构(secondary structure)

不同tRNA在结构上存在大量的共性，由小片段碱基互补配对形成三叶草形分子结构：

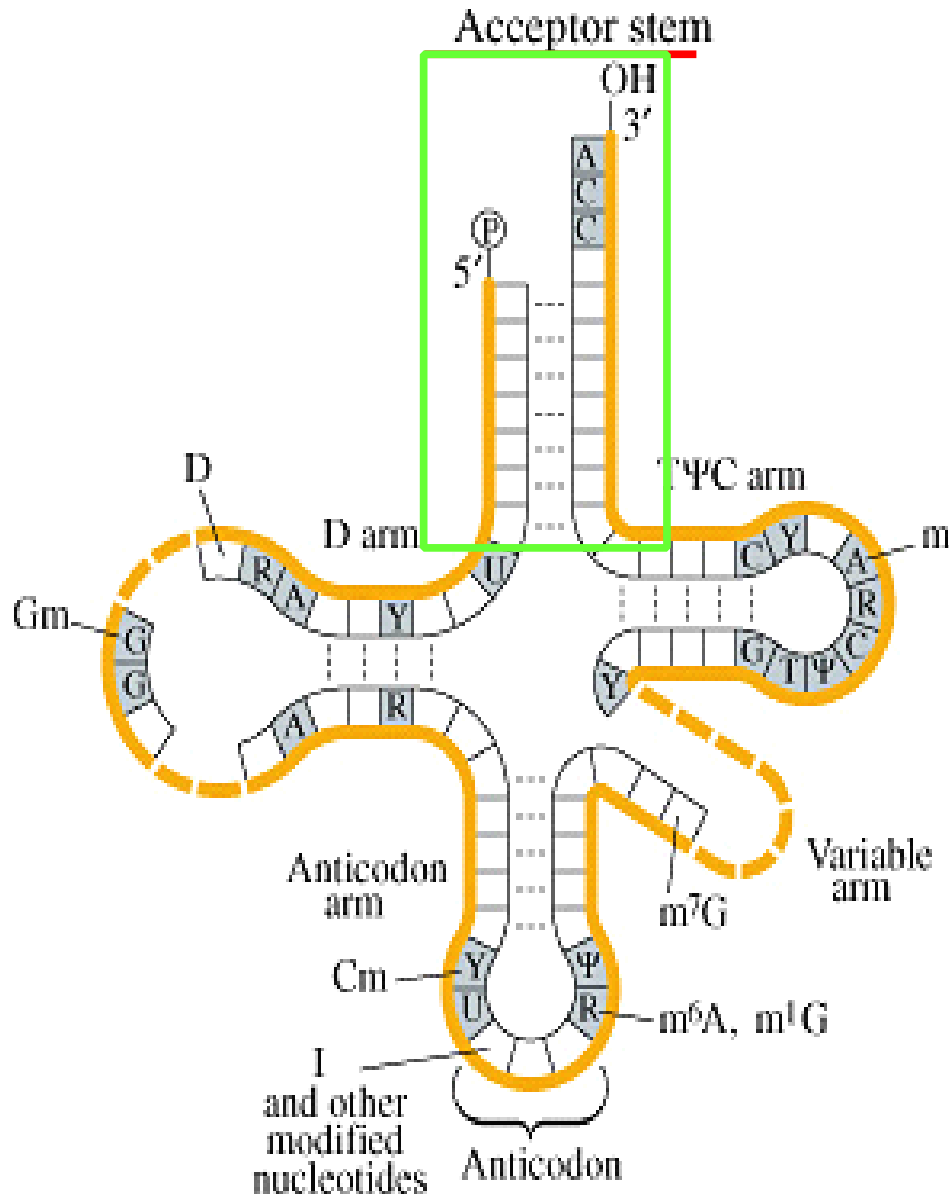
- 4条手臂(arm or stem)
- 3个环(loop)



# tRNA三叶草形二级结构



# Amino acid acceptor stem



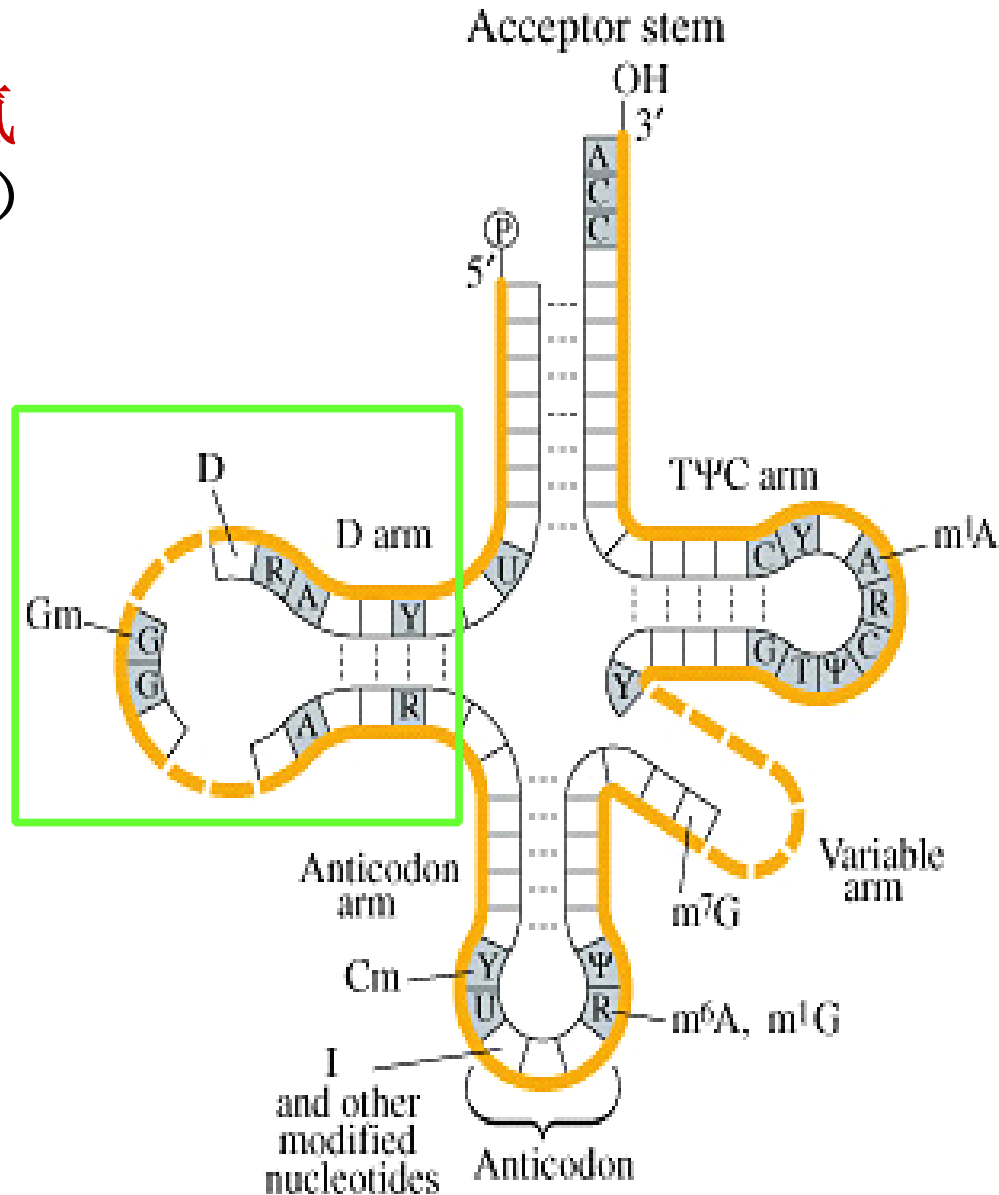
- 受体臂（**acceptor arm**）由链两端序列配对形成的杆状结构和3'端未配对的3~4个碱基所组成。

- 其3'端的最后3个碱基序列永远是**CCA**，最后一个碱基的3'或2'自由羟基（**—OH**）可以被氨酰化。

# D-arm and D-loop

**D**臂是根据它含有二氢尿嘧啶(dihydrouracil)命名的。

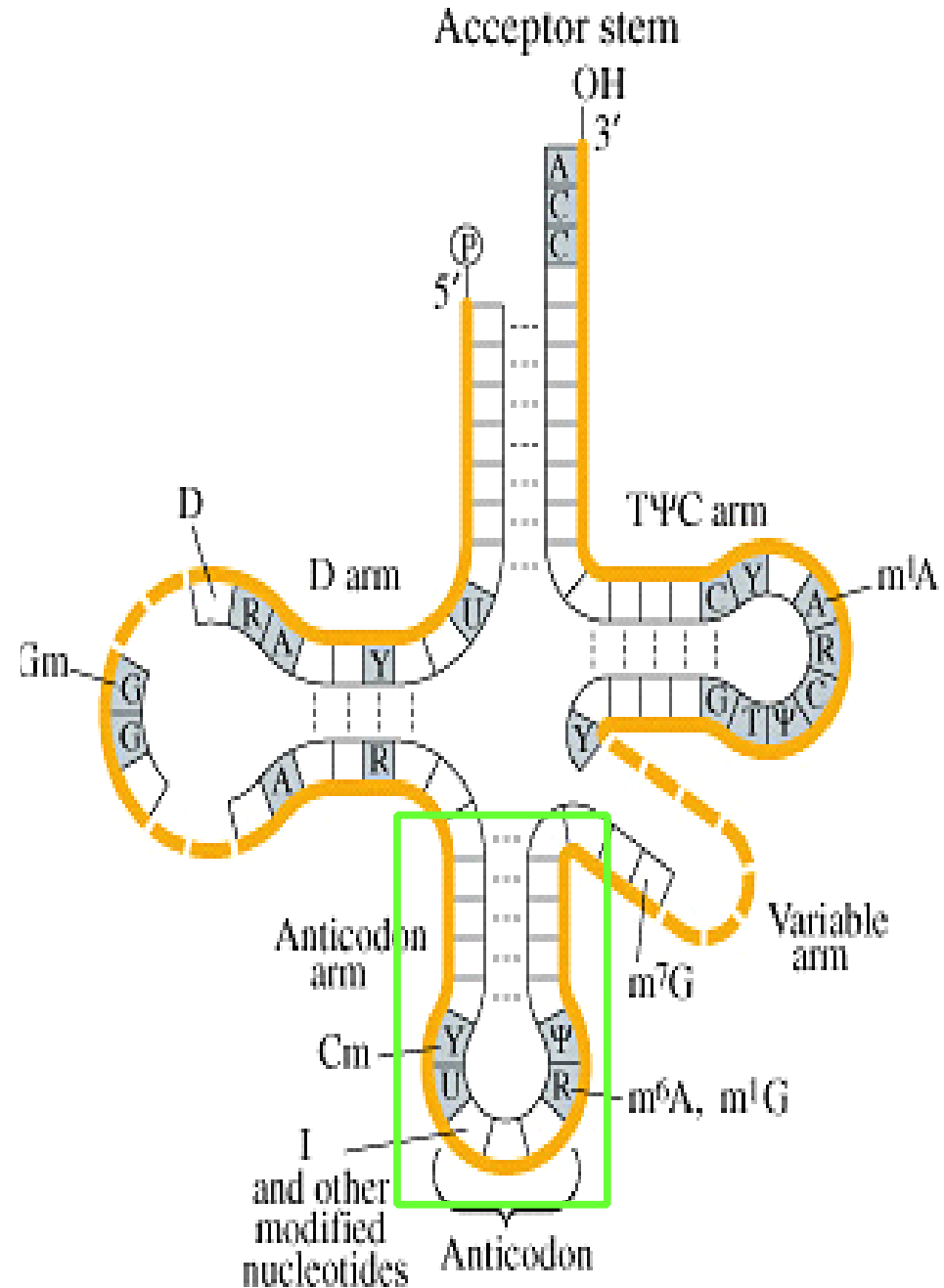
**D**臂中存在多至3个可变核苷酸位点，17: 1及20: 1、20: 2。最常见的**D**臂缺失这3个核苷酸，而最小的**D**臂中第17位核苷酸也缺失了。



# Anticodon loop

反密码子臂是根据位于套索中央的三联反密码子命名的。

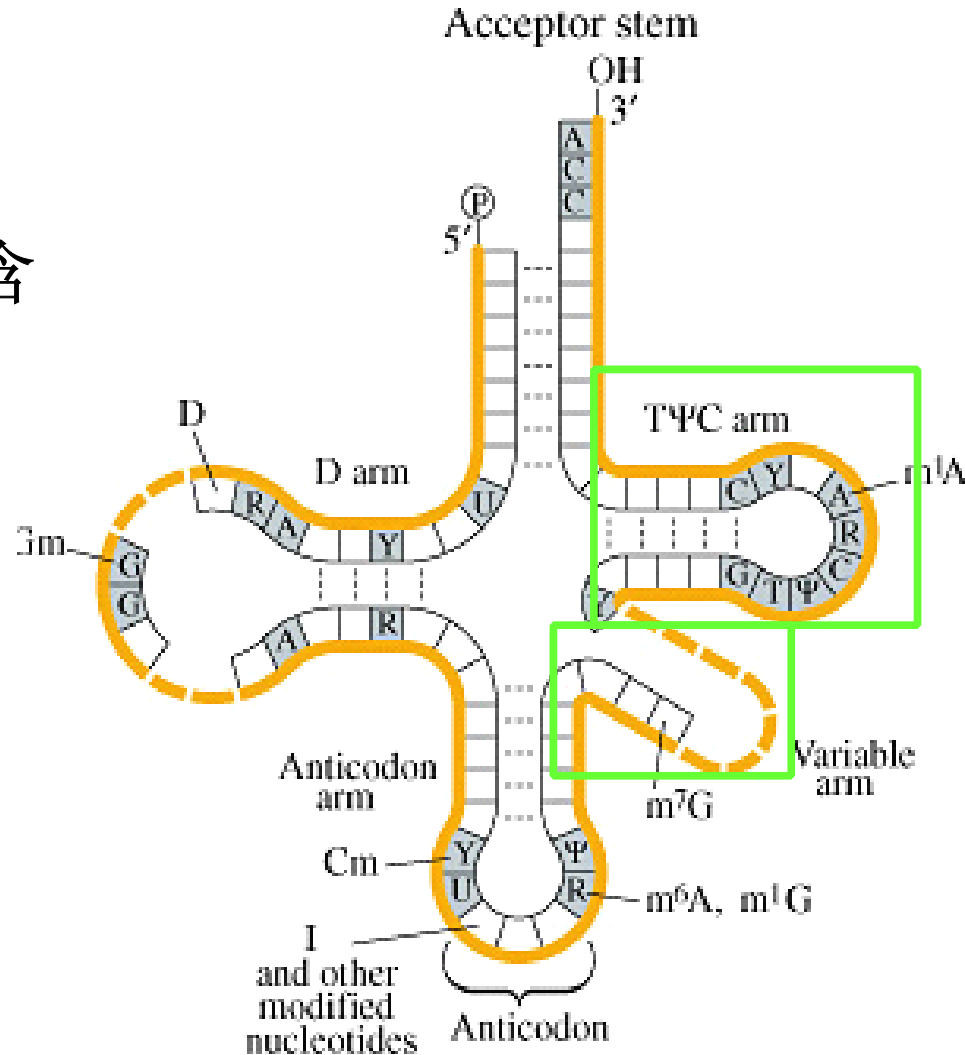
由**5bp**的臂和**7个**核苷的环组成。在环中有与密码子互补的由**3个**核苷组成的反密码子。



# Variable arm and T-arm

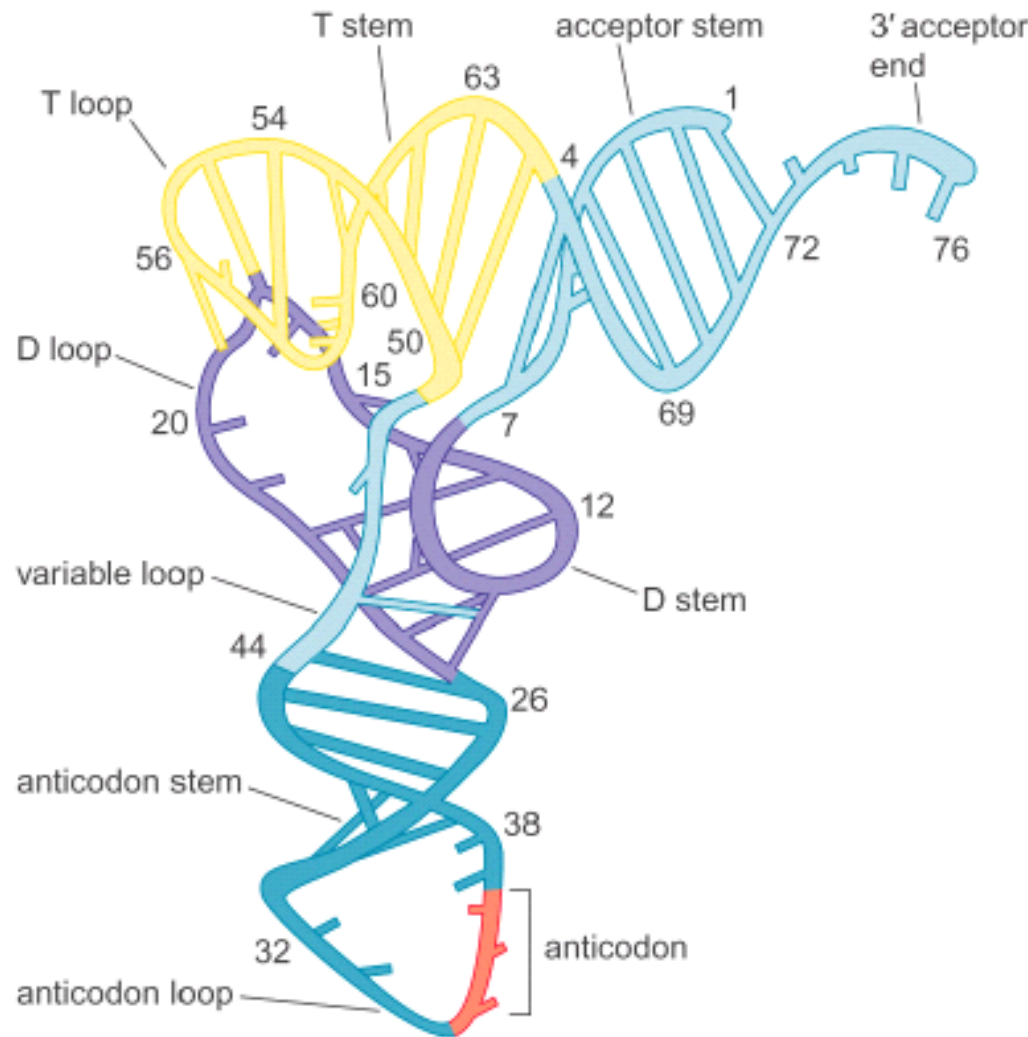
**T $\psi$ C**臂是根据**3**个核苷酸命名的，其中 $\psi$ 表示拟尿嘧啶；由**5bp**臂和含有**GT $\psi$ C**的环组成。

可变臂(多余臂)是由**3**到**21**个核苷酸组成，可能会形成多达**7bp**的臂。



- **tRNA**的**稀有碱基**含量非常丰富，约有**70**余种。
- 每个**tRNA**分子至少含有**2**个稀有碱基，最多有**19**个，多数分布在**非配对区**，特别是在反密码子**3'**端邻近部位出现的频率最高,且多为嘌呤核苷酸。
- 对于维持反密码子的稳定性及密码子、反密码子间的配对很重要。

# tRNA的L-形三级结构



在**L**形三级结构中：

- 受体臂顶端的碱基位于“**L**”的一个端点，
- 反密码子臂的套索状结构生成了“**L**”的另一个端点。



这个结构形式满足了蛋白质合成过程中对**tRNA**的各种要求而成为**tRNA**的通式。



## tRNA三级结构的形成

- **tRNA**三级结构主要由在二级结构中未配对碱基间形成的**9**个氢键（三级氢键）而引发的。
- 大部分恒定或半恒定核苷酸都参与三级氢键的形成。

# tRNA的功能

模板**mRNA**只能识别特异的**tRNA**，而不是氨基酸：

- 只有**tRNA**上的反密码子能与**mRNA**上的密码子相互识别并配对；
- 氨基酸本身不能识别密码子，只有结合到**tRNA**上生成**AA-tRNA**，才能被带到**mRNA**-核糖体复合物上，插入到正在合成的多肽链的适当位置上。

# **tRNA的种类**

- 1.起始tRNA和延伸tRNA**
- 2.同工tRNA**
- 3.校正tRNA**

# 1. 起始tRNA和延伸tRNA

- **起始tRNA:** 能特异性识别mRNA模板上起始密码子的tRNA;
- **延伸tRNA:** 其他tRNA统称为延伸tRNA。
  
- 真核生物起始tRNA携带甲硫氨酸(Met),
- 原核生物起始tRNA携带甲酰甲硫氨酸(fMet),
- 原核生物中Met-tRNA<sup>fMet</sup>必须首先甲酰化生成fMet-tRNA<sup>fMet</sup>才能参与蛋白质的生物合成。

## 2.同工tRNA

• **同工tRNA**：代表相同氨基酸的不同**tRNA**。

- 在一个同工**tRNA**组内，所有**tRNA**均专一于相同的氨酰-**tRNA**合成酶。
- 同工**tRNA**既要有不同的反密码子以识别该氨基酸的各种同义密码，又要有某种结构上的共同性，能被**AA-tRNA**合成酶识别。

### 3.校正tRNA

校正tRNA通过改变反密码子区校正无义突变和错义突变。

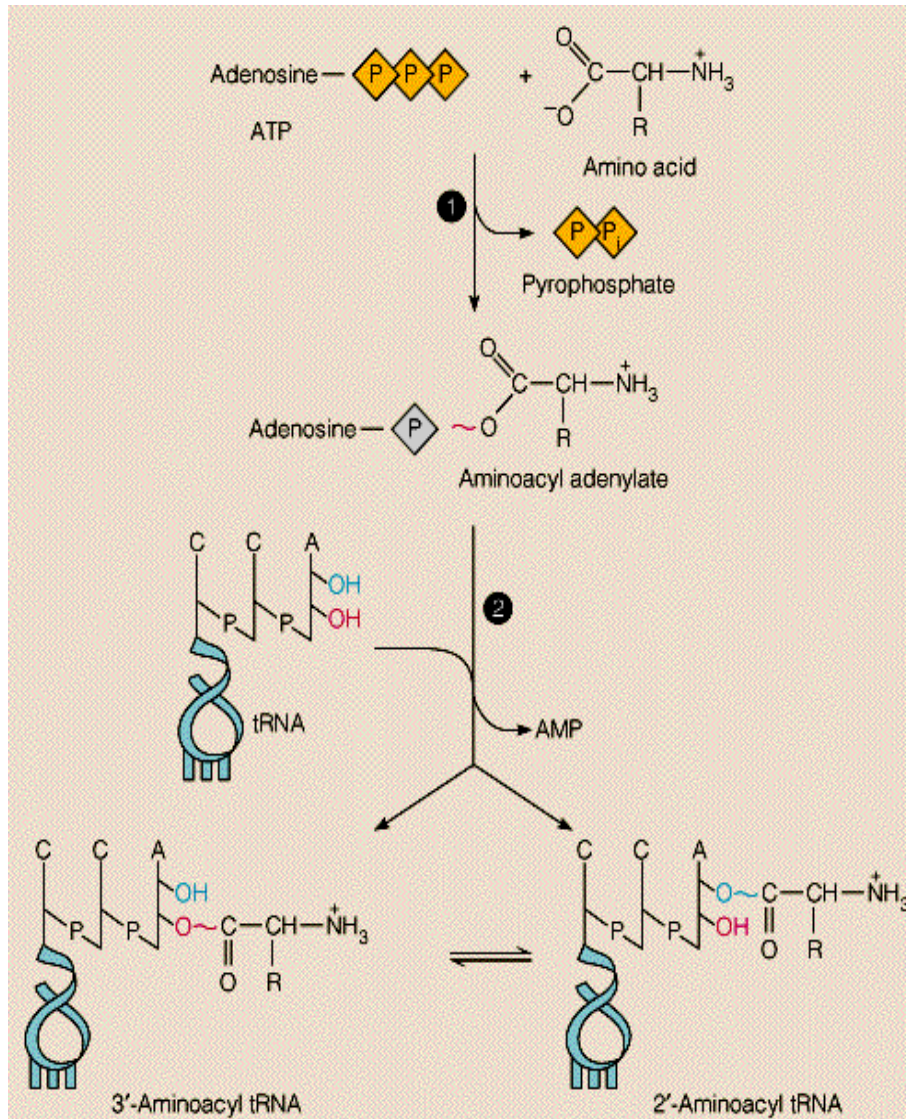
氨酰-tRNA合成酶

**aminonacyl-tRNA synthetase (ARS )**

- **AA-tRNA合成酶**是一类催化氨基酸与**tRNA**结合的特异性酶:

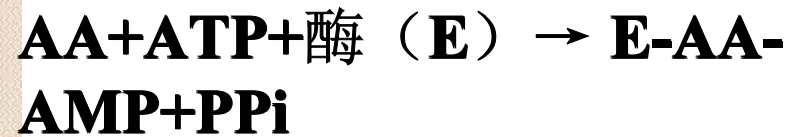


# Aminoacylation (腺苷酰化) of tRNAs



包括两步反应:

第一步是氨基酸活化生成**氨酰-腺苷酸**。



第二步是氨酰基转移到**tRNA 3' 末端腺苷残基的2' 或3'-羟基**上,生成**氨酰-tRNA**。





# Aminoacyl-tRNA synthetases

catalyze amino acid-tRNA joining reaction  
extremely **specific**.

*tRNA-synthetases*和*charged tRNAs*的命名

**Amino acid: serine**

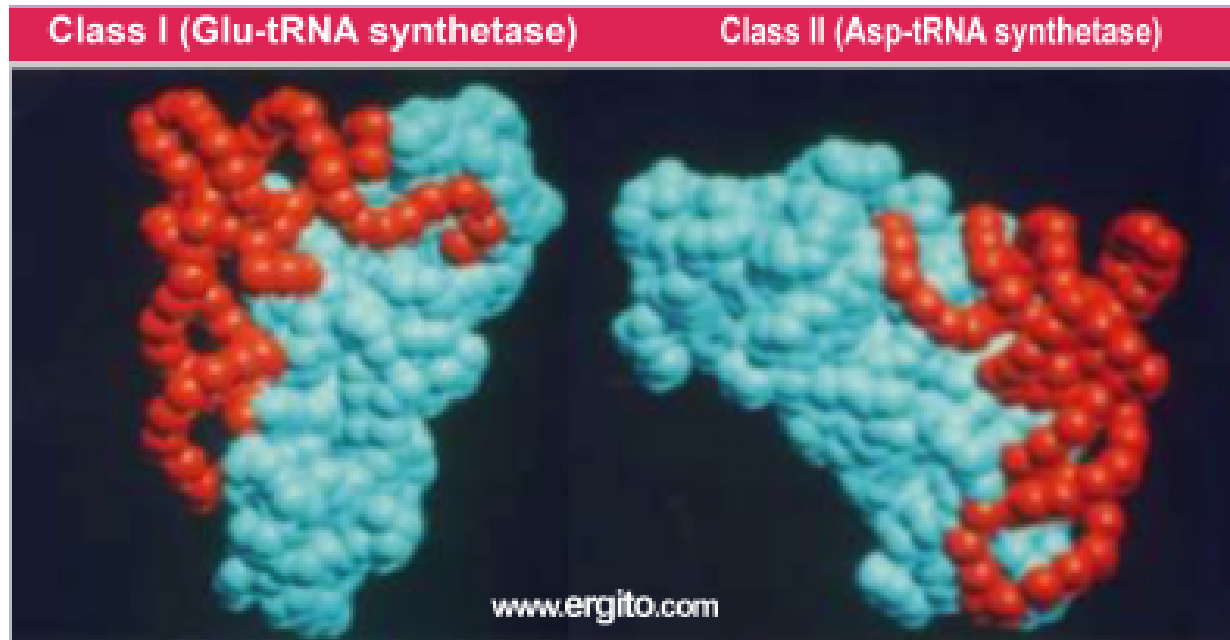
**Cognate tRNA: tRNA<sup>ser</sup>**

**Cognate aminoacyl-tRNA synthetase:**

**seryl-tRNA synthetase**

**Aminoacyl-tRNA: seryl-tRNA<sup>ser</sup>**

# Two classes of Aminoacyl-tRNA synthetases

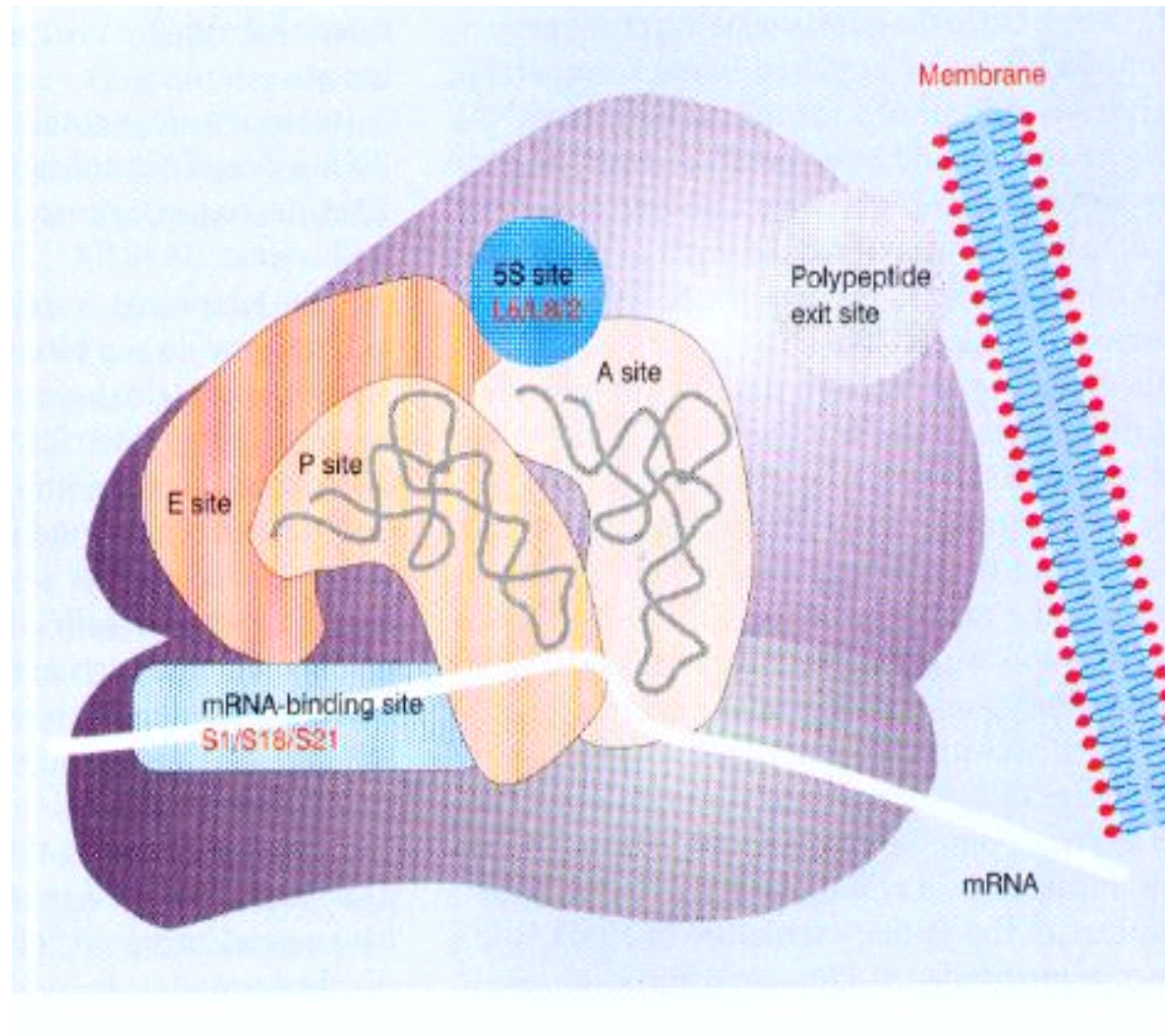


- **Class I binds minor groove of acceptor arm;**
- **Class II binds major groove of acceptor arm**

## 氨酰-tRNA合成酶决定蛋白质合成的真实性

- 蛋白质合成的真实性主要决定于**AA-tRNA**合成酶是否能使氨基酸与对应的**tRNA**相结合。
- **AA-tRNA**合成酶既要能识别**tRNA**，又要能识别氨基酸，它对两者都具有高度的专一性。
- 氨酰-tRNA合成酶利用校读功能来提高精确性。

# 核糖体(ribosome) protein-synthesizing machines



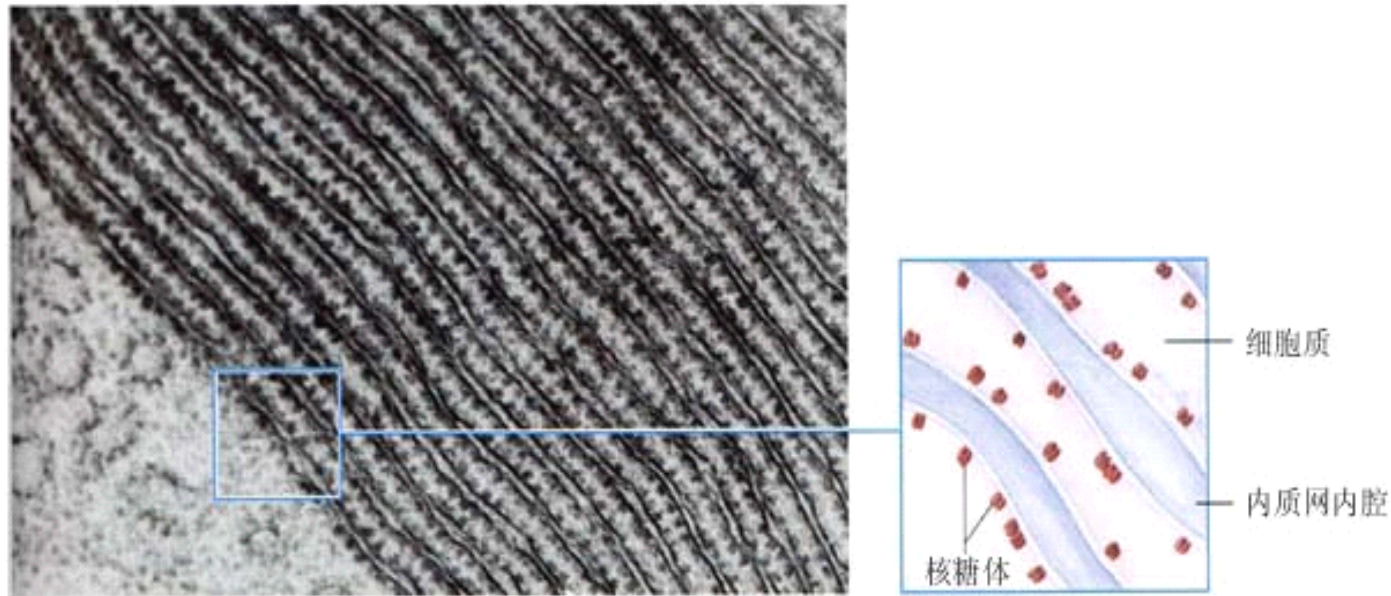
核糖体是由几十种蛋白质和多种核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)所组成的亚细胞颗粒。它像一个沿着mRNA模板移动的工厂，执行着蛋白质合成的功能。

- 一个细菌细胞内约有**20,000**个核糖体，
- 真核细胞内可达 **$10^6$** 个。
- 这些颗粒既可以游离状态存在于细胞内，也可与内质网结合，形成微粒体。

## 核糖体及其他组分在大肠杆菌细胞内的分布

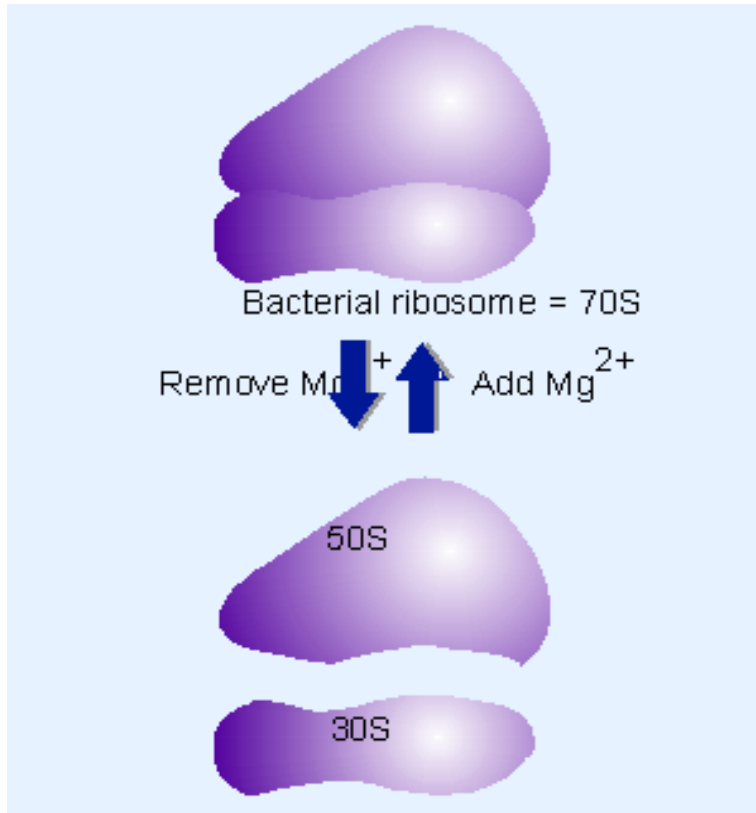
组分	占细胞总量	细胞内数量
细胞壁	<b>10%</b>	<b>1</b>
细胞膜	<b>10%</b>	<b>2</b>
<b>DNA</b>	<b>2%</b>	<b>1</b>
<b>mRNA</b>	<b>2%</b>	<b><math>3.5 \times 10^3</math></b>
<b>tRNA</b>	<b>3%</b>	<b><math>1.6 \times 10^5</math></b>
<b>rRNA</b>	<b>21%</b>	<b><math>8 \times 10^5</math></b>
核糖体蛋白	<b>9%</b>	<b><math>2 \times 10^4</math></b>
可溶性蛋白	<b>40%</b>	<b><math>10^6</math></b>
小分子	<b>3%</b>	<b><math>7.5 \times 10^6</math></b>

- 真核生物中，大多数正在进行蛋白质合成的核糖体都不是在细胞质内自由漂浮，而是直接或间接与细胞骨架结构有关联或者与内质网膜结构相连的。



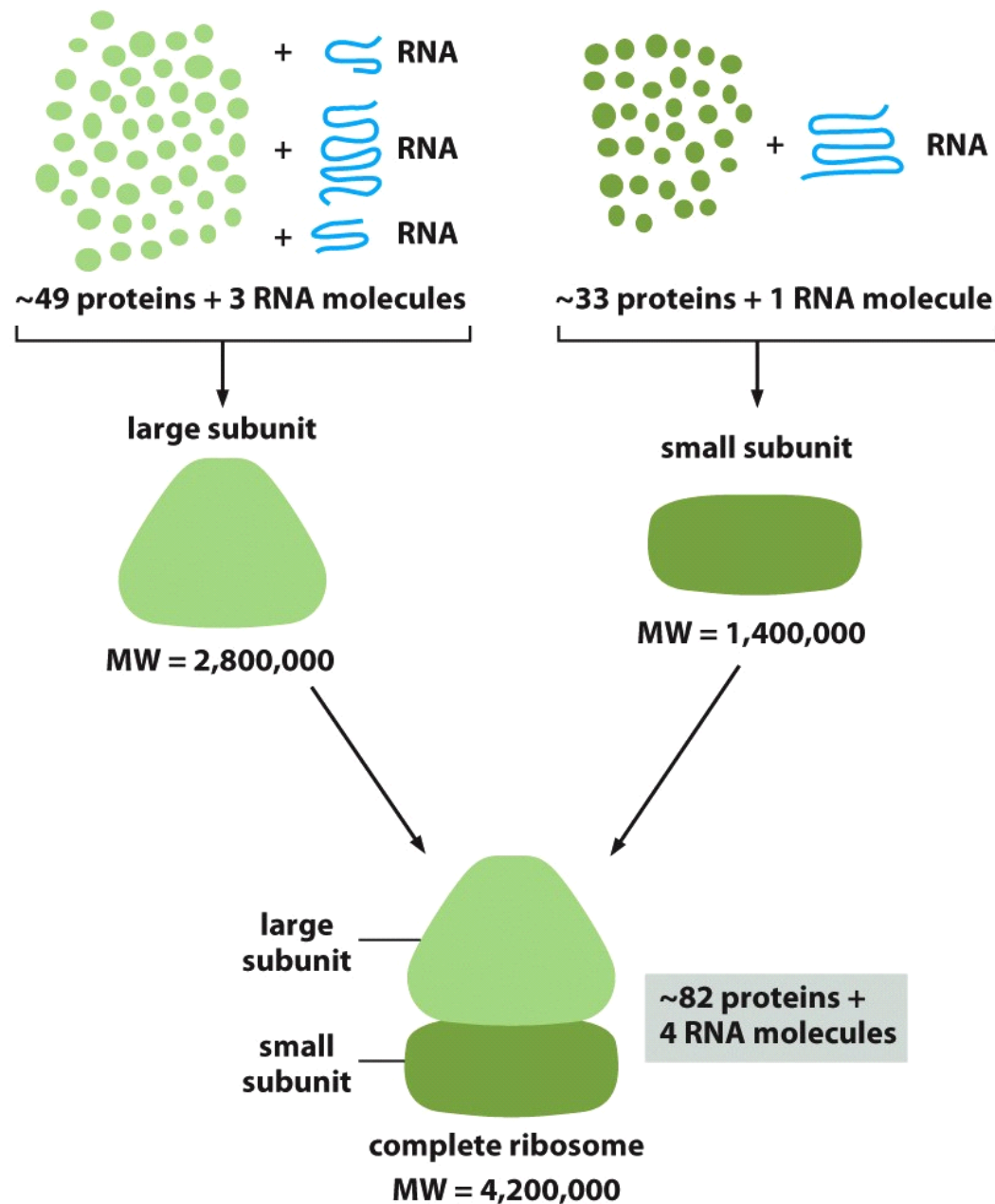
- 细菌核糖体大都通过与**mRNA**相互作用，被固定在核基因组上。

# 核糖体的结构



核糖体是一个致密的核糖核蛋白颗粒，可解离为两个亚基，每个亚基都含有一个相对分子质量较大的rRNA和许多不同的蛋白质分子。





核糖体是一个大型复合物,由**4**个**RNA**和超过**80**个蛋白质组成

Figure 7-31 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

# 2009年诺贝尔化学奖



Photo: MRC Laboratory of Molecular Biology

**Venkatraman Ramakrishnan**

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular Biology  
Cambridge, United Kingdom

b. 1952  
(in Chidambaram, Tamil Nadu, India)



Credits: Michael Marsland/Yale University

**Thomas A. Steitz**

solved the "phase problem"

🕒 1/3 of the prize

USA

Yale University  
New Haven, CT, USA;  
Howard Hughes Medical Institute

b. 1940



Credits: Micheline Pelletier/Corbis

**Ada E. Yonath**

the strong-willed pioneer

🕒 1/3 of the prize

Israel

Weizmann Institute of Science  
Rehovot, Israel

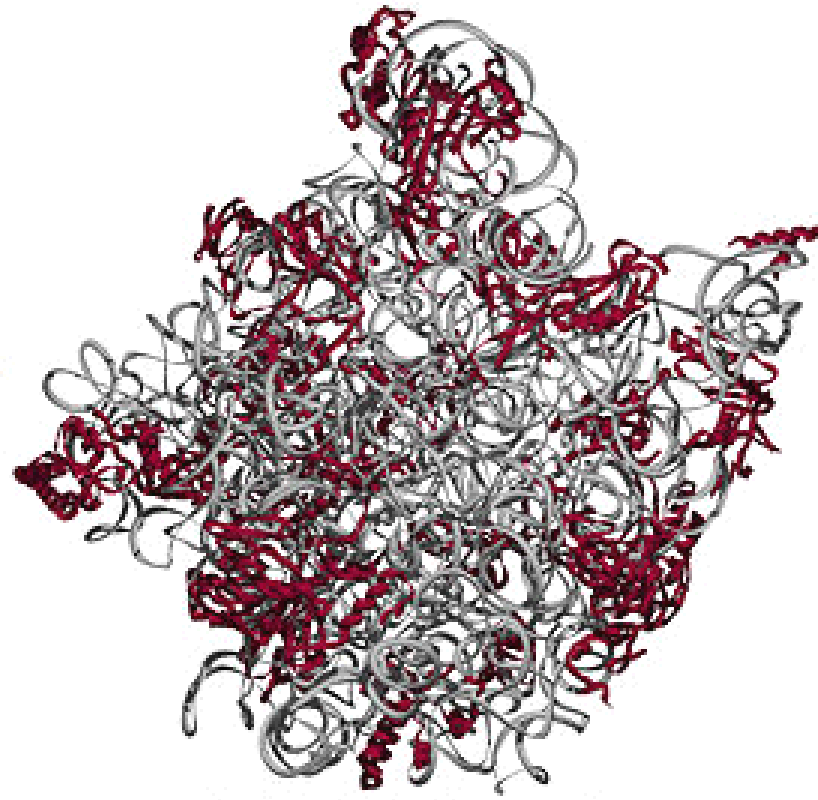
b. 1939

"for studies of the structure and function of the ribosome"

## 核糖体的大小亚基



SMALL RIBOSOMAL SUBUNIT

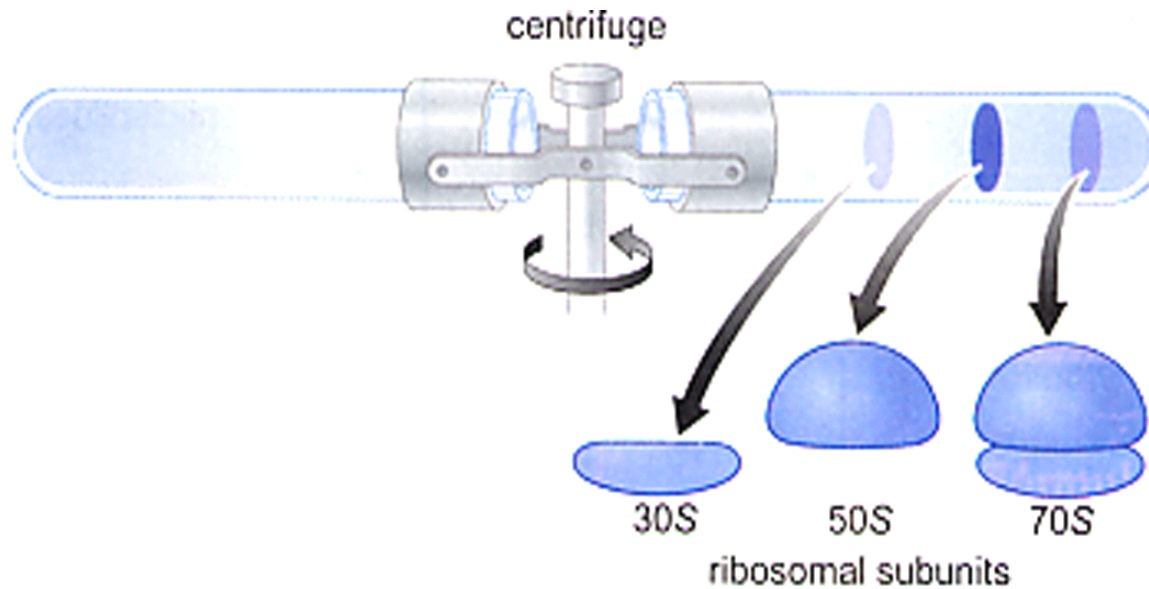


LARGE RIBOSOMAL SUBUNIT

**SSU from Ramakrishnan work with A-site Anticodon Stem Loop bound as well as mRNA analog show.**





**LSU from Steitz and Moore labs work shown**

# Svedberg (S): the unit used to measure sedimentation velocity



14-12

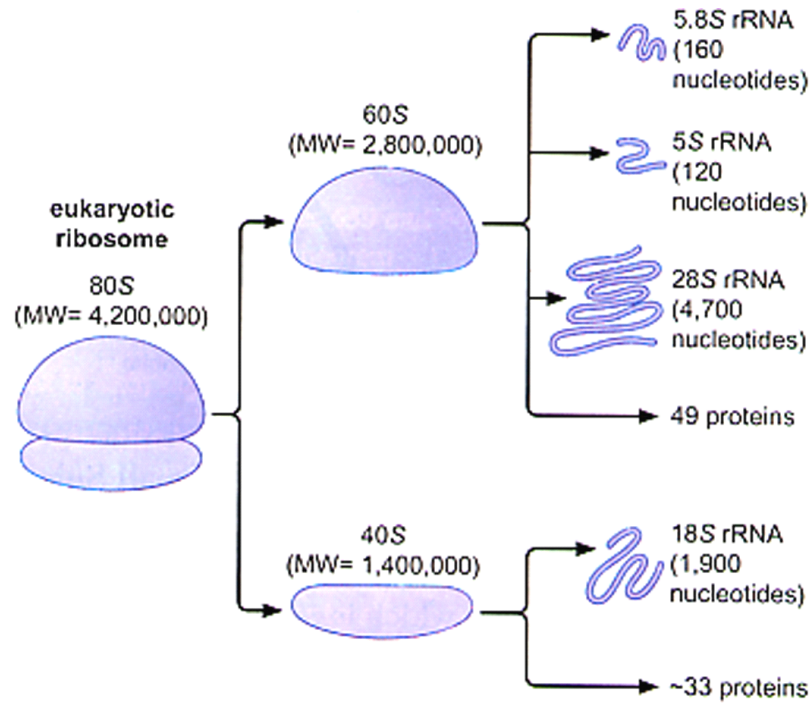
Sedimentation velocity is determined by both **shape** and **size** and hence is not a measure of mass

Ribosomes are ribonucleoprotein particles			
Ribosomes		rRNAs	r-proteins
<b>Bacterial (70S)</b> mass: 2.5 MDa 66% RNA	 50S	23S = 2904 bases 5S = 120 bases	31
	 30S	16S = 1542 bases	21
<b>Mammalian (80S)</b> mass: 4.2 MDa 60% RNA	 60S	28S = 4718 bases 5.8S = 160 bases 5S = 120 bases	49
	 40S	18S = 1874 bases	33

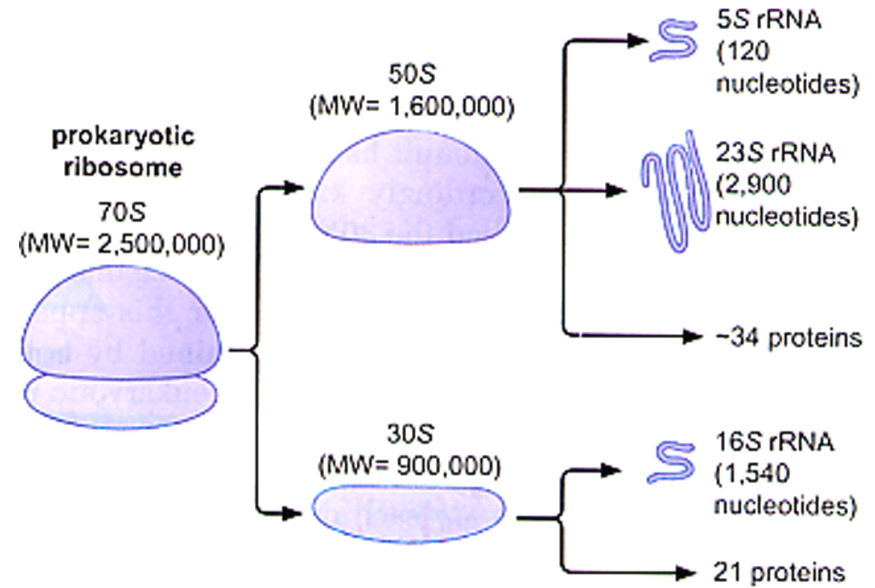
©virtualtext www.ergito.com

- 原核生物核糖体由约**2/3**的**RNA**及**1/3**的蛋白质组成。
- 真核生物核糖体中**RNA**占**3/5**，蛋白质占**2/5**。

# 原核与真核细胞核糖体大小亚基比较



**Eukaryotes**



**Prokaryotes**

## 大肠杆菌核糖体基本成分

	核糖体	小亚基	大亚基
沉降系数	<b>70S</b>	<b>30S</b>	<b>50S</b>
总体相对分子质量	<b><math>2.52 \times 10^6</math></b>	<b><math>9.30 \times 10^5</math></b>	<b><math>1.59 \times 10^6</math></b>
主要rRNA (碱基数)		<b>16S (1 541)</b>	<b>23S (2 904)</b>
主要rRNA (碱基数)			<b>5S (120)</b>
RNA相对分子质量	<b><math>1.66 \times 10^6</math></b>	<b><math>5.60 \times 10^5</math></b>	<b><math>1.10 \times 10^6</math></b>
RNA所占比例	<b>66%</b>	<b>60%</b>	<b>70%</b>
蛋白质数量		<b>21</b>	<b>36</b>
蛋白质相对分子质量	<b><math>8.57 \times 10^5</math></b>	<b><math>3.70 \times 10^5</math></b>	<b><math>4.87 \times 10^5</math></b>
蛋白质所占比例	<b>34%</b>	<b>40%</b>	<b>30%</b>

•大肠杆菌核糖体小亚基由**21**种蛋白质组成，分别用**S<sup>1</sup>.....S<sup>21</sup>**表示，大亚基由**36**种蛋白质组成，分别用**L<sup>1</sup>.....L<sup>36</sup>**表示。

•真核生物细胞核糖体蛋白质中，大亚基含有**49**种蛋白质，小亚基有**33**种蛋白质，它们的相对分子质量在 **$8 \times 10^3 \sim 4.0 \times 10^4$** 之间。

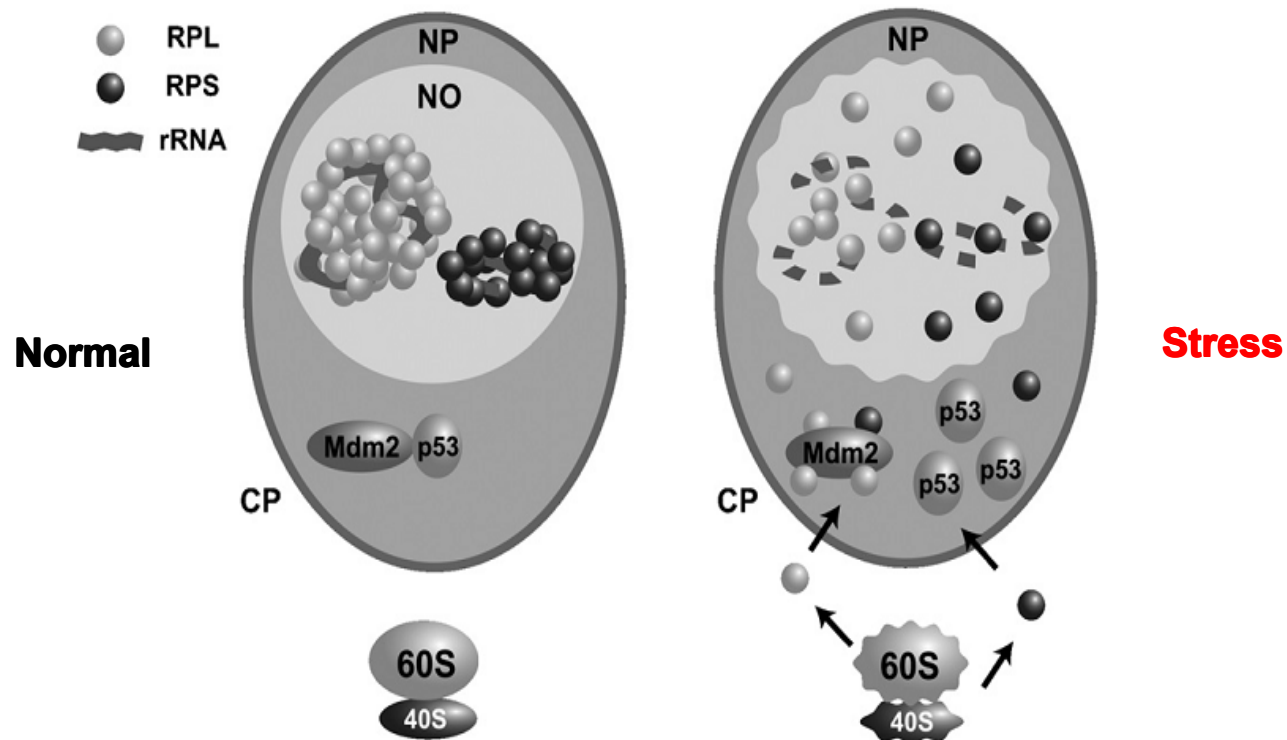


# Ribosomal stress and p53 pathway

Ribosomal stress results from :

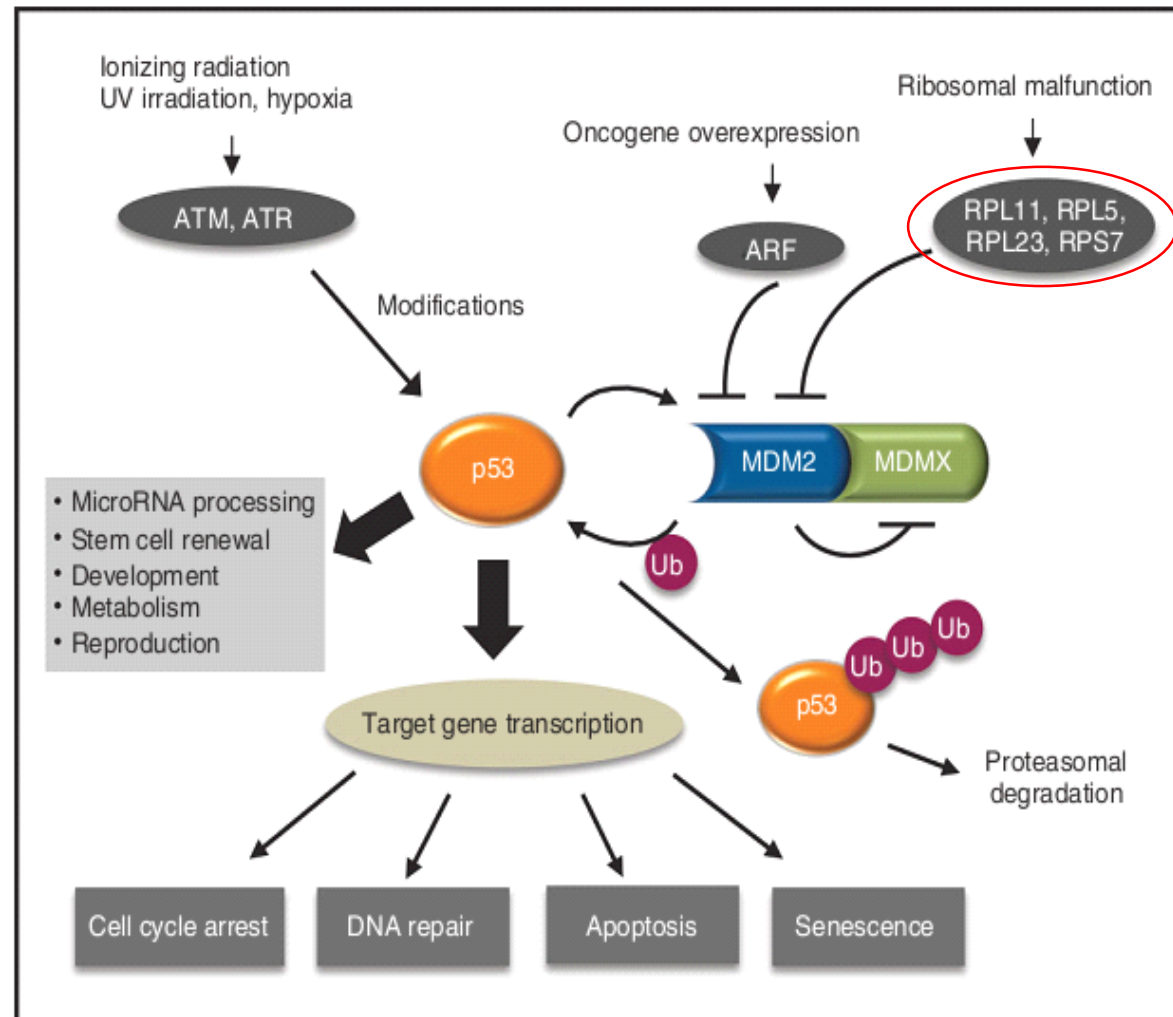
- Ribosomal RNA (rRNA) transcription and ribosomal proteins (RPs) expression (actinomycin D or 5-Fluorouracil treatment)
- Processing of pre-rRNA Assembly of ribosome

**p53**：人体内最重要的抑癌蛋白



*Caldarola, 2009, FEBS Journal*

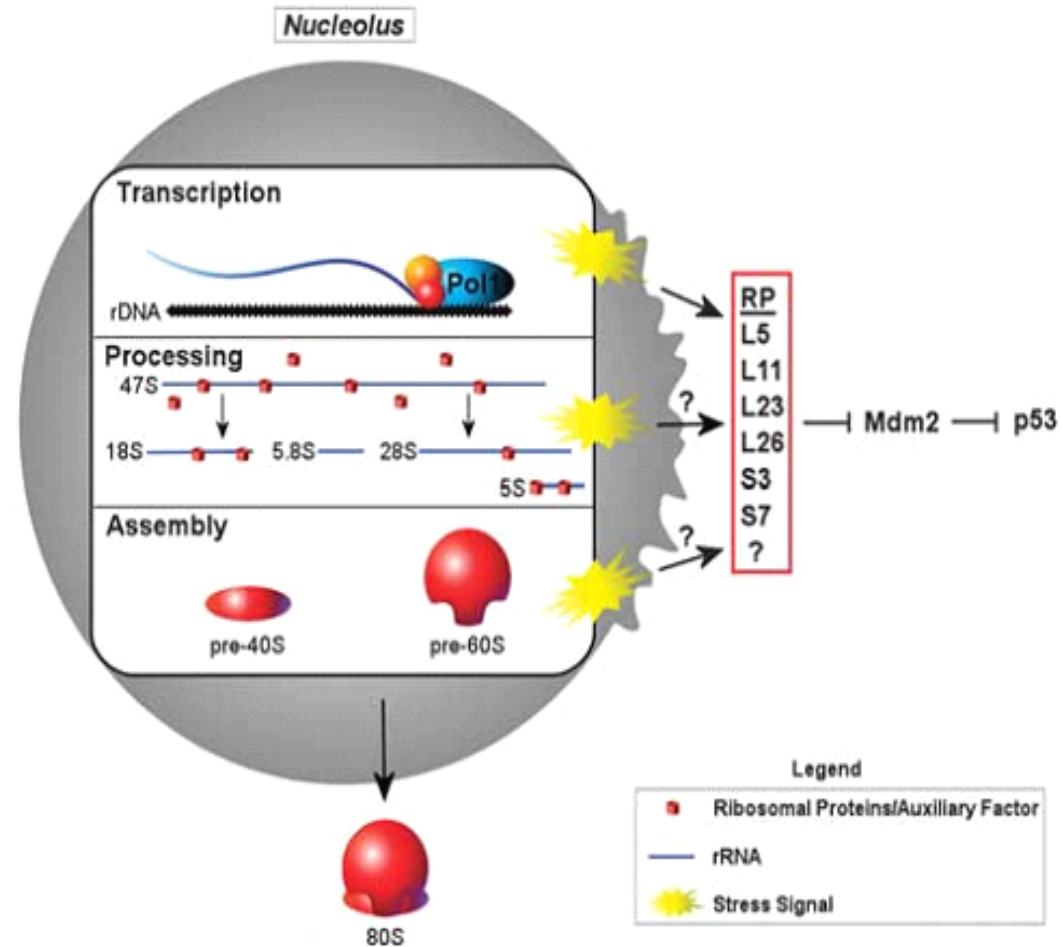
# 核糖体亚基蛋白调控HDM2-p53信号通路



p53 信号通路

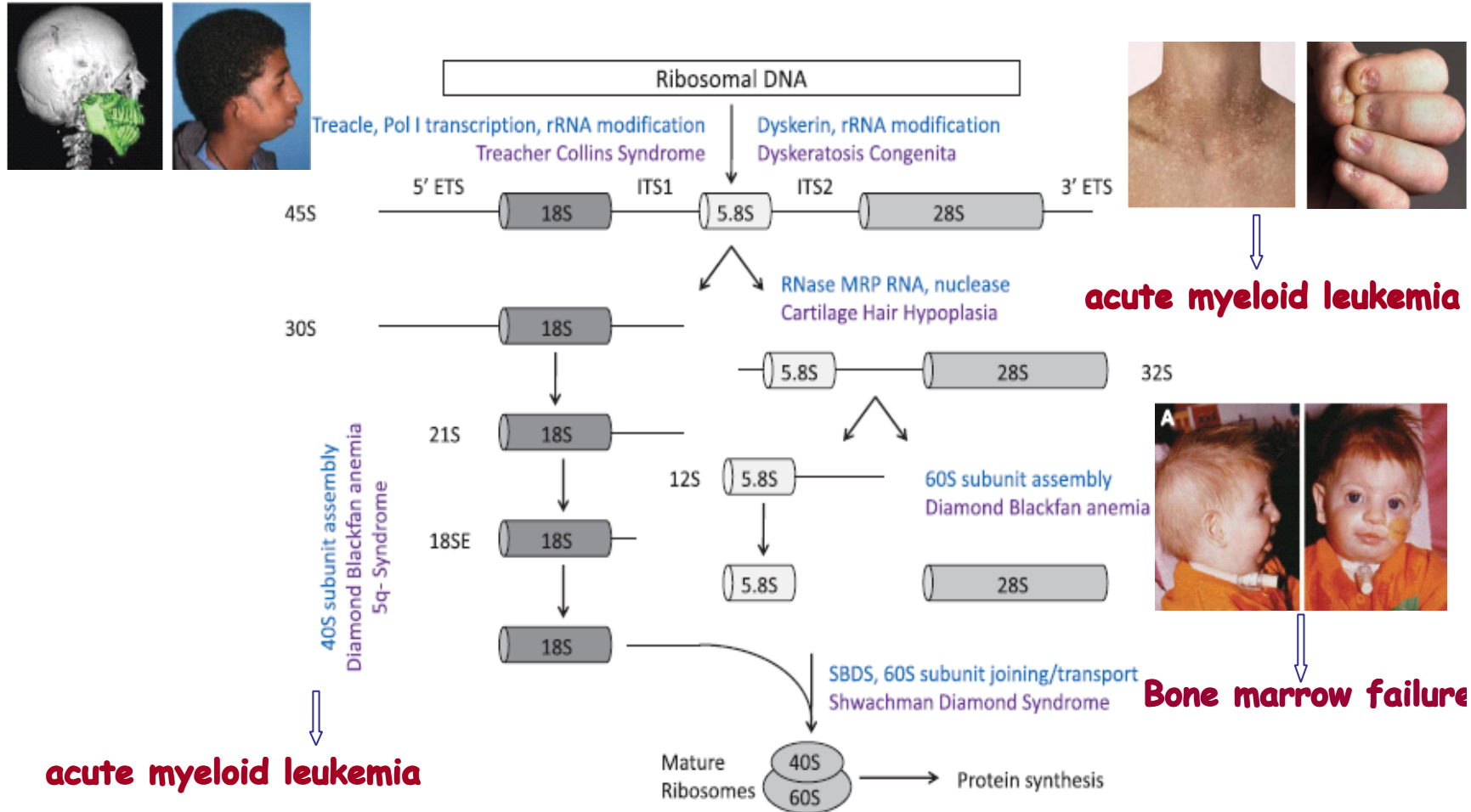
(Chakraborty et al., 2011, Wiley Interdiscip Rev)

# 核糖体亚基蛋白 **RP**s-HDM2-p53 通路



RP-MDM2(HDM2)-p53 pathway  
(Deisenroth and Zhang, 2010, *Oncogene*)

# Simplified schematic of eukaryotic ribosome biogenesis



REVIEW

## Ribosome biogenesis surveillance: probing the ribosomal protein-Mdm2-p53 pathway

C Deisenroth<sup>1,2,4</sup> and Y Zhang<sup>1,2,3,4</sup>

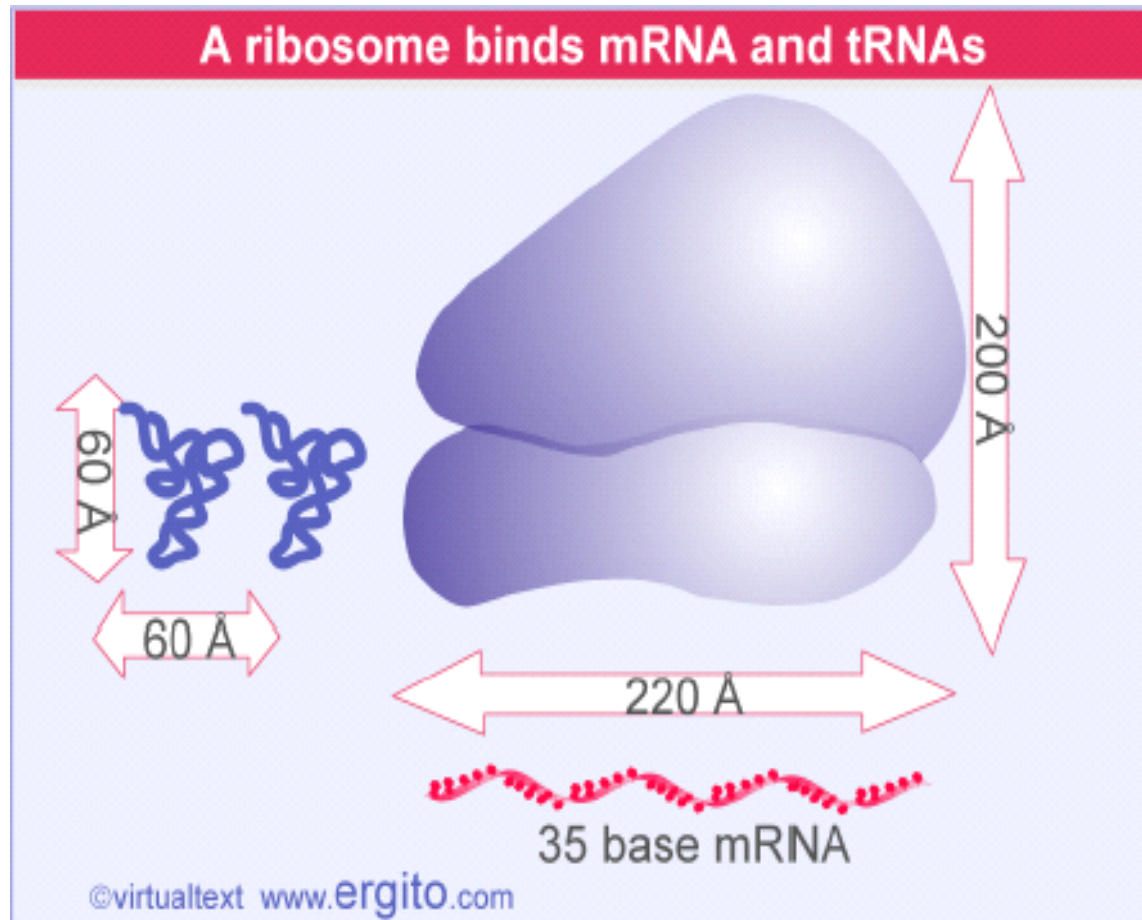
<sup>1</sup>Curriculum in Genetics and Molecular Biology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA; <sup>2</sup>Lineberger Comprehensive Cancer Center, School of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA; <sup>3</sup>Department of Pharmacology, School of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA and <sup>4</sup>Department of Radiation Oncology, School of Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA

The dynamic processes of cell growth and cell division remain under constant surveillance. As one of the primary ‘gatekeepers’ of the cell, p53 has a major role in sensing a variety of stressors to maintain cellular homeostasis. Growth is driven by new protein synthesis, a process that requires robust manufacture of ribosomes in the nucleolus. Ribosome biogenesis is a complex process comprising transcription, modification, and processing of ribosomal RNA, production of ribosomal proteins (RPs) and

The Mdm2-p53 stress response pathway is an important regulator of cellular homeostasis. A variety of mitogenic and genotoxic stressors converge on this pathway to elicit a protective p53-dependent stress response resulting in cell cycle arrest, apoptosis, DNA repair or replicative senescence (Levine *et al.*, 2006). As the cellular ‘gatekeeper’, p53 remains at the pinnacle of cellular surveillance to regulate cell growth and proliferative homeostasis (Vogelstein *et al.*, 2000).

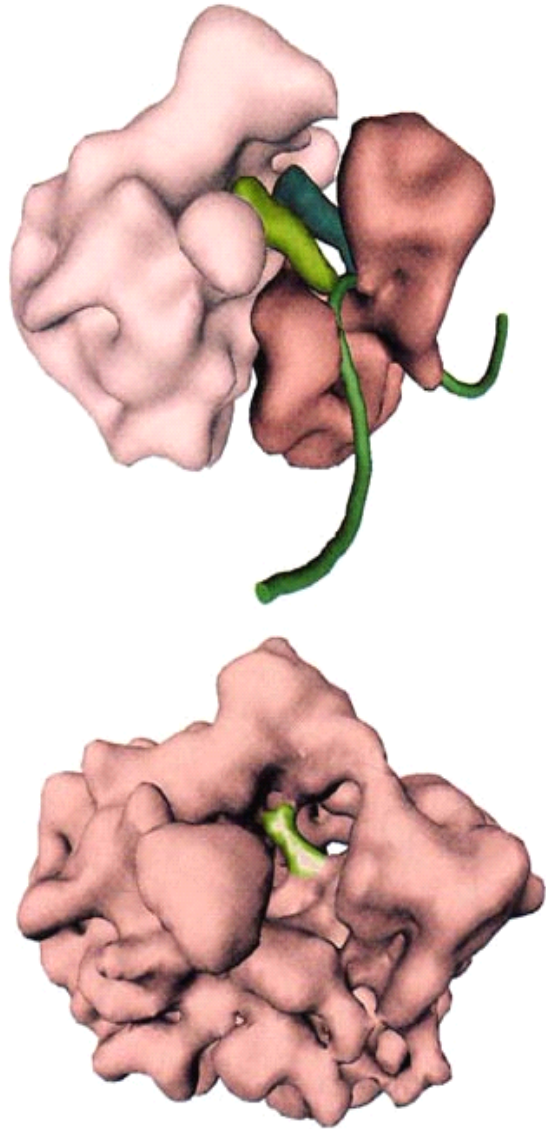
## 几种不同生物核糖体及rRNA的组成

核糖体	来源	大亚基		小亚基	
		沉降系数	RNA	沉降系数	RNA
<b>80S</b>	脊椎动物	<b>60S</b>	<b>28S</b>	<b>40S</b>	<b>18S</b>
			<b>5S</b>		
			<b>5.8S</b>		
<b>80S</b>	无脊椎动物、植物	<b>60S</b>	<b>25S</b>	<b>40S</b>	<b>16~18S</b>
			<b>5S</b>		
			<b>5.8S</b>		
<b>70S</b>	原核生物	<b>50S</b>	<b>23S</b>	<b>30S</b>	<b>16S</b>
<b>55S</b>	脊椎动物线粒体	<b>40S</b>	<b>16~17S</b>	<b>30S</b>	<b>10~13S</b>

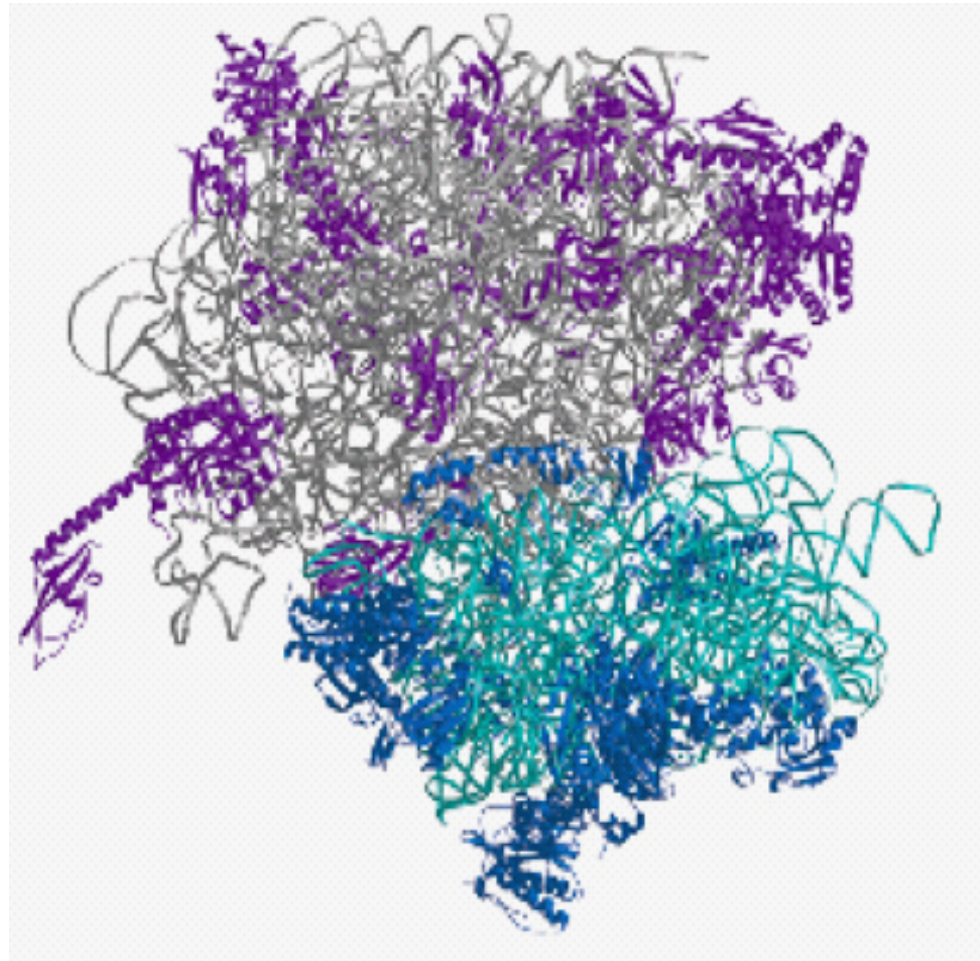


Size comparisons show that the ribosome is large enough to bind tRNAs and mRNA.

# 核糖体结构模型



(a)



核糖体分子中可容纳两个tRNA和约40bp长的mRNA。



# Ribosome cycles

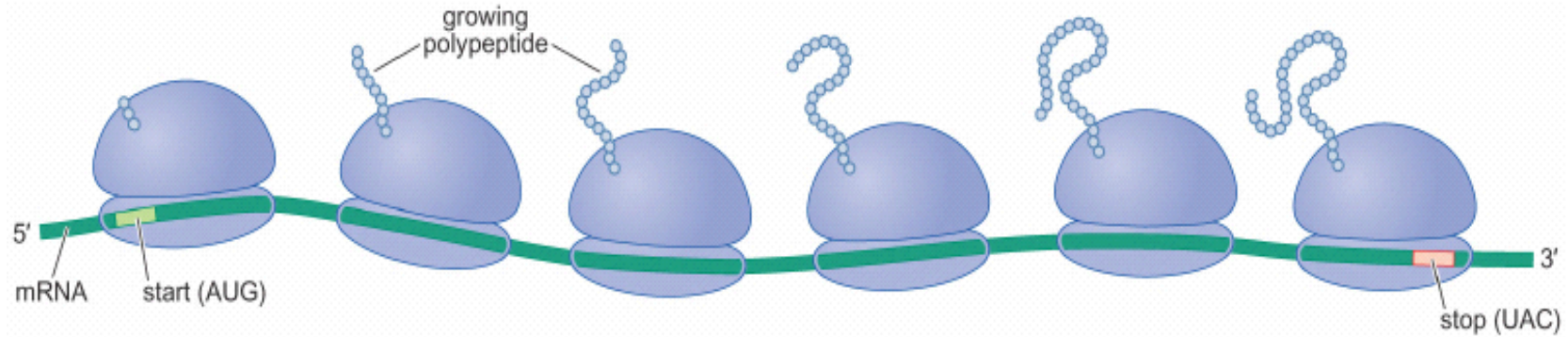
In cells, the small and large ribosome subunits associate with each other and the mRNA, translate it, and then dissociate after each round of translation. This sequence of association and dissociation is called the **ribosome cycle**.

## Overview of the events of translation/ribosome cycle



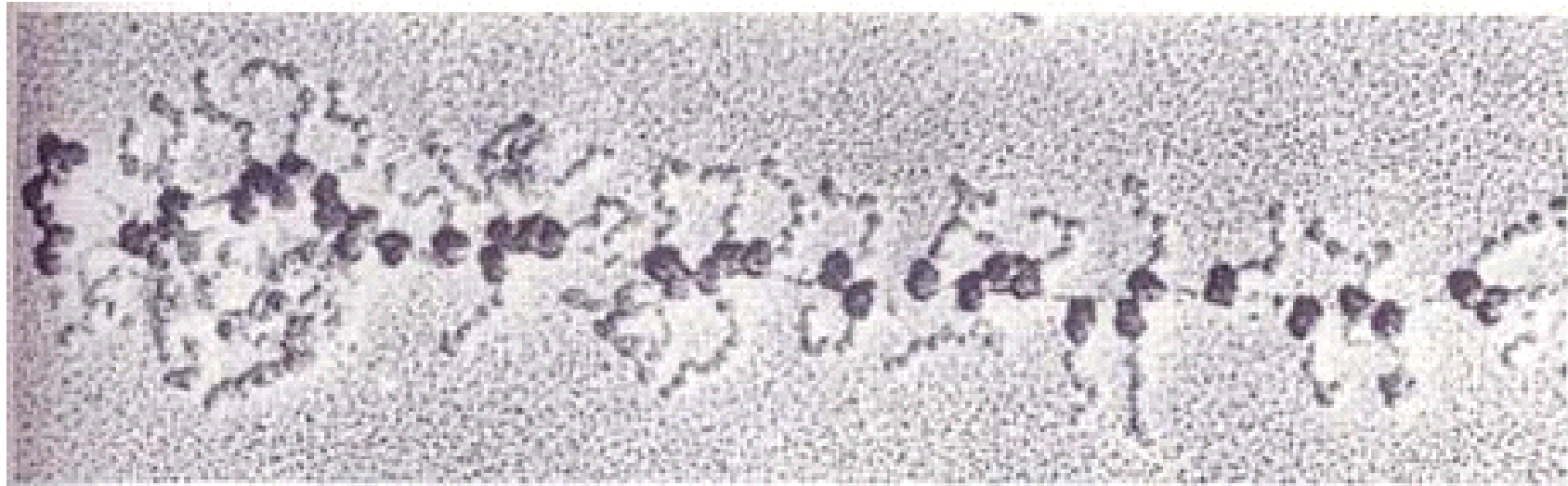
**The large and the small subunits undergone association and dissociation during each cycle of translation**

## 真核生物细胞中发现的多聚核糖体 (polyribosomes or polysomes)现象



大大加速蛋白质合成的速度，提高了**mRNA**的利用率。

# 电镜下的多聚核糖体 (polysomes)



5 ribosomes  
reading same RNA  
sequentially

Growing  
polypeptide  
chains

Complete  
polypeptide

(Initiator  
codon)

AUG

5'

UAG

Stop codon

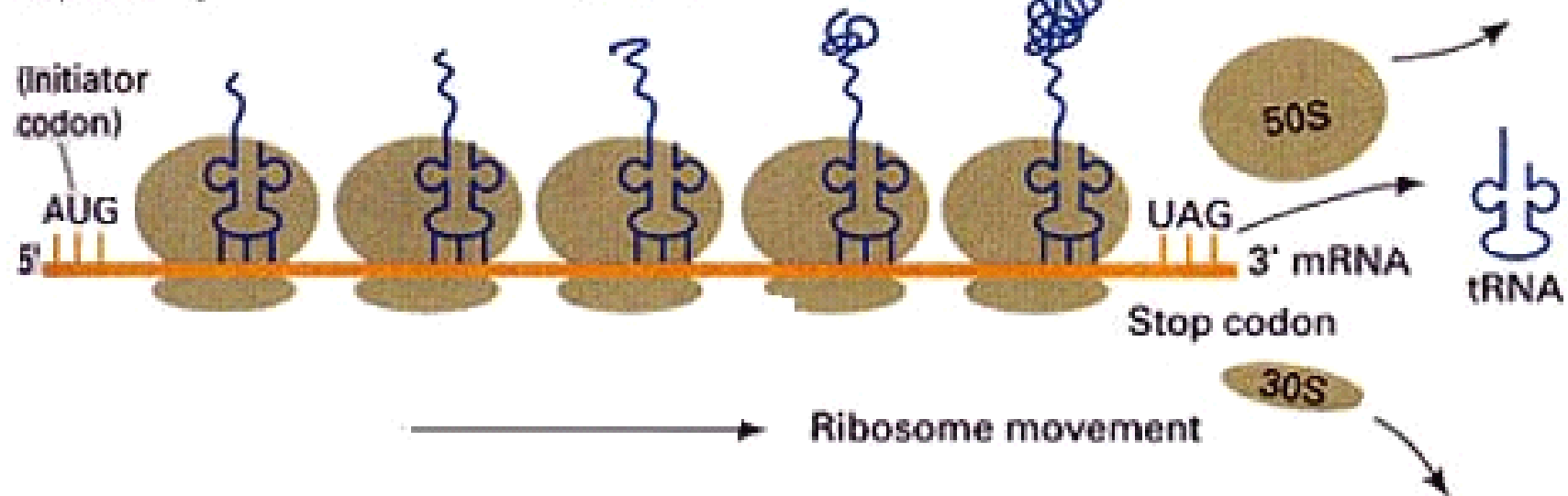
50S

30S

3' mRNA

tRNA

Ribosome movement



# rRNA

1. 5 S rRNA
2. 16 S rRNA
3. 23 S rRNA
4. 5.8 S rRNA

# 5S rRNA

细菌**5 S rRNA**含有**120**个核苷酸（革兰氏阴性菌）或**116**个核苷酸（革兰氏阳性菌）。

**5S rRNA**有两个高度保守的区域：

- 一个区域含有保守序列**CGAAC**，这是与**tRNA**分子**T $\psi$ C**环上的**GT $\psi$ CG**序列相互作用的部位，是**5 S rRNA**与**tRNA**相互识别的序列。
- 另一个区域含有保守序列**GCGCCGAAUGGUAGU**，与**23S rRNA**的中一段序列互补，可能是**5 S rRNA**与**50 S**核糖体大亚基相互作用的位点。

# 16S rRNA

- 长约**1 475~1 544**个核苷酸之间
- 含有少量修饰碱基
- 位于原核生物**30 S**小亚基内
- 结构十分保守：
  - (1) **3'**端一段**ACCUCCUUA**的保守序列，与**mRNA 5'**端翻译起始区中的**SD**序列互补。
  - (2) 靠近**3'**端处还有一段与**23 S rRNA**互补的序列，在**30 S**与**50 S**亚基的结合中起作用。

# 23S rRNA

**23 S rRNA**基因包括**2904**个核苷酸：

- 第**1984~2001**核苷酸之间存在能与**tRNA<sup>Met</sup>**序列互补的片段，表明核糖体大亚基**23 S rRNA**可能与**tRNA<sup>Met</sup>**的结合有关。
- 第**143~157**位核苷酸之间有一段**12**个核苷酸的序列与**5 S rRNA**上第**72~83**位核苷酸互补，表明组成**50 S**大亚基的这两种**RNA**之间可能存在相互作用。



## 5.8S rRNA

- 真核生物核糖体大亚基特有的**rRNA**
- 长度为**160**个核苷酸
- 含有修饰碱基
- 含有与原核生物**5 S rRNA**中的保守序列**CGAAC**相同的序列，可能与**tRNA**作用的识别有关。

# 核糖体**RNA**决定核糖体的整体形状

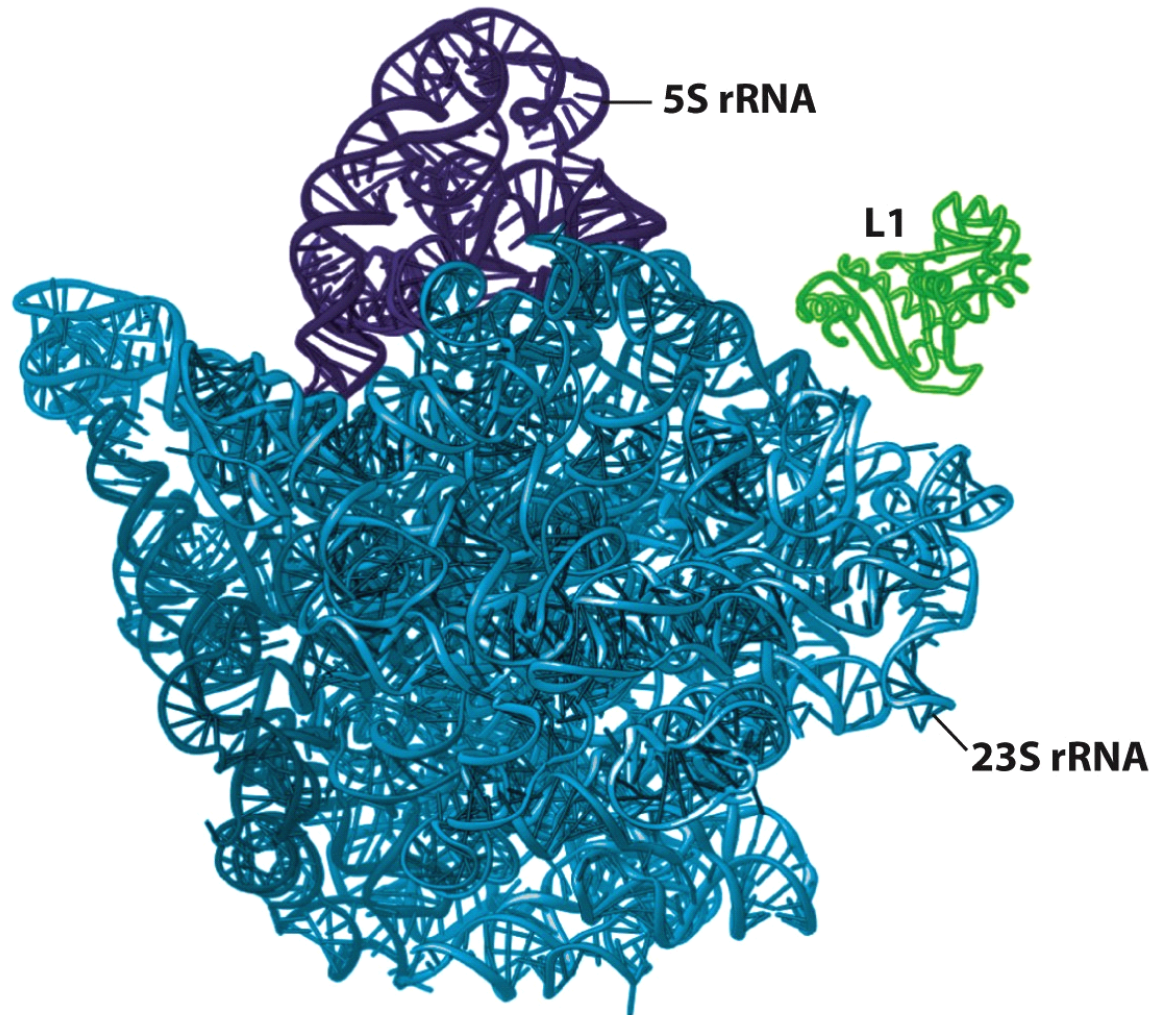
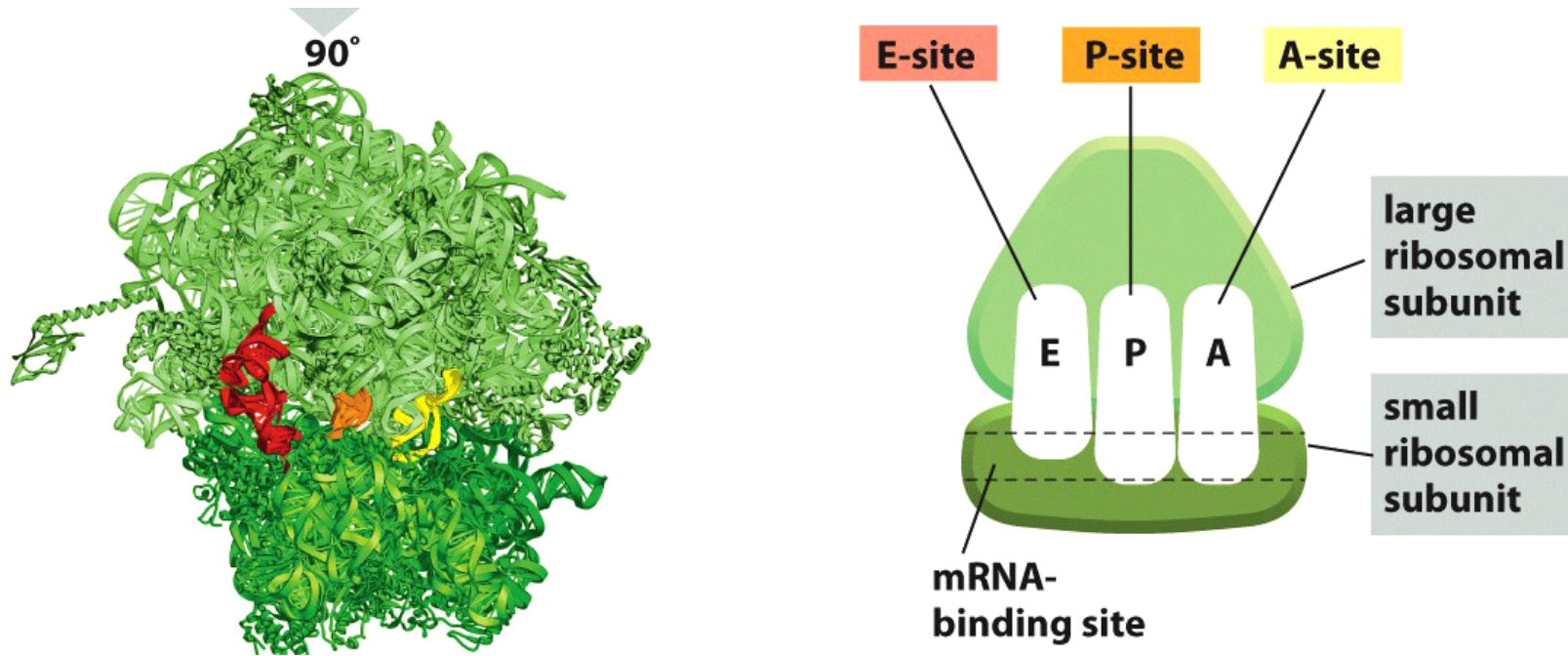


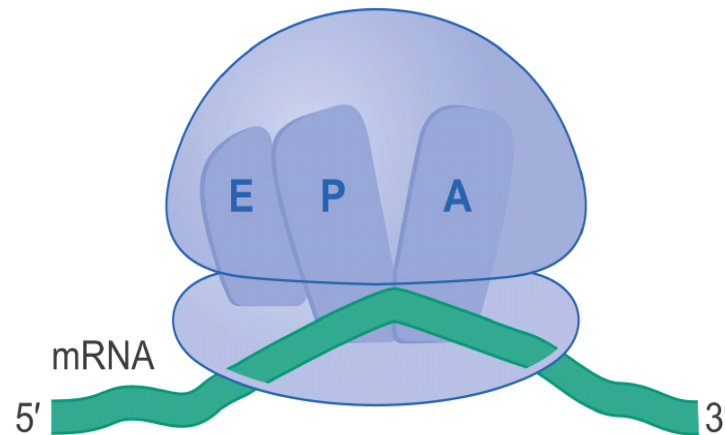
Figure 7-34 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

# 核糖体上重要位点

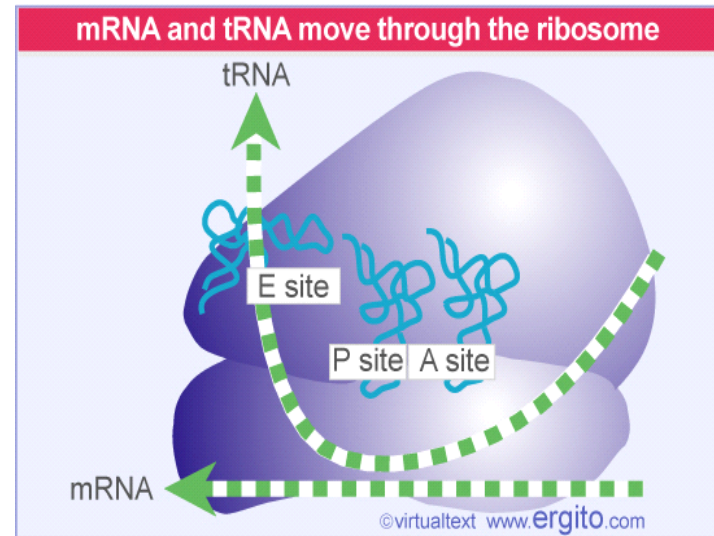
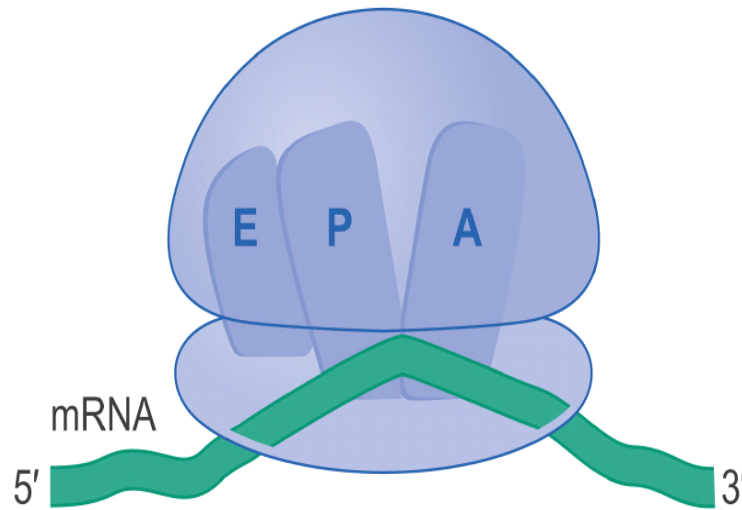


- 核糖体小亚基负责对模板**mRNA**进行序列特异性识别，
- 大亚基负责携带氨基酸及**tRNA**的功能，肽键的形成、**AA-tRNA**、**肽基-tRNA**的结合等主要在大亚基上。

# 核糖体上重要位点

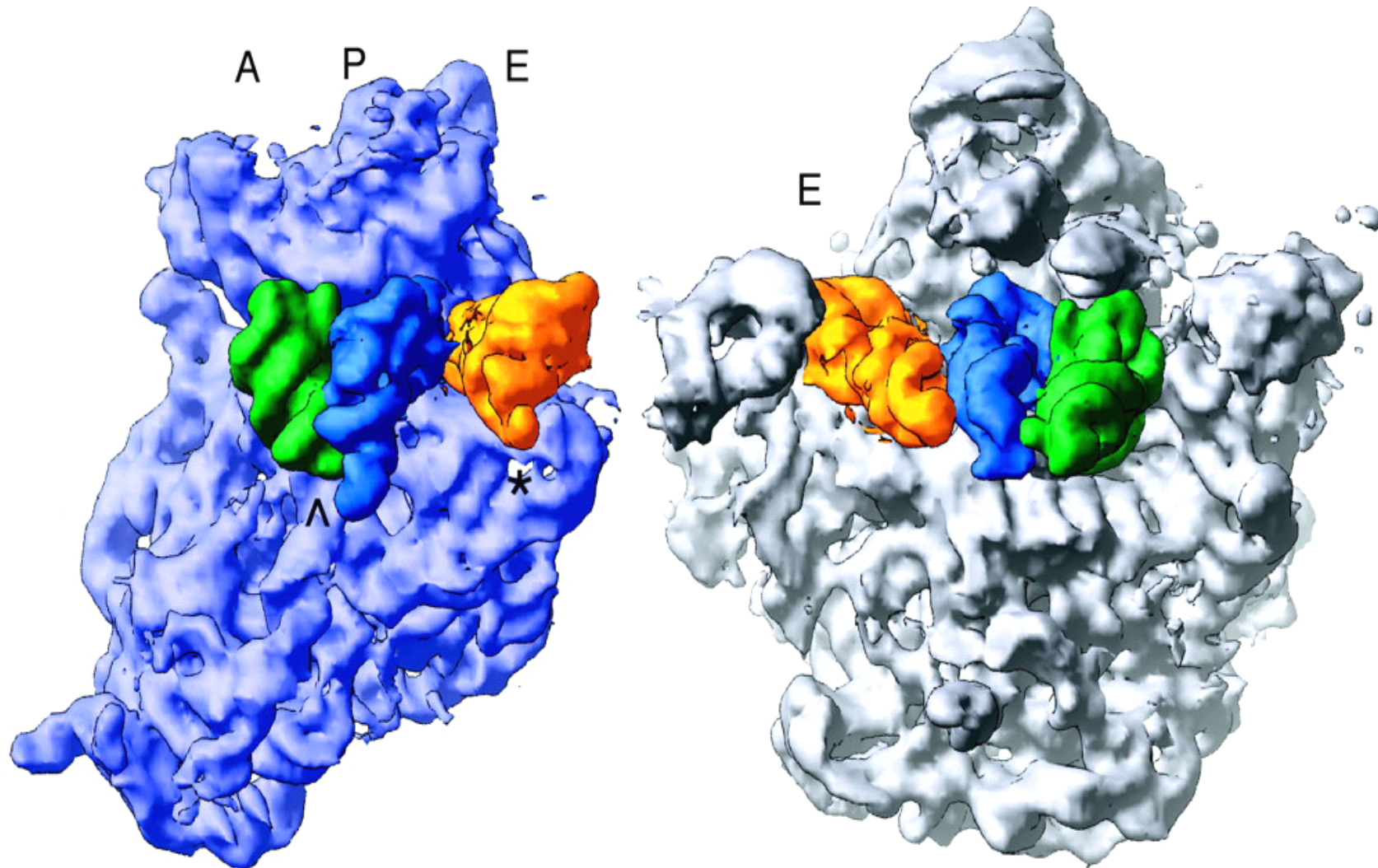


- **A**位点(**aminoacyl site**),新到来的氨酰-**tRNA**的结合位点;
- **P**位点(**peptidyl site**),肽酰-**tRNA**结合位点;
- **E**位点(**Exit site**), 释放去氨酰-**tRNA**的位点。



- 只有 **fMet-tRNA<sup>fMet</sup>** 能与第一个 **P** 位点相结合，其它所有 **tRNA** 都必须通过 **A** 位点到达 **P** 位点，再由 **E** 位点离开核糖体。
- 每一个 **tRNA** 结合位点都横跨核糖体的两个亚基，位于大、小亚基的交界面。

# Location of tRNAs



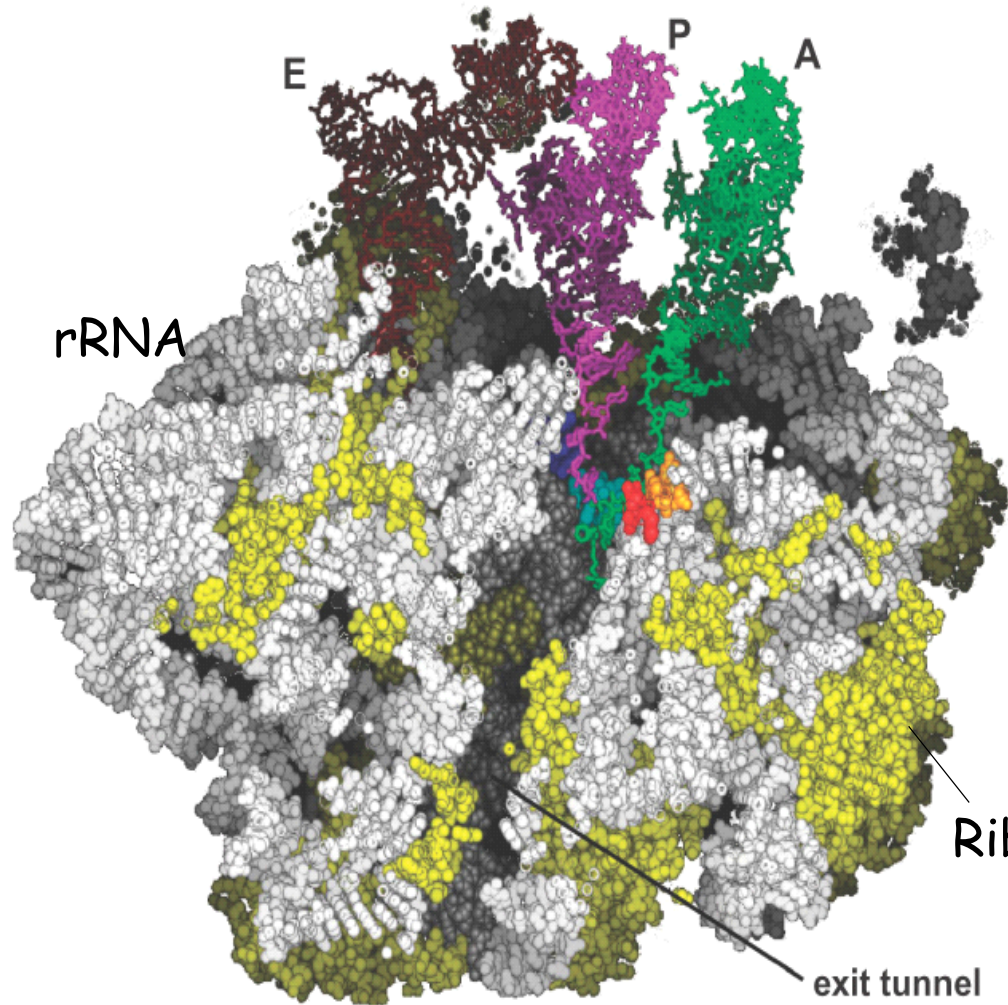
Cate et al., Science 1999

## Channels for mRNA entering and exiting are located in the small subunit



There is a pronounced **kink** in the mRNA between the two codons at P and A sites. This kink places the vacant A site codon for aminoacyl-tRNA interaction.

# Channel for polypeptide chain exiting locates in the large subunit



The size of the channel only allow a very limited folding ( $\alpha$  helix) of the newly synthesized polypeptide.



谢谢!

