



Interactions moléculaires et initiation de la synthèse protéique

**Francis Poulin
Stéphane Pyronnet**

F. Poulin, S. Pyronnet : Laboratoire du Dr Nahum Sonenberg, Département de biochimie, Université McGill, 3655, rue Drummond, Montréal, Québec, H3G 1Y6 Canada.

► L'initiation de la synthèse protéique requiert la reconnaissance du codon d'initiation AUG d'un ARNm par un ribosome portant l'ARN de transfert initiateur chargé d'un résidu méthionine (Met-ARN_i^{Met}). Chez les eucaryotes, l'initiation s'opère en trois étapes essentielles : la formation du complexe de pré-initiation, sa liaison à l'ARN messenger, et enfin son positionnement sur le codon initiateur. L'intégrité du mécanisme dépend d'une série d'interactions moléculaires entre les différents facteurs d'initiation, le Met-ARN_i^{Met}, la sous-unité ribosomique 40S et l'ARNm. L'initiation est un processus complexe soumis à de multiples contrôles. Ces mécanismes de régulation sont exploités par différents virus pour détourner l'appareil traductionnel de la cellule à leur profit. ◀

Au cours de ces dernières années, de nombreux travaux ont démontré l'importance du contrôle de la synthèse protéique comme instrument de modulation de l'expression des gènes eucaryotes. L'importance de ce mode de régulation a été décrite au cours de différents processus biologiques, tels que le développement, la croissance et la prolifération cellulaire [1]. La synthèse protéique peut être modulée lors de chacune des trois étapes qui la composent : initiation, élongation et terminaison. Cependant, l'essentiel des mécanismes de contrôle connus concerne l'étape d'initiation [2]. L'initiation de la synthèse protéique procède en une série d'interactions moléculaires aboutissant à la mise en place d'un ribosome chargé de l'ARN de transfert-méthionyl initiateur (Met-ARN_i^{Met}) sur le premier codon AUG d'un ARNm (voir [3, 4]). Chez les procaryotes, ce processus est facilité par l'existence d'une interaction directe entre la petite sous-unité ribosomique et une séquence cible spécifique située en amont du codon AUG sur l'ARNm (séquence de Shine-Dalgarno). Les ARNm eucaryotes sont dépourvus d'une telle séquence. En

revanche, leurs extrémités possèdent des structures particulières : la coiffe en 5' (m⁷GpppN, où N représente n'importe quel nucléotide) et la queue polyadénylée en 3' (poly-A). Toutes deux interagissent directement ou indirectement avec des facteurs d'initiation (eIF : *eukaryotic initiation factor*), qui facilitent le recrutement du ribosome et son positionnement sur le codon initiateur. Ce mécanisme est plus complexe que chez les procaryotes, mais il assure une régulation plus fine. Ainsi, la modulation d'interactions moléculaires cruciales entre les facteurs d'initiation permet de contrôler le taux de traduction des ARNm lors de situations physiologiques ou encore pathologiques. Par exemple, de nombreux virus ont développé diverses stratégies afin de détourner l'appareil traductionnel à leur profit, souvent au détriment de la cellule hôte.

Les facteurs d'initiation de la synthèse protéique peuvent être arbitrairement répartis en cinq groupes en fonction du rôle qu'ils exercent [4]. Les facteurs du groupe eIF1 favorisent le déplacement de la sous-unité ribosomique 40S le long de l'ARNm jusqu'au codon initiateur [5-7]. Le facteur eIF2, associé à une molécule

de GTP, relie le Met-ARN_i^{Met} à la sous-unité ribosomique 40S. Le facteur eIF3 empêche la réassociation des deux sous-unités ribosomiques (40S et 60S) et facilite la liaison de la sous-unité 40S à l'ARNm. Les facteurs du groupe eIF4 stimulent l'hydrolyse du GTP par eIF2 ainsi que la liaison de la sous-unité ribosomique 60S lorsque le complexe de pré-initiation 43S à l'extrémité 5' de l'ARNm [8]. Enfin, les facteurs du groupe eIF5 stimulent l'hydrolyse du GTP par eIF2 ainsi que la liaison de la sous-unité ribosomique 60S lorsque le complexe de pré-initiation a identifié un codon initiateur [9, 10].

Formation et recyclage du complexe de pré-initiation

eIF2 est un complexe trimérique dont chaque sous-unité (α , β et γ) exerce une fonction précise (figure 1A; [11, 12]). Lorsqu'il est associé à une molécule de GTP, eIF2 interagit avec le Met-ARN_i^{Met} et forme un complexe ternaire eIF2•GTP•Met-ARN_i^{Met}, qui se lie à la sous-unité ribosomique 40S (figure 1B). Le complexe de pré-initiation 43S ainsi formé est recruté à l'extrémité 5' de l'ARNm (voir plus loin), puis scrute la région 5' non traduite jusqu'au codon initiateur (scanning). eIF5 stimule alors l'hydrolyse du GTP par eIF2, favorisant la dissociation des facteurs de traduction et la liaison de la sous-unité ribosomique 60S [10]. eIF2 a une affinité plus forte pour le GDP que pour le GTP. Mais un facteur d'échange GDP/GTP, appelé eIF2B, accélère son recyclage d'eIF2 (figure 1B).

La phosphorylation de la sous-unité α d'eIF2 augmente son affinité pour eIF2B [11], et l'absence d'échange GDP/GTP qui en résulte inhibe l'initiation de la synthèse protéique. Il n'est donc pas étonnant que les kinases d'eIF2 α (PKR, HRI, GCN2 et PERK) soient stimulées en réponse à des stress cellulaires qui nécessitent une diminution de la synthèse protéique [13]. Par exemple, la PKR (double-stranded RNA-activated protein kinase) est activée par les ARN double brin, semblables à ceux produits lors de la réplication virale (voir plus loin). La PKR provoque donc l'arrêt de la traduction dans les cellules infectées et empêche ainsi la multiplication virale. Une autre kinase, HRI (heme-regulated inhibitor of translation),

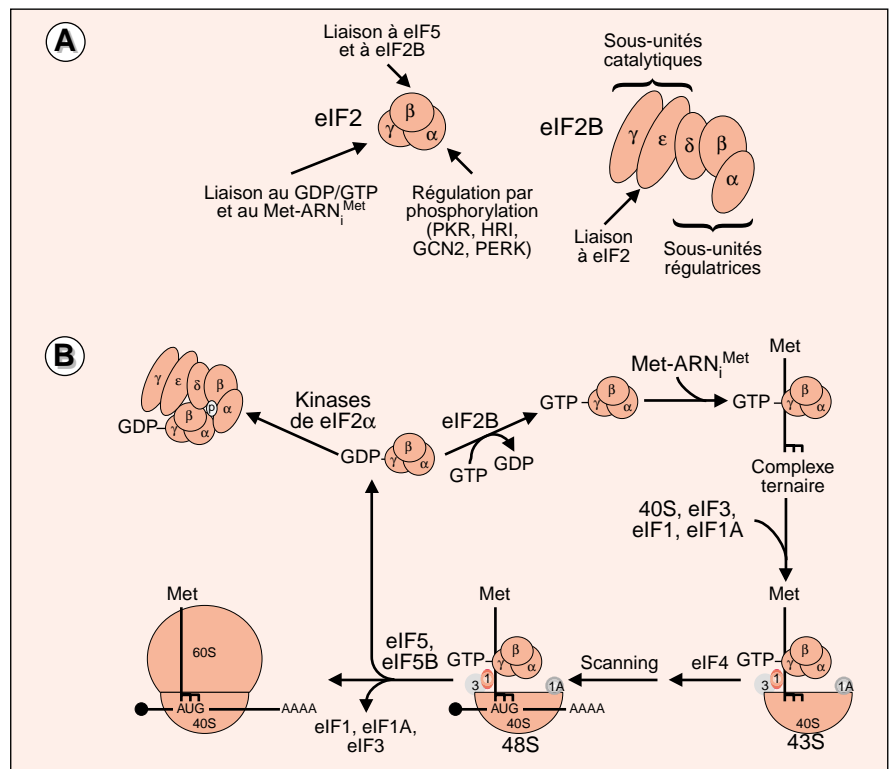


Figure 1. **Activation et recyclage du complexe de pré-initiation.** **A.** Structure d'eIF2 et d'eIF2B. eIF2 et eIF2B sont des facteurs multimériques dont plusieurs sous-unités possèdent une fonction spécifique (indiquées par les flèches). eIF2B est un facteur d'échange GDP/GTP composé de cinq sous-unités présentant des homologies (α , β et δ d'une part et ϵ et γ d'autre part). Les sous-unités α , β et δ s'assemblent en un sous-complexe régulateur impliqué dans la liaison à la forme phosphorylée d'eIF2 α , tandis que les sous-unités ϵ et γ forment un sous-complexe catalytique responsable de l'activité d'échange GDP/GTP [48]. eIF2B ϵ et eIF5 interagissent avec la même région d'eIF2 β , un motif constitué de trois séquences riches en lysine [9]. **B.** Assemblage et recyclage du complexe de pré-initiation. Lié au GTP, eIF2 interagit avec le Met-ARN_i^{Met} pour former un complexe ternaire qui, avec la sous-unité ribosomique 40S elle-même associée à eIF1, eIF1A et eIF3, constitue le complexe de pré-initiation 43S. Ce dernier reconnaît l'ARNm grâce à l'activité d'eIF3 et des facteurs du groupe eIF4 (figure 2A), puis scrute la région 5' non traduite (scanning) jusqu'à un codon initiateur AUG et forme alors le complexe de pré-initiation 48S. eIF5, probablement recruté via une interaction avec eIF3 [49], interagit avec eIF2 et stimule l'hydrolyse du GTP. Cela conduit à la dissociation des facteurs d'initiation et, avec l'aide d'eIF5B [10], favorise la liaison de la sous-unité ribosomique 60S pour former un ribosome fonctionnel pour la phase d'élongation de la synthèse protéique. Le recyclage d'eIF2•GDP en eIF2•GTP est assuré par eIF2B. Ce facteur essentiel est séquestré par la forme phosphorylée d'eIF2 α .

répond à une diminution de la concentration en hème, favorisant la régulation de la synthèse de globine dans les érythrocytes. La protéine-kinase GCN2 est, quant à elle, activée par une augmentation de la concentra-

tion des ARNt non chargés. Enfin, PERK (PKR-like ER kinase) modulerait le taux d'initiation de la traduction en réponse à un stress du réticulum endoplasmique, tel qu'une accumulation de protéines dénaturées [14].

Liaison du complexe de pré-initiation 43S à l'ARNm

Une fois assemblé, le complexe de pré-initiation 43S est recruté à l'extrémité 5' de l'ARNm par l'intermédiaire des facteurs eIF4 (eIF4F, eIF4A et eIF4B; voir [8]). eIF4F est un complexe composé de trois sous-unités: (1) eIF4E qui interagit directement avec la coiffe; (2) eIF4A, une hélicase existant soit sous forme libre, soit comme sous-unité d'eIF4F; (3) eIF4G, un adaptateur entre les multiples facteurs d'initiation, l'ARNm et la sous-unité ribosomique 40S (figure 2A). L'analyse de la structure tridimensionnelle du co-cristal eIF4E/coiffe a permis d'élucider les mécanismes moléculaires de leur interaction [15, 16]. La structure d'eIF4E ressemble à celle d'une coupole, avec huit feuillets β antiparallèles tapissant

l'intérieur et trois hélices α modelant le côté convexe. Du côté concave, deux tryptophanes forment un étroit sillon hydrophobe où s'insère le m⁷G. La liaison avec la coiffe est renforcée par plusieurs interactions de type électrostatiques, liaisons hydrogène et de van der Waals. La plupart des acides aminés impliqués dans la reconnaissance de la coiffe ont été conservés au cours de l'évolution [15, 16].

La phosphorylation d'eIF4E (Ser209; voir [8]) augmente son affinité pour la coiffe [17]. Cette observation est confirmée par l'analyse de la structure cristallographique d'eIF4E. La sérine 209 phosphorylée pourrait former une interaction électrostatique avec la lysine 159 située sur le côté opposé du sillon hydrophobe, couvrant ainsi la trajectoire prédite de l'ARNm et stabilisant la liaison entre eIF4E et l'ARNm [15]. eIF4E est phos-

phorylé *in vitro* et *in vivo* par la kinase Mnk1 (*MAP-kinase-interacting kinase-1*) [18-20], qui s'associe à l'extrémité carboxyle d'eIF4G (figure 2A [20]). *In vivo*, le rapprochement d'eIF4E et de Mnk1, grâce à leur liaison simultanée à eIF4G, facilite la phosphorylation d'eIF4E [20].

Plusieurs acides aminés situés sur la surface convexe d'eIF4E sont conservés chez tous les eucaryotes [15] et créent un site d'interaction avec eIF4G [21]. En contrepartie, eIF4G possède un segment Tyr-X-X-X-Leu- ϕ (où X représente un acide aminé variable et ϕ un acide aminé hydrophobe) également conservé au cours de l'évolution [21]. Ce motif ne semble pas former de structure particulière lorsqu'il est libre, mais adopte une conformation en hélice α une fois lié à la surface convexe d'eIF4E [21]. L'interaction entre eIF4G et eIF4E est étroitement contrôlée par trois inhibiteurs de la traduction, les 4E-BP (*eIF4E-binding proteins* [22, 23]), qui contiennent un motif de liaison à eIF4E similaire à celui d'eIF4G [8]. Les 4E-BP en compétition avec eIF4G et masquent eIF4E pour empêcher la formation d'eIF4F [21, 24] (figure 2B). La phosphorylation des 4E-BP sur certains résidus sérines et thréonines libère eIF4E [25], probablement par répulsion électrostatique [21].

Outre la reconnaissance de la coiffe, l'autre fonction importante d'eIF4F est de dénaturer les structures secondaires présentes en 5' de l'ARNm [8]. Cette fonction est assurée par eIF4A, dont les activités ATPase et ARN-hélicase sont essentielles à l'initiation de la synthèse protéique. eIF4A est intégré à eIF4F via deux domaines d'eIF4G (figure 2A), l'un situé dans la partie centrale d'eIF4G, l'autre dans son dernier tiers [26]. Le premier domaine est nécessaire à l'initiation de la traduction, tandis que le second exerce plutôt un rôle régulateur [27]. Le domaine d'eIF4A responsable de la liaison à eIF4G n'a pas encore été identifié.

In vitro, l'activité hélicase d'eIF4A est augmentée par la présence d'eIF4B, un polypeptide présent sous la forme d'homodimère et possédant deux motifs de liaison à l'ARN [28]. eIF4B peut interagir avec l'ARNr 18S et former ainsi un lien entre l'ARNm et la sous-unité ribosomique 40S [29]. Cependant, ce lien pourrait être indi-

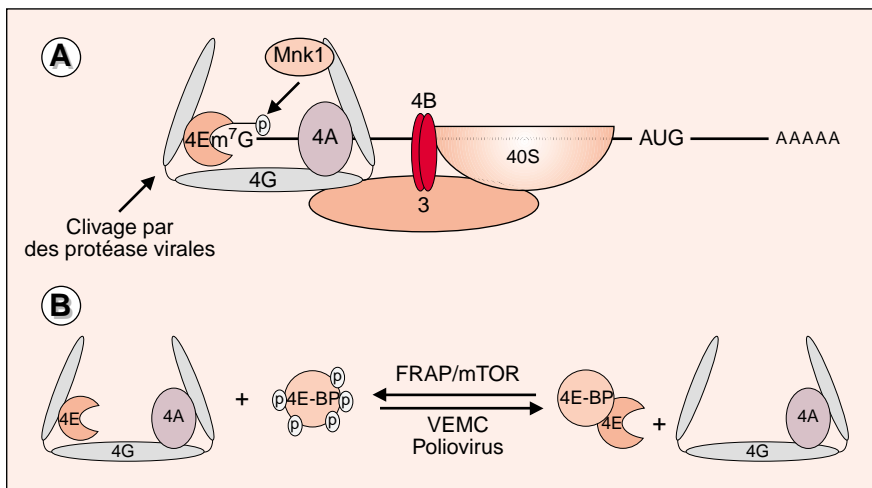


Figure 2. **Liaison du complexe de préinitiation à l'ARNm.** **A.** Reconnaissance de l'extrémité 5' de l'ARNm. eIF4F (eIF4E, eIF4A et eIF4G) interagit avec la coiffe et, en conjonction avec eIF4B et la forme libre d'eIF4A, possède une activité ARN-hélicase permettant de dénaturer les structures secondaires présentes dans la région 5' de l'ARNm. L'ARNm ainsi préparé est prêt à recevoir le complexe de préinitiation 43S, via l'interaction d'eIF3 avec eIF4G et eIF4B. L'ARNm des picornavirus ne possède pas de coiffe, et sa reconnaissance est plutôt facilitée par un IRES (internal ribosome entry site). Plusieurs picornavirus codent pour une protéase clivant eIF4G en deux fragments incapables de permettre la traduction dépendante de la coiffe, mais fonctionnels pour l'ARNm viral doté d'un IRES. eIF4E est phosphorylé par Mnk1, une kinase interagissant avec eIF4G et activée par p38, Erk1 et Erk2. **B.** Contrôle de l'initiation par les 4E-BP. La formation d'eIF4F est modulée par les 4E-BP, des inhibiteurs de la traduction capables de séquestrer eIF4E. En réponse à divers stimulus, les 4E-BP sont phosphorylés par FRAP/mTOR (FKBP12-*rapamycin* associated protein/mammalian target of rapamycin) et une kinase non identifiée, ce qui entraîne leur dissociation d'eIF4E. Le virus de l'encéphalomyocardite (VEMC) et le poliovirus induisent la déphosphorylation des 4E-BP, ce qui favorise l'inhibition de la traduction des ARNm cellulaires.

rect, via une interaction avec eIF3 (figure 2A; [30]).

eIF3 sert d'intermédiaire entre le complexe de pré-initiation 43S et l'extrémité 5' de l'ARNm par son interaction avec le segment central d'eIF4G (figure 2A; [27]). Cette région d'eIF4G comprend aussi un motif de reconnaissance de l'ARN et un des domaines de liaison à eIF4A. Lorsque cette région inclut le site de liaison à eIF4E, elle constitue la séquence minimale d'eIF4G permettant l'initiation efficace de la synthèse protéique *in vitro* [27]. La nature des interactions moléculaires entre eIF3, eIF4G, et la sous-unité ribosomique 40S reste néanmoins à élucider.

Interaction entre les extrémités 5' et 3' de l'ARNm

La séquence poly-A possède une fonction traductionnelle récemment mise en évidence (voir [31]). En effet, cette séquence poly-A stimule l'initiation de la synthèse protéique en synergie avec la coiffe. En outre, chez la levure, la protéine PABP (*poly-A binding protein*) est essentielle à cette stimulation et la présence d'eIF4E est requise pour l'action synergique entre coiffe et polyA (voir [32]).

La liaison simultanée d'eIF4G à eIF4E et PABP permet la circularisation de l'ARNm *in vitro* (figure 3A) [33-35]. Cependant, la fonction de cette circularisation reste mal comprise. Elle pourrait faciliter le recyclage de la sous-unité ribosomique 40S entre les extrémités 5' et 3' de l'ARNm, et permettrait également d'éviter la synthèse de protéines tronquées, en favorisant la traduction d'ARNm complets, qui possèdent à la fois une coiffe et une queue polyadénylée. Néanmoins, bien qu'offrant un cadre attrayant pour analyser la synergie entre la coiffe et le poly-A, ce modèle reste encore mal étayé expérimentalement.

L'ADNc codant pour un nouveau partenaire de PABP a récemment été cloné (Paip1: *PABP interacting protein 1*; [36]). Indépendamment d'eIF4G, la liaison simultanée de Paip1 à PABP et eIF4A permettrait la circularisation de l'ARNm (figure 3A). L'hypothèse selon laquelle PABP pourrait s'associer à la fois à eIF4G et à Paip1 n'a pas été vérifiée.

Infection virale et démarrage de la synthèse protéique

La compréhension des mécanismes intracellulaires exploités par certains virus a beaucoup contribué à la caractérisation de l'appareil responsable de la synthèse protéique. La plupart des facteurs ont désormais été identifiés et leur fonction caractérisée, et il est intéressant de noter que plusieurs virus ont sélectionné des stratégies visant à modifier certaines interactions moléculaires essentielles à l'initiation de la traduction (pour une discussion détaillée, voir [37]).

Lors d'une infection virale, l'activation de la PKR par l'ARN double-brin et l'inhibition de la synthèse protéique qui en résulte représentent une menace pour la réplication du virus.

Plusieurs virus ont donc développé des stratégies visant à prévenir l'activation de la PKR ou à bloquer son activité [37]. Ainsi, le virus de la vaccine produit une protéine (K3L) homologue à eIF2 α mais non phosphorylable, dont la liaison à la PKR inhibe la phosphorylation d'eIF2 α . Pour sa part, l'adénovirus produit un court ARN (160 nucléotides) dont l'interaction avec la PKR empêche son activation par l'ARN double-brin. D'autres virus bloquent la dimérisation nécessaire à l'activation de la PKR ou encore produisent des protéines piégeant l'ARN double-brin inhibiteur.

Une autre étape ciblée par les virus est la reconnaissance de la coiffe par eIF4F. L'ARNm des membres de la famille des picornavirus est traduit par un mécanisme indépendant

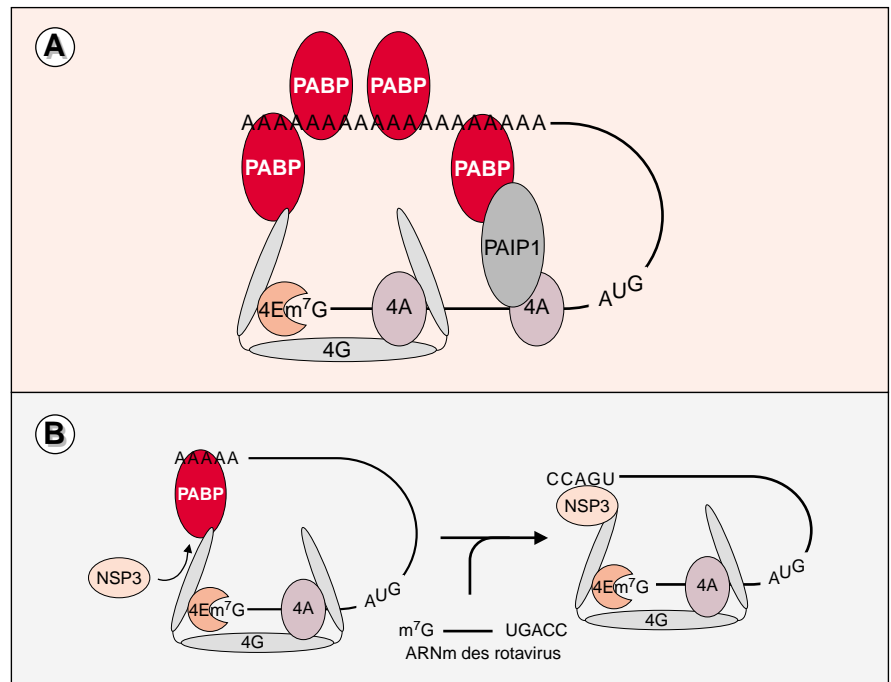


Figure 3. **Interaction entre les extrémités 5' et 3' des ARNm.** **A.** Circularisation de l'ARNm. L'interaction directe entre PABP et eIF4G suggère que les deux extrémités de l'ARNm agissent en synergie, peut-être en facilitant le recyclage de la sous-unité ribosomique 40S. PAIP1, une protéine interagissant avec eIF4A et PABP, pourrait également faciliter les contacts entre les extrémités de l'ARNm. **B.** Traduction de l'ARNm du rotavirus. L'importance de l'interaction entre PABP et eIF4G a été soulignée par la découverte d'une nouvelle stratégie virale d'inhibition de la traduction des ARNm cellulaires. L'ARNm des rotavirus n'est pas polyadénylé, mais possède une séquence de liaison à la protéine NSP3 codée par le génome viral (UGACC). NSP3 interagit avec eIF4G et exclut PABP du complexe de liaison à la coiffe. En l'absence de PABP, la traduction de l'ARNm viral est favorisée aux dépens des ARNm cellulaires polyadénylés.

d'elF4E et de la coiffe, par lequel le ribosome est recruté à l'aide d'une structure appelée IRES (*internal ribosome entry site*). Certains picornavirus (tels que le poliovirus et le rhinovirus) bloquent la traduction dépendante de la coiffe en produisant une protéase qui clive elF4G de façon à séparer les sites de liaison à elF4E et à PABP du reste de la protéine (figure 2A; [37]). Ce dernier fragment est suffisant pour traduire l'ARNm viral doté d'un IRES. Un autre picornavirus, le virus de l'encéphalomyocardite (VEMC), n'affecte pas elF4G. Il induit plutôt la déphosphorylation de 4E-BP1, lequel se lie alors à elF4E et prévient l'assemblage du complexe elF4F (figure 2B; [38]). Ce dernier mécanisme est également exploité par le poliovirus [38]. Enfin, l'importance de l'interaction entre PABP et elF4G pour la synthèse protéique a récemment été confirmée par la découverte d'une nouvelle stratégie déployée par les rotavirus pour détourner l'appareil traductionnel [39]. L'ARNm des rotavirus possède une coiffe, mais n'est pas polyadénylé. En revanche, son extrémité 3' contient un motif de liaison à la protéine NSP3 (*non-structural protein 3*), qui est en compétition avec PABP pour la liaison à elF4G (figure 3B). PABP étant ainsi évincée du complexe d'initiation, la traduction des ARNm cellulaires non circulaires est compromise. De son côté, la circularisation de l'ARNm viral par l'intermédiaire de NSP3 facilite sa traduction.

Conclusions

Chez les eucaryotes, l'initiation de la synthèse protéique dépend d'une série d'interactions moléculaires aboutissant à la localisation du codon initiateur d'un ARNm par un ribosome lié au Met-ARN_i^{Met}. Le modèle général décrivant ce processus est maintenant assez bien étayé expérimentalement, et tous les facteurs qui lui sont essentiels semblent avoir été identifiés [5]. L'analyse de leurs interactions moléculaires réciproques a rapidement progressé, entre autres grâce à l'apport important de la biologie structurale (voir, par exemple, [6, 7, 15, 16, 21, 40]). Cependant, beaucoup de travail reste à accomplir concernant la caractérisation de cer-

tains facteurs cruciaux, en particulier elF3, dont les multiples interactions sont encore mal connues. Il sera également important d'analyser l'aspect quantitatif des interactions entre les différents facteurs comme, par exemple, leurs affinités relatives. Qui plus est, de nouveaux facteurs tels que 4E-HP [41, 42], elF4AIII [43], elF4H [44] et IF2 [45] ont récemment été identifiés, mais leur rôle précis lors de l'initiation de la synthèse protéique reste mal défini. Finalement, le mécanisme par lequel le complexe de pré-initiation scrute la région 5' de l'ARNm pour localiser le codon initiateur demeure le sujet de vifs débats.

La compréhension des mécanismes moléculaires d'initiation de la synthèse protéique représente une base indispensable à l'analyse de la régulation de l'expression des gènes eucaryotes. Les découvertes récentes décrivant l'implication du contrôle de la traduction dans des processus biologiques aussi cruciaux que le cycle cellulaire (par exemple [46]) ou l'activation des lymphocytes T (par exemple [47]), révèlent l'importance de cet aspect de l'expression génétique dans la recherche fondamentale et médicale ■

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le docteur Nahum Sonenberg pour son soutien et les docteurs Léa Brakier-Gingras, Laurence Mabile, Anne-Claude Gingras et Mathieu Miron pour la lecture critique du manuscrit. Francis Poulin bénéficie d'une bourse du Conseil de recherches médicales du Canada et Stéphane Pyronnet d'une bourse postdoctorale de l'Association pour la recherche contre le cancer (ARC, France).

RÉFÉRENCES

1. Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996.
2. Mathews MB, Sonenberg N, Hershey JWB. Origins and targets of translational control. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 1-30.
3. Merrick WC, Hershey JWB. The pathway and mechanism of eukaryotic protein synthesis. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*.

Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 31-69.

4. Pain VM. Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells. *Eur J Biochem* 1996; 236: 747-71.
5. Pestova TV, Hellen CU. Ribosome recruitment and scanning: what's new? *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 85-7.
6. Battiste JL, Pestova TV, Hellen CUT, Wagner G. The elF1A solution structure reveals a large RNA-binding surface important for scanning function. *Mol Cell* 2000; 5: 109-19.
7. Fletcher CM, Pestova TV, Hellen CU, Wagner G. Structure and interactions of the translation initiation factor elF1. *EMBO J* 1999; 18: 2631-7.
8. Gingras AC, Raught B, Sonenberg N. elF4 initiation factors: effectors of mRNA recruitment to ribosomes and regulators of translation. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 913-63.
9. Asano K, Krishnamoorthy T, Phan L, Pavitt GD, Hinnebusch AG. Conserved bipartite motifs in yeast elF5 and elF2Bepsilon, GTPase-activating and GDP-GTP exchange factors in translation initiation, mediate binding to their common substrate elF2. *EMBO J* 1999; 18: 1673-88.
10. Pestova TV, Lomakin IB, Lee JH, Choi SK, Dever TE, Hellen CUT. The joining of ribosomal subunits in eukaryotes requires elF5B. *Nature* 2000; 403: 332-5.
11. Trachsel H. Binding of initiator methionyl-tRNA to ribosomes. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 113-38.
12. Dever TE. Translation initiation: adept at adapting. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 398-403.
13. Clemens MJ. Protein kinases that phosphorylate elF2 and elF2B, and their role in eukaryotic cell translational control. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 139-72.
14. Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature* 1999; 397: 271-4.
15. Marcotrigiano J, Gingras AC, Sonenberg N, Burley SK. Cocystal structure of the messenger RNA 5' cap-binding protein (elF4E) bound to 7-methyl-GDP. *Cell* 1997; 89: 951-61.
16. Matsuo H, Li H, McGuire AM, et al. Structure of translation factor elF4E bound to m7GDP and interaction with 4E-binding protein. *Nat Struct Biol* 1997; 4: 717-24.
17. Minich WB, Balasta ML, Goss DJ, Rhoads RE. Chromatographic resolution of *in vivo* phosphorylated and nonphosphorylated eukaryotic translation initiation factor elF-4E: increased cap affinity of the phosphorylated form. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7668-72.

RÉFÉRENCES

18. Waskiewicz AJ, Flynn A, Proud CG, Cooper JA. Mitogen-activated protein kinases activate the serine/threonine kinases Mnk1 and Mnk2. *EMBO J* 1997; 16: 1909-20.

19. Waskiewicz AJ, Johnson JC, Penn B, Mahalingam M, Kimball SR, Cooper JA. Phosphorylation of the cap-binding protein eukaryotic translation initiation factor 4E by protein kinase Mnk1 *in vivo*. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1871-80.

20. Pironnet S, Imataka H, Gingras AC, Fukunaga R, Hunter T, Sonenberg N. Human eukaryotic translation initiation factor 4G (eIF4G) recruits Mnk1 to phosphorylate eIF4E. *EMBO J* 1999; 18: 270-9.

21. Marcotrigiano J, Gingras AC, Sonenberg N, Burley SK. Cap-dependent translation initiation in eukaryotes is regulated by a molecular mimic of eIF4G. *Mol Cell* 1999; 3: 707-16.

22. Pause A, Belsham GJ, Gingras AC, et al. Insulin-dependent stimulation of protein synthesis by phosphorylation of a regulator of 5'-cap function. *Nature* 1994; 371: 762-7.

23. Poulin F, Gingras AC, Olsen H, Chevalier S, Sonenberg N. 4E-BP3, a new member of the eukaryotic initiation factor 4E-binding protein family. *J Biol Chem* 1998; 273: 14002-7.

24. Haghighat A, Mader S, Pause A, Sonenberg N. Repression of cap-dependent translation by 4E-binding protein 1: competition with p220 for binding to eukaryotic initiation factor-4E. *EMBO J* 1995; 14: 5701-9.

25. Gingras AC, Kennedy SG, O'Leary MA, Sonenberg N, Hay N. 4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 1998; 12: 502-13.

26. Imataka H, Sonenberg N. Human eukaryotic translation initiation factor 4G (eIF4G) possesses two separate and independent binding sites for eIF4A. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 6940-7.

27. Morino S, Imataka H, Svitkin YV, Pestova TV, Sonenberg N. Eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) binding site and the middle one-third of eIF4G constitute the core domain for cap-dependent translation, and the C-terminal one-third functions as a modulatory region. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 468-77.

28. Methot N, Pause A, Hershey JW, Sonenberg N. The translation initiation factor eIF4B contains an RNA-binding region that is distinct and independent from its ribonucleoprotein consensus sequence. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 2307-16.

29. Methot N, Pickett G, Keene JD, Sonenberg N. *In vitro* RNA selection identifies RNA ligands that specifically bind to eukaryotic translation initiation factor 4B: the role of the RNA recognition motif. *RNA* 1996; 2: 38-50.

30. Methot N, Song MS, Sonenberg N. A region rich in aspartic acid, arginine, tyrosine, and glycine (DRYG) mediates eukaryotic

initiation factor 4B (eIF4B) self-association and interaction with eIF3. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 5328-34.

31. Jacobson A. Poly(A) metabolism and translation: the closed-loop model. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 451-80.

32. Sachs AB, Sarnow P, Hentze MW. Starting at the beginning, middle, and end: translation initiation in eukaryotes. *Cell* 1997; 89: 831-8.

33. Tarun SZ, Jr, Sachs AB. Association of the yeast poly(A) tail binding protein with translation initiation factor eIF4G. *EMBO J* 1996; 15: 7168-77.

34. Imataka H, Gradi A, Sonenberg N. A newly identified N-terminal amino acid sequence of human eIF4G binds poly(A)-binding protein and functions in poly(A)-dependent translation. *EMBO J* 1998; 17: 7480-9.

35. Wells SE, Hillner PE, Vale RD, Sachs AB. Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors. *Mol Cell* 1998; 2: 135-40.

36. Craig AW, Haghighat A, Yu AT, Sonenberg N. Interaction of polyadenylate-binding protein with the eIF4G homologue PAIP enhances translation. *Nature* 1998; 392: 520-3.

37. Mathews MB. Interactions between Viruses and the Cellular Machinery for Protein Synthesis. In: Hershey JWB, Mathews MB, Sonenberg N, eds. *Translational control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 505-48.

38. Gingras AC, Svitkin Y, Belsham GJ, Pause A, Sonenberg N. Activation of the translational suppressor 4E-BP1 following infection with encephalomyocarditis virus and poliovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5578-83.

39. Piron M, Vende P, Cohen J, Poncet D. Rotavirus RNA-binding protein NSP3 interacts with eIF4G and evicts the poly(A) binding protein from eIF4F. *EMBO J* 1998; 17: 5811-21.

40. Fletcher CM, McGuire AM, Gingras AC, et al. 4E binding proteins inhibit the translation factor eIF4E without folded structure. *Biochemistry* 1998; 37: 9-15.

41. Rom E, Kim HC, Gingras AC, et al. Cloning and characterization of 4EHP, a novel mammalian eIF4E-related cap-binding protein. *J Biol Chem* 1998; 273: 13104-9.

42. Ruud KA, Kuhlow C, Goss DJ, Browning KS. Identification and characterization of a novel cap-binding protein from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 1998; 273: 10325-30.

43. Li Q, Imataka H, Morino S et al. Eukaryotic translation initiation factor 4AIII (eIF4AIII) is functionally distinct from eIF4AI and eIF4AII. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 7336-46.

44. Richter-Cook NJ, Dever TE, Hensold JO, Merrick WC. Purification and characterization of a new eukaryotic protein translation

factor. Eukaryotic initiation factor 4H. *J Biol Chem* 1998; 273: 7579-87.

45. Choi SK, Lee JH, Zoll WL, Merrick WC, Dever TE. Promotion of met-tRNA^{Met} binding to ribosomes by yIF2, a bacterial IF2 homolog in yeast. *Science* 1998; 280: 1757-60.

46. Pironnet S, Pradayrol L, Sonenberg N. A cell cycle-dependent internal ribosome entry site. *Mol Cell* 2000; 5: 607-16.

47. Brunn GJ, Williams J, Sabers C, Wiederrecht G, Lawrence JC Jr, Abraham RT. Direct inhibition of the signaling functions of the mammalian target of rapamycin by the phosphoinositide 3-kinase inhibitors, wortmannin and LY294002. *EMBO J* 1996; 15: 5256-67.

48. Pavitt GD, Ramaiah KV, Kimball SR, Hinnebusch AG. eIF2 independently binds two distinct eIF2B subcomplexes that catalyze and regulate guanine-nucleotide exchange. *Genes Dev* 1998; 12: 514-26.

49. Phan L, Zhang X, Asano K, et al. Identification of a translation initiation factor 3 (eIF3) core complex, conserved in yeast and mammals, that interacts with eIF5. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 4935-46.

ms2000

Summary

Molecular interactions and initiation of protein synthesis

The initiation of protein synthesis requires the binding of a ribosome charged with the initiator methionyl-tRNA to the AUG initiation codon of an mRNA. In eukaryotes, initiation proceeds in three essential steps: the formation of the pre-initiation complex, its recruitment to the mRNA and its migration to the correct initiator AUG. This process depends on a number of molecular interactions between the multiple initiation factors, the initiator Met-tRNA, the 40S ribosomal subunit and the mRNA. Translation initiation is under tight cellular control, which will often involve a modification of the interactions between initiation factors. Numerous viruses manipulate these regulatory mechanisms to usurp the translational machinery.

TIRÉS À PART

F. Poulin.