

Chapter 15 Protein Biosynthesis and Gene expression

(단백질 합성과 유전자 발현)

- * Genetic code (유전암호), codon
- * codon-anticodon interaction
- * DNA의 유전정보에 따라 mRNA를 주형으로 단백질을 합성한다.
- * 단백질합성과정 : Initiation, elongation, termination
- * Peptide bond를 함유하고 있지만 유전정보에 의하여 합성되지 않는 물질
 - Glutamine, hippuric acid, glutathione, gramicidin S

1. 단백질 합성기구

1) mRNA :

- 단백질 합성을 위해 DNA로부터 정보를 그대로 복사하여 운반하는 역할
- Polycistronic mRNA : 여러 단백질을 합성할 수 있는 유전정보를 함유
- Cistron : polypeptide를 합성하는 정보와 ribosome 기능에 필요한 신호분자를 가지고 있는 DNA sequence

* Heterogeneous nuclear RNA (hnRNA) :

- DNA의 1차전사물, 핵내에서 합성, mRNA 전구체이다

* Small nuclear RNA(snRNA)

- 90 - 300bp로 이루어져 있다
- 여러 단백질과 결합하여 작은 핵 리보뉴클레오단백질 분자(snurps)를 형성
- 기능 : RNA processing과 스플라이싱(splicing)에 관여

* RNA splicing : matured mRNA 형성

2) tRNA

- m/o : 60여종의 tRNA(동일한 amino acid에 대하여 수종의 tRNA존재)
- Eukaryote : 100~120종의 tRNA (염기서열결정)
- tRNA의 3'end은 모든 tRNA에서 -CCA로 되어있다.
 - 5'end은 85% 이상이 G, 나머지는 C이다
- Amino acid는 3'end의 3'-OH group에 ester결합
- tRNA 기능은 genetic information을 운반

◎ tRNA는 몇 가지 특이적인 결합부위를 가진다.

- mRNA의 triplet codon에 상보적인 : anticodon부위
- amino acid 결합부위 : 3' end (-CCA)
- ribosome 결합부위
- amino acyl-tRNA에 synthetase을 구별하여 특이 아미노산을 tRNA에 결합시키는 synthetase부위

[tRNA structure]

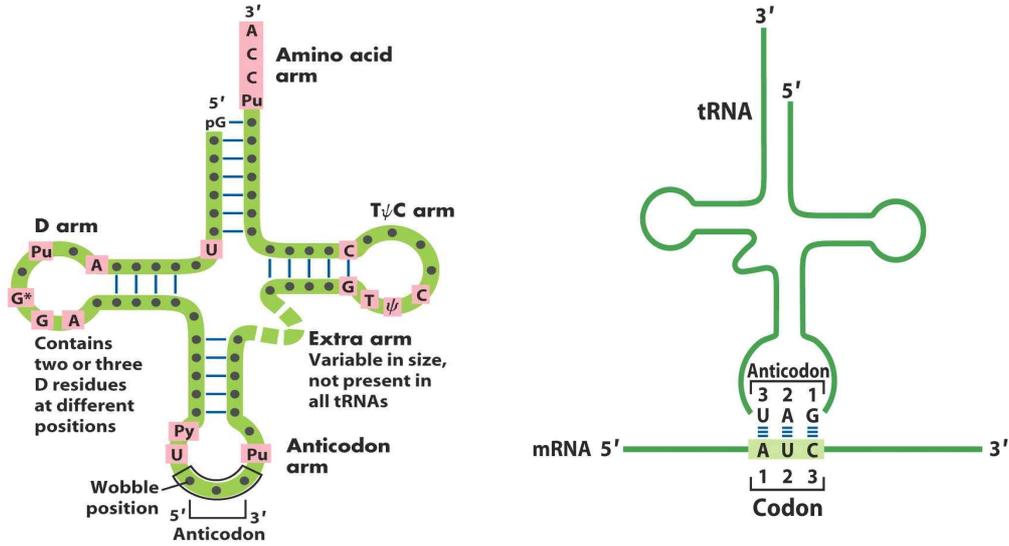


Fig. General cloverleaf secondary structure of tRNAs

3) Ribosome

- * 라이보솜은 두 소단위체로 구성된 리보핵산단백질 입자이다.
- * 16S rRNA는 30S ribosome이 mRNA와 연결되는데 관여한다.
- * Ribosome have three sites : A-site (amino acyl-tRNA), P-site (peptidyl) E-site (나가는 자리)

4) Genetic codon [유전암호]

- $4^3 = 64$ codon이 가능
- Sense codon : 61, Initiation codon : AUG(혹은 GUG)
- nonsense codon (stop codon, termination codon) : UAA, UAG, UGA

First letter of codon (5' end)

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

TABLE 27-3 Degeneracy of the Genetic Code

Amino acid	Number of codons	Amino acid	Number of codons
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6

Fig. mRNA에 있는 아미노산부호의 사전

5) Genetic code의 특성

- 유전암호는 핵산과 단백질 정보를 연결한다.
- 유전암호는 공통(universal)으로 거의 모든 생물체가 동일한 암호를 사용한다.
그러나 모든 유전체가 동일 암호로 번역되지 않는다.
- codon은 중복되지 않는다.
- 유전암호는 **중복성 암호(degenerate code)**를 가진다.
대부분의 아미노산의 경우 하나 이상의 암호가 있다.

👉 유전암호의 많은 중복성이 가지는 생물학적 중요성은 무엇인가?
돌연변이의 나쁜 효과를 최소한도로 줄이는 것이다

※ Operon (유전자표현의 단위)

- 한 개 이상의 관련유전자와 그의 전사를 조절하는 operator와 promoter로 이루어진 것

ex) Lac operon, Trp operon

※ Open reading frame (ORF) :

- 하나의 완전한 단백질을 합성하는 번역의 해독틀
- Upstream region : 5' UTR
- Down stream region : 3' UTR

※ Wobble hypothesis :

- 세 번째 염기의 가변성

※ Nonsense mutation (prematurely terminated) :

- 단백질합성의 미성숙합성 정지로 3가지 형태가 있다
- UAA : amber mutation
- UAG : ochre mutation
- UGA : opal mutation

※ Shine-Dalgarno sequence : S-D 염기서열

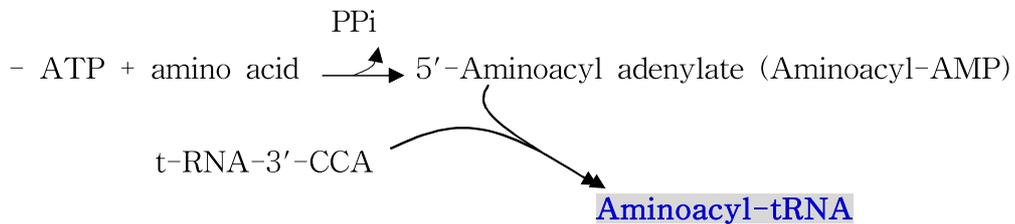
- initiating signal (개시신호)
- Prokaryote mRNA의 5' end에 존재, 단백질 합성속도조절
- 30S ribosome 의 16S rRNA 3'end에서 Shine-Dalgarno sequence 와 base pair를 이룬다.
- 모든 박테리아 유전자가 S-D 염기서열을 가지고 있는 것은 아니다.

2. Protein Synthesis

- * 단백질 합성은 가장 복잡한 생합성 과정
- * 진핵세포의 단백질 합성에는 70가지 이상의 서로 다른 라이보솜 단백질이 작용
- * 전구체가 되는 아미노산의 활성화에 20가지 이상의 효소가 필요
- * 단백질 합성에서 세포내 모든 합성 반응에 사용되는 화학에너지의 90% 이용
- * 세균은 15,000개의 ribosome, 100,000개의 관련단백질 인자와 효소, 200,000개의 tRNA 존재
- * **단백질합성과정(5단계) : [개시, 연장, 종료] + [전구체 활성화 + 합성 후 가공]**
- * 단백질 합성 후 protein folding

1) Activation of amino acid (아미노산의 활성화) : ATP, Mg⁺⁺

- 아미노산은 처음 아데닐화로 활성화된다. (아미노산 + ATP)
- Takes place in the **cytosol** (ribosome ×)
- 효소 : amino acyl-tRNA synthetases (Mg⁺⁺ dependent)
- **Amino acylation of tRNA (charged tRNA)**



- 아미노아실-tRNA를 합성하는 데 2분자에 해당하는 ATP가 소비된다.

2) Initiation(개시) :

- mRNA, N-formylmethionyl-tRNA, AUG(개시코돈), 30S, 50S ribosome, GTP, Mg⁺⁺, Initiation factor (IF-1, IF-2, IF-3)
- 박테리아에서 단백질 합성은 **포르밀 메티오닐 tRNA로 개시**된다.

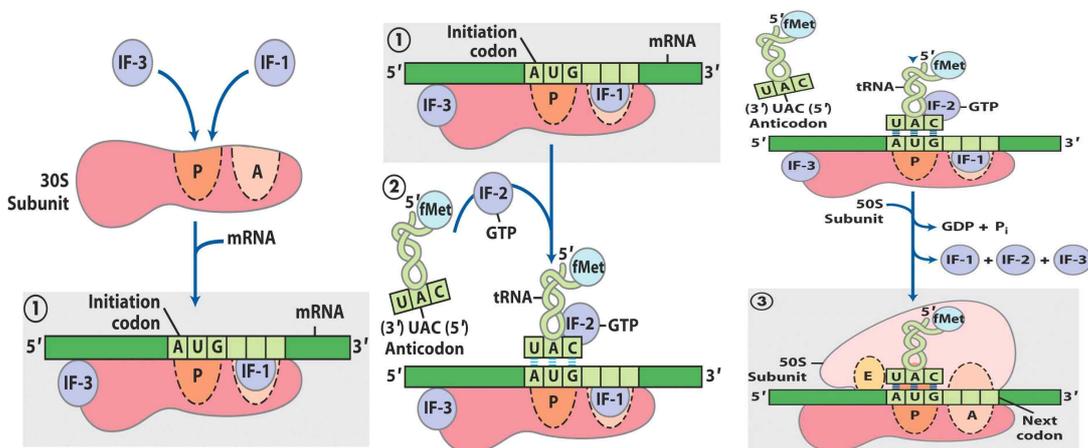


Fig. Formation of the initiation complex in bacteria

3) Elongation (연장) :

- Functional 70S ribosome (개시복합체), GTP, Mg⁺⁺, **Peptidyltransferase**
- Elongation factor : EF-Tu, EF-Ts, EF-G
- 연장인자들은 아미노아실-tRNA를 리보솜에 넘겨준다.
- Peptidyltransferase는 펩타이드결합 합성을 촉진
- Polypeptide는 아미노말단에서 카르복실말단으로 합성된다.

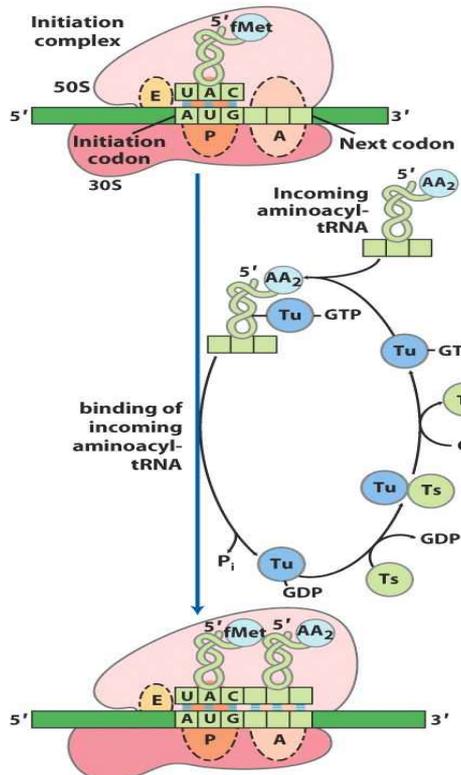


Fig. First elongation step in bacteria: binding of the second aminoacyl-tRNA.

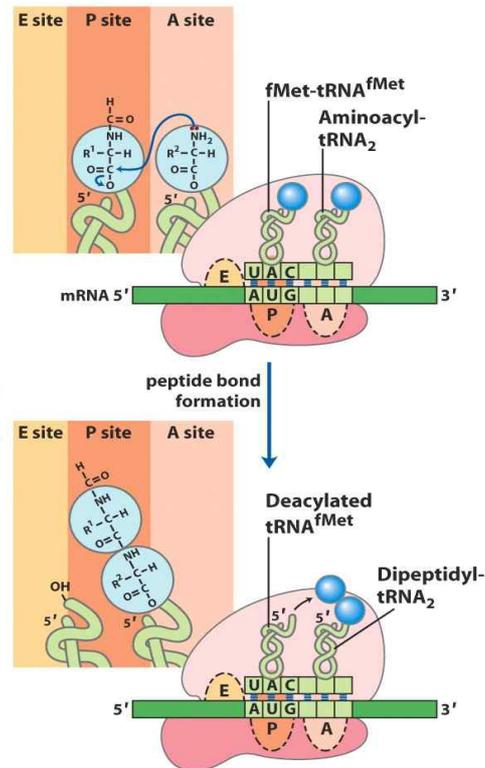


Fig. Second elongation step in bacteria: Formation of the first peptide bond

◎ Translocation (위치이동) 기전

- mRNA가 한번에 한 코돈씩 라이보솜을 통하여 이동하는 작용
- 펩타이드결합 뒤 GTP로 추진되는 tRNA들과 mRNA 의 위치이동이 일어난다
- GTP가 관여한다.

◎ Polyribosome or polysome

- 많은 ribosome들이 한 mRNA 분자를 동시에 번역할 때 형성된다

◎ Polypeptide는 아미노말단에서 카르복실말단 방향으로 합성된다.

◎ 소포체에 결합된 ribosome 들은 분비성 단백질과 막단백질을 만든다

4) Termination and release

- Termination codon in mRNA (폴리펩티드 합성의 종료에 특별한 신호가 필요)
- Polypeptide release factors : RF1, RF2, RF3
- ATP (단백질합성의 정확성을 위해 에너지가 필요)

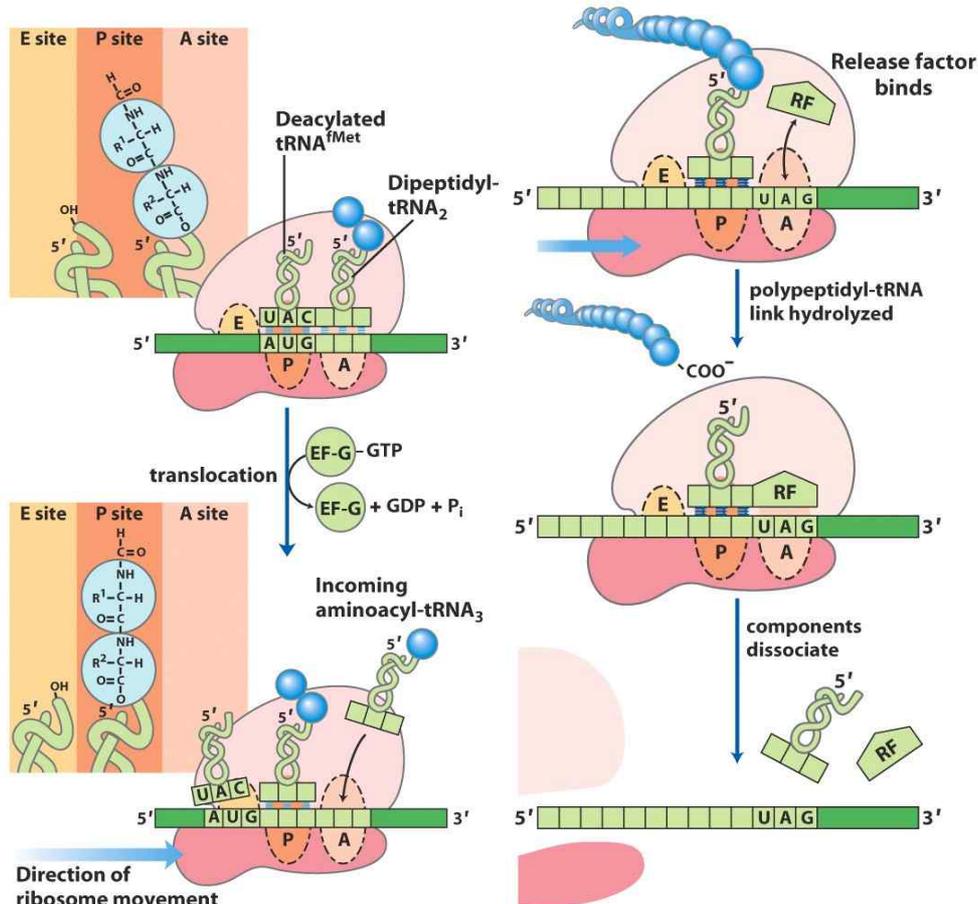


Fig. Third elongation step: translocation Fig. Termination of protein synthesis

5) Folding and processing

(새로 합성된 폴리펩티드 사슬은 접힘과 가공과정을 거친다)

- Amino-terminal and carboxyl-terminal modifications
- Loss of signal sequence
- Modification of individual amino acids : phosphorylation
- Attachment of carbohydrate side chains
- Formation of disulfide cross-links

6) Protein synthesis is inhibited by many antibiotics and toxins

- 퓨로마이신(puromycin) : 아미노아실 tRNA 유사체, 조기종결(원핵, 진핵)
- tetracycline : 아미노아실 tRNA가 리보솜의 A자리에 결합하는 것을 억제(원핵 o)
- chloramphenicol : 펩티드의 전위를 저해하여 단백질 합성억제(진핵 x)
- cycloheximide : 진핵세포의 80S 리보솜의 peptidyltransferase 억제(원핵 x)

3. 단백질의 표적지화와 분해 (protein targeting and degradation)

- * 세포질의 라이보솜에서 합성된 단백질은 최종 세포내 목적지를 어떻게 찾아갈까? **처음은 소포체에서 시작한다.**
- * Targeting pathways에서 가장 중요한 요소는 **신호서열(signal sequence)**이라고 불리는 **짧은 아미노산 서열**이다

- 1) 많은 진핵세포 단백질의 번역 후 변형은 **소포체에서 시작된다.**
 - **signal recognition particle (SRP)**

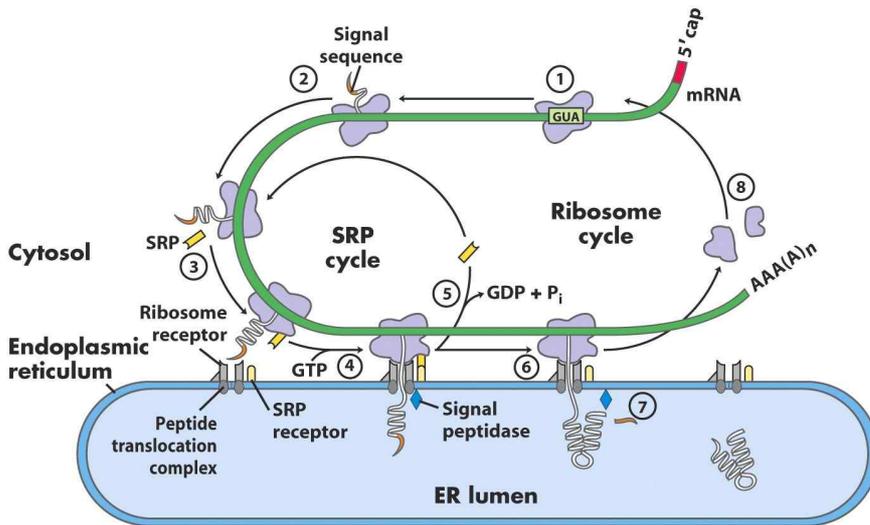


Fig. 고유의 신호를 가지고 있는 진핵세포단백질의 소포체로의 이송

- 2) **Glycosylation**은 단백질 표적지화에서 중요한 역할을 한다.
- 3) 핵 운반을 위한 Signal sequence는 절단되지 않는다.
 - **the nuclear localization sequence, NLS (핵 배치서열)**
- 4) Bacteria도 단백질 표적지화를 위하여 signal sequence를 사용한다.
- 5) 세포는 수용체를 매개로한 **세포내 이입(endocytosis)**에 의하여 단백질을 세포내로 받아들인다.
 - ex) LDL, transferrin(철운반 단백질), peptide hormones, 분해될 순환 단백질
- 6) 단백질의 분해는 모든 세포에서 특별한 체계에 의하여 일어난다.
 - 단백질의 분해는 비정상이거나 필요치 않은 단백질이 생성되는 것을 방지하고 아미노산의 재사용을 가능하게 한다.
 - ex) *E. coli* : 많은 단백질이 **ATP의존성 protease (Lon)**에 의하여 분해된다.
 - 2분자의 ATP가 매 peptide 결합을 절단하기 위하여 분해된다.
 - ex) 진핵세포에 있어서 **ATP 의존 분해경로는 ubiquitin**을 포함하여 전혀 다른 것이다. **[26S proteasome] ubiquitin-protein을 분해)**
 - **유비퀴틴의존 단백질 분해**는 결합이 있는 단백질을 제거할 뿐만 아니라 세포내 조절과정에도 중요한 기능을 한다.
 - **cyclin의 유비퀴틴 의존분해**는 세포주기 조절에 있어서 중요하다.

4. Gene expression (유전자 발현)

- 인간 유전체의 약 35,000 개의 유전자 중에서 일부만이 하나의 세포에서 일정시기에 발현된다.
- 일부 유전자 산물의 필요성은 시기에 따라 변한다
- 단백질 합성에 많은 에너지가 필요한 점을 고려해 보면 유전자 발현의 조절은 사용 가능한 에너지의 효율적인 이용에 필수적이다.

◎ 세포내 단백질의 농도는 적어도 7가지 과정의 조절기작에 의하여 결정된다.

- ① 일차 RNA 전사물의 합성
- ② mRNA 전사 후 변형 : alternative splicing pattern, RNA editing
- ③ mRNA 분해
- ④ Protein synthesis (translation)
- ⑤ Posttranslational modification of proteins
- ⑥ 단백질 표적화와 수송
- ⑦ Protein degradation

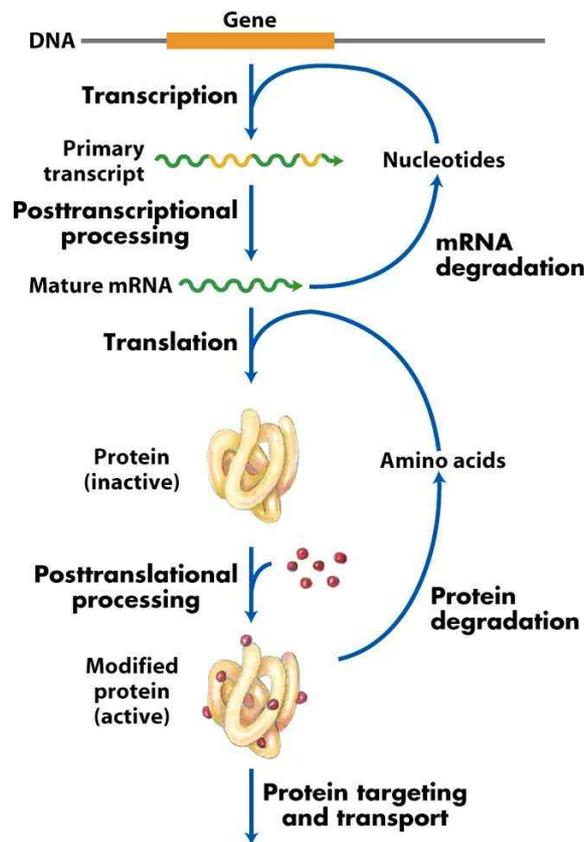


Fig. Seven process that affect the steady state concentration of a protein

1) 유전자 조절의 원리

- * **Constitutive or housekeeping genes** are routinely transcribed because they code for gene products required for cell function
 - **Constitutive or housekeeping genes** : 구성유전자 or 살림유전자
- * **Inducible gene** are expressed only under certain circumstances

① RNA polymerase는 DNA promoter에 결합한다.

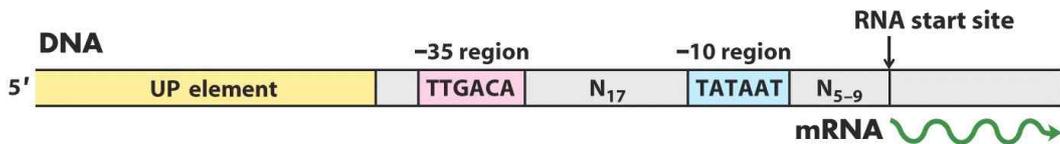


Fig. Consensus sequence(공통서열) for many *E. coli* promoters

② 전사개시는 promoter에 직접 또는 근처에 결합하는 단백질에 의하여 조절된다

- Negative regulation : 전사를 방해하는 억제자에 의한 조절
- Positive regulation : 활성자가 DNA에 결합하면 촉진자에서 RNA polymerase의 활성이 증가

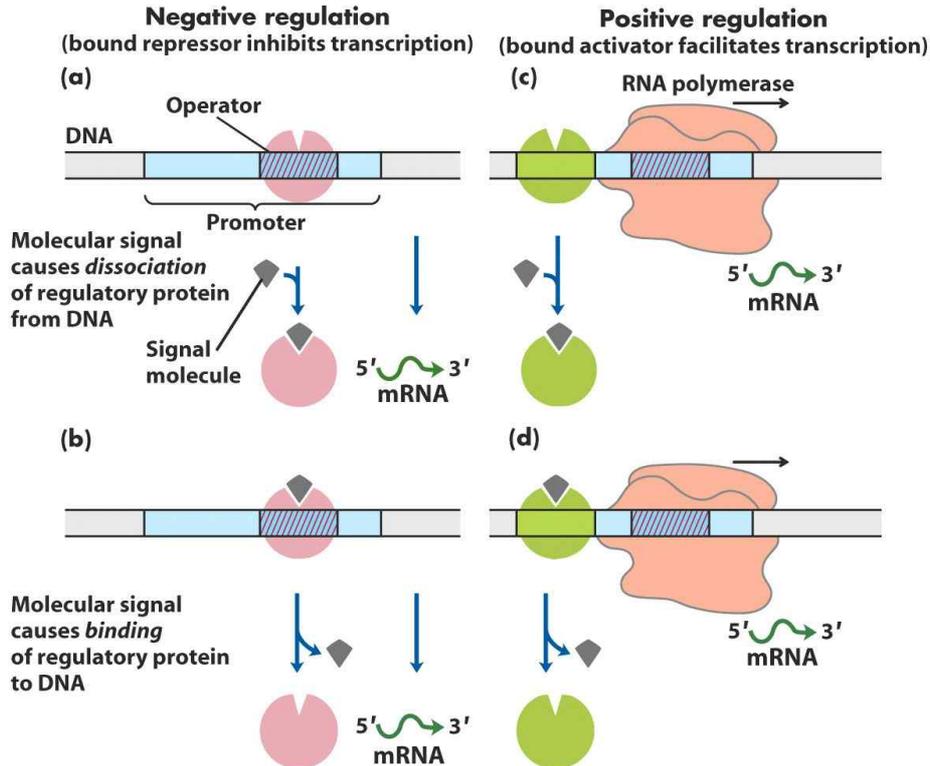


Fig. Common patterns of regulation of transcription inhibition

③ Many prokaryotic genes are regulated in units called operons

- Operon : 유전자 표현의 단위

한 개 이상의 관련 유전자와 그의 전사를 조절하는 operator와 프로모터 서열로 이루어진 것

④ The lac operon is subject to negative regulation

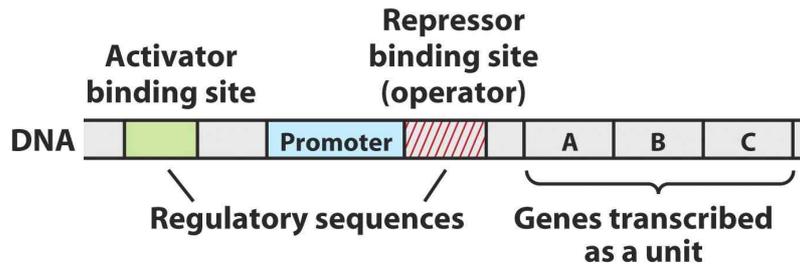


Fig. Representative prokaryotic operon

유전자 A, B, C는 하나의 다이스트론 mRNA로 전사된다.

⑤ 조절단백질은 뚜렷이 구별되는 DNA 결합영역들을 가지고 있다.

◎ DNA-protein interaction :

- 유전자 발현을 조절하기 위하여 living cells에 의하여 사용되고 있는 대부분의 기작은 DNA-protein 상호작용과 관계가 있다.
- 소수성상호작용, 수소결합, 아미노산과 염기간의 이온결합을 포함하는 수많은 접촉은 결과적으로 매우 특별한 DNA-protein 결합을 하게 한다.

◎ DNA 조절단백질의 3차구조

- Helix-turn-helix - Helix-loop-helix
- Leucine zipper - Zinc finger

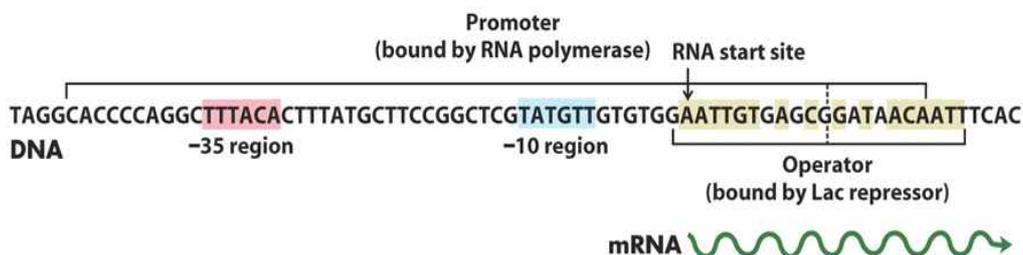


Fig. Lac 작동자 서열과 lac 촉진자의 관계

2) 원핵생물에서 유전자 발현의 조절

① Lac 오페론은 양조절을 받는다.

◎ 이화물 억제 (Catabolite repression) :

글루코스 이외의 탄수화물분해에 필요한 효소를 글루코스가 억제하는 것

◎ **Catabolite gene activator protein (CAP) : 이화대사 활성단백질**

- CAP = cAMP와 cAMP 수용체 단백질로 CRP라고도 한다.
- Allosteric dimer로서 포도당이 없을 때 젓당 promoter 위쪽의 DNA에 결합
- **CAP은 cAMP에 결합하기 때문에 포도당 농도를 나타내는 척도가 된다.**
- CAP 결합은 lac promoter에 대한 RNA 중합효소의 친화성을 증가시켜 전사를 촉진한다.

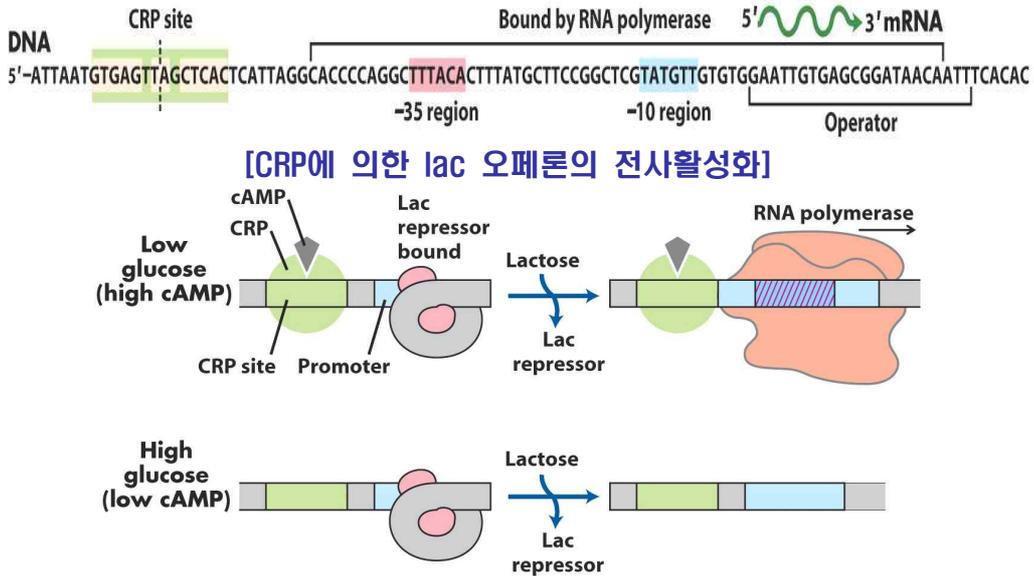


Fig. Combined effects of glucose and lactose on expression of the lac operon

- ② 많은 생합성효소의 유전자들은 전사 감쇠에 의하여 조절된다.
- ③ 일부부유전자들은 유전자 재조합에 의하여 조절된다.

◎ **Lac operon**

