

Régulation par l'insuline de l'initiation de la synthèse protéique

L'insuline exerce des effets complexes sur les cellules qui expriment des récepteurs transmembranaires spécifiques de cette hormone, tels les fibres musculaires, les hépatocytes et les adipocytes. L'insuline se lie à la portion extracellulaire du récepteur et déclenche une cascade d'événements dont le résultat est une augmentation de la quantité globale de protéines. Elle agit à plusieurs niveaux, schématisés sur la *figure 1* [1]. Cet article traite des mécanismes d'action de cette hormone sur l'initiation de la traduction. L'insuline modifie l'activité de plusieurs facteurs d'initiation de la traduction mais, dans la plupart des cas, les mécanismes mis en jeu sont mal caractérisés. Toutefois, la récente implication dans la régulation de la synthèse protéique d'un substrat majeur phosphorylé en réponse à l'insuline [2], 4E-BP1 [3, 4], permet de mieux comprendre le mécanisme par lequel cette hormone augmente la synthèse protéique, et de tracer un parallèle avec le mode d'action de certains facteurs de croissance sur la synthèse protéique.

Effets sur le déclenchement de la synthèse protéique

Dans les cellules, la synthèse des protéines est réglée principalement au niveau du démarrage de la traduction. Le complexe d'initiation (80S), formé des sous-unités ribosomiques (40S et 60S) et de l'ARNm, comporte plusieurs facteurs d'initiation qui agissent à différentes étapes et sont ajoutés séquentiellement dans le complexe (pour une revue des mécanismes en jeu, voir [5-7]). La *figure 2* présente les principaux facteurs

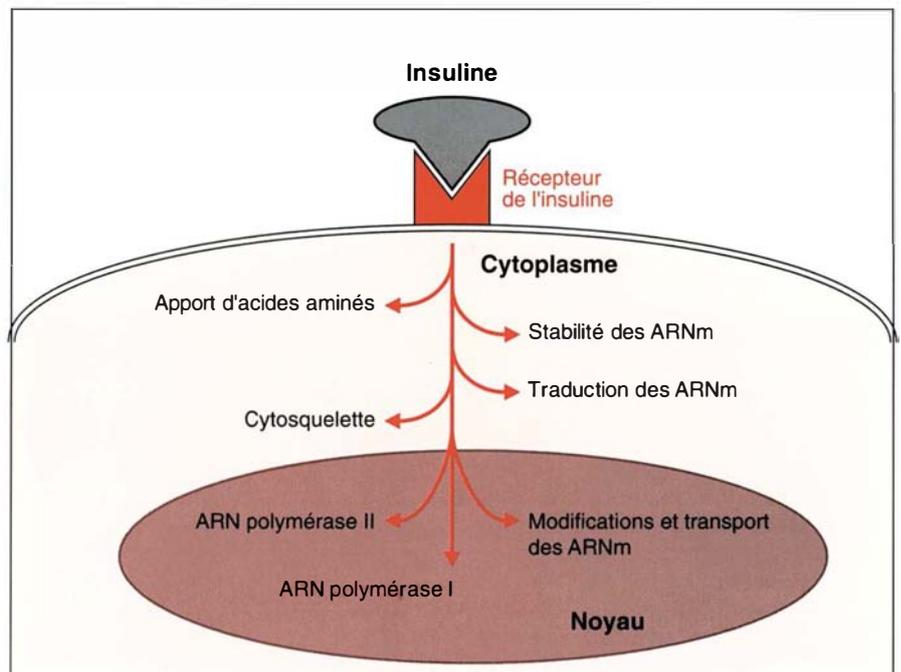


Figure 1. **Cibles de l'insuline impliquées dans la synthèse protéique.** A. Dans le noyau, l'insuline augmente ou diminue le taux de transcription de certains gènes, transcrits par l'ARN polymérase II. Ces gènes possèdent des séquences dans leur promoteur appelée IRE (pour insulin response element), séquences en réalité encore mal connues, probablement de plusieurs types, qui pourraient être reconnues par des facteurs de transcription activés par l'insuline. Le système de transcription par l'ARN polymérase I, permettant la biosynthèse des ARN ribosomiques, est aussi affecté par l'insuline qui active le facteur de transcription UBF, un activateur spécifique du système de l'ARN polymérase I. B. Une fois transcrits, les ARNm eucaryotes sont modifiés (épissage, ajout de la queue polyA en 3' et du m⁷pGpppN en 5') et sortent du noyau avant d'être traduits. L'insuline accélère cette étape de transport en activant certaines protéines spécifiques. C. Dans le cytoplasme, l'insuline augmente la stabilité de certains ARNm. L'hormone active aussi certaines ARNt-synthétases ainsi que les transporteurs d'acides aminés, ce qui favorise l'apport d'acides aminés dans le cytoplasme. Le cytosquelette est modifié de façon à augmenter le rapport des polysomes libres aux polysomes associés à des membranes. Finalement, la traduction de l'ARN sera très fortement affectée. La protéine ribosomique S6 est activée et certains facteurs d'élongation sont phosphorylés ou déphosphorylés selon le cas. Plusieurs facteurs d'initiation de la traduction voient aussi leur activité augmenter [1].

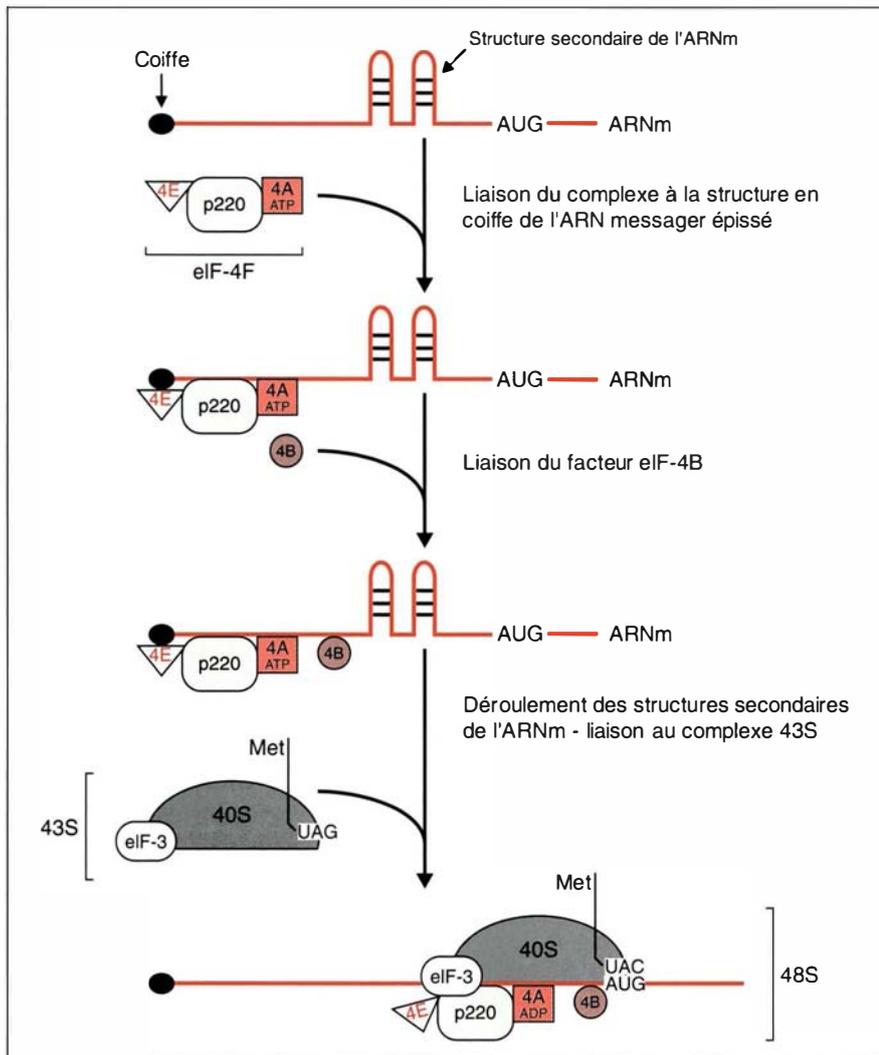


Figure 2. **Formation du complexe de préinitiation 48S.** La formation du complexe d'initiation 48S est l'étape limitante de la mise en route de la traduction. Le facteur d'initiation eIF-4E, part du complexe eIF-4F, doit d'abord interagir avec la structure en coiffe de l'ARNm. eIF-4A et p220 possèdent aussi une affinité pour l'ARNm. Par la suite, eIF-4B est recruté. eIF-4B et eIF-4A (qui utilise l'énergie dérivée de l'hydrolyse de l'ATP) sont impliqués dans le déroulement des structures secondaires [49] de l'ARNm. Cela permet l'accrochage du complexe 43S, formé de la sous-unité ribosomique 40S, de l'ARNt chargé de l'acide aminé méthionine (Met), du facteur eIF-2 et du facteur eIF-3, ce dernier pouvant se lier à p220 [5, 7].

d'initiation impliqués dans une étape limitante de la formation du complexe 80S: la liaison de la sous-unité 40S du ribosome à l'ARNm [8]. Cette étape nécessite la participation du facteur d'initiation eIF-4F, composé lui-même de trois protéines: eIF-4E, eIF-4A et p220. eIF-4E, qui a une

masse molaire de 24 kDa, se lie directement en 5' à la coiffe de l'ARNm (qui consiste en un acide guanylique triphosphate 7-méthylé, m⁷GpppN), la protéine eIF-4A possède une activité de déroulement des structures secondaires de l'ARNm. En outre, eIF-4F comprend une troisième pro-

téine appelée p220 dont la fonction exacte est inconnue, mais qui pourrait servir de lien entre eIF-4F et un autre facteur d'initiation, eIF-3, protéine associée à la sous-unité ribosomique 40S.

Le facteur d'initiation eIF-4E joue un rôle particulièrement important dans le contrôle de la traduction. Comparé aux autres facteurs d'initiation et aux ribosomes, il est en quantité limitante dans les cellules [9]. Ajouté à des systèmes de traduction *in vitro*, il augmente l'efficacité [10]. eIF-4E a des propriétés oncogéniques, car sa surexpression dans certaines cellules en culture accélère leur croissance et leur confère un phénotype cancéreux (*m/s n° 7, vol. 6, p. 688 ; n° 11, vol. 9, p. 1001*) [11]. A l'opposé, l'expression d'ARN antisens contre le facteur d'initiation eIF-4E diminue la traduction et ralentit la croissance cellulaire [12]. eIF-4E coopère, comme la protéine Ras, avec les oncogènes *Myc* et *E1A* dans la transformation de cellules primaires [13]. eIF-4E est, en outre, impliqué dans le développement, puisque sa microinjection dans des embryons de xénope induit la différenciation du mésoderme [14].

Phosphorylation des facteurs de traduction après stimulation par l'insuline

Plusieurs facteurs d'initiation sont phosphorylés à la suite d'une stimulation par l'insuline et par des facteurs de croissance: eIF-2B [15], eIF-3, eIF-4B, p220, et eIF-4E [16]. On ne connaît pas encore la signification physiologique de la phosphorylation des quatre premiers facteurs, mais de nombreuses corrélations ont été décrites entre la phosphorylation de ces facteurs et l'augmentation de la synthèse protéique, surtout dans le cas de eIF-4B. Ces corrélations sont plus évidentes dans le cas de eIF-4E. Ce facteur est majoritairement présent sous forme déphosphorylée lors de la diminution de la traduction (infection virale par adénovirus [17], choc thermique (*m/s n° 1, vol. 8, p. 63*) [18], mitose [19]) et sous forme phosphorylée lors de la stimulation de la traduction (traitement par les mitogènes [20], les facteurs de crois-

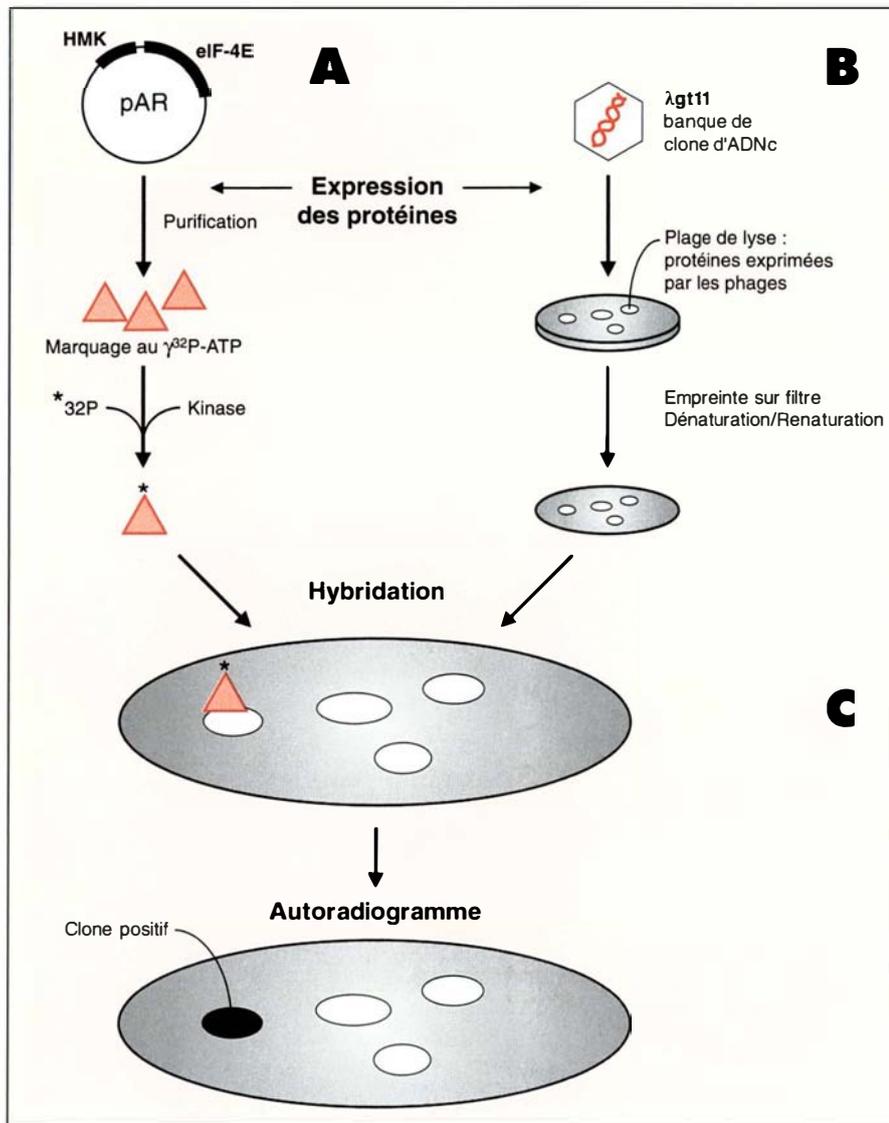


Figure 3. **Technique de détection d'interactions protéine-protéine par la méthode du far-western.** La technique dite de far-western, ou de clonage par interaction, sert à détecter des interactions entre une protéine marquée par un élément radioactif et une ou des protéines non marquées, fixées sur un support solide [38]. Lorsque ces protéines fixées sont exprimées par des bactéries à partir d'une banque d'ADNc, on peut repiquer les clones positifs et isoler leur ADN afin de l'étudier et de le séquencer. **A.** La protéine servant de sonde, eIF-4E est d'abord sous-clonée en phase dans le vecteur d'expression pAR Δ 59-60, dérivé des plasmides de la série pET, et qui exprime une séquence pour la reconnaissance par la kinase HMK (heart muscle kinase). Après l'expression et la purification de eIF-4E exprimée dans ce vecteur, la protéine est marquée au ^{32}P par incubation en présence d'ATP radioactif et de la kinase HMK. **B.** Une banque humaine d'ADNc est clonée dans le vecteur d'expression λ gt11 et exprimée. Les protéines exprimées par les phages dans les plages de lyse sont transférées sur filtre et subissent des étapes de dénaturation-renaturation afin de présenter des protéines repliées correctement. **C.** eIF-4E marqué au ^{32}P est incubé en présence des filtres portant les plages de lyse renaturées. Après lavage, les filtres sont autoradiographiés. Les clones positifs sont ceux qui expriment une protéine interagissant avec eIF-4E.

sance [21] ou les hormones [22]). Une liaison accrue à la coiffe en 5' des ARNm permettrait à la forme phosphorylée de eIF-4E d'augmenter la traduction [23]. Le mécanisme exact menant à cette phosphorylation reste obscur, bien que ce phénomène semble dépendre de l'activation de la protéine Ras [24]. *In vitro*, eIF-4E est phosphorylé par la protéine kinase C (PKC) [25], une enzyme activée par l'insuline, et cette forme phosphorylée *in vitro* est plus active pour la traduction [26]. La phosphorylation de eIF-4E par la PKC semble aussi intervenir dans les cellules: la

co-injection de cette enzyme avec le facteur eIF-4E dans des cellules NIH-3T3 augmente le taux de transformation observé lors de la micro-injection de eIF-4E seul, indiquant une augmentation de l'activité de eIF-4E dans cette situation [27]. Toutefois, d'autres données montrent que la désensibilisation de cellules PC12 avec des esters de phorbol (qui diminue l'activité de l'enzyme PKC) n'influence pas la phosphorylation de eIF-4E en réponse au NGF (*nerve growth factor*) [24]. D'autres kinases que la PKC, telle une protamine kinase isolée du rein qui phosphoryle

eIF-4E *in vitro*, pourraient être impliquées dans la phosphorylation de eIF-4E [28].

Effet de l'activation des facteurs d'initiation sur la traduction d'ARNm particuliers

La modulation de l'activité des facteurs d'initiation de la traduction affecte la synthèse totale des protéines dans une cellule, mais aussi la traduction de certains ARNm spécifiques. Ces ARNm présentent une structure secondaire très stable (riche en G-C) dans leur partie 5'

non traduite et sont faiblement traduits [29]. Ces ARNm très structurés sont peu accessibles pour les ribosomes et ont un besoin accru de facteurs d'initiation pour leur traduction [30]. Cette classe d'ARNm (comprenant principalement les ARNm codant pour des facteurs impliqués dans la croissance cellulaire [31]) est traduite plus efficacement à la suite d'une stimulation par l'insuline. Cet effet pourrait impliquer eIF-4F et eIF-4B, qui jouent un rôle dans le déroulement des structures secondaires en 5' des messagers. Par exemple, l'ARNm codant pour l'ornithine décarboxylase, une enzyme clé de la biosynthèse des polyamines, appartient à ce groupe d'ARNm faiblement traduits. Le taux de traduction de l'ARNm de cette enzyme est augmenté très fortement (20 fois) après une stimulation par l'insuline [32].

Effet de la phosphorylation de la protéine ribosomique S6

L'insuline règle aussi l'activité de la protéine ribosomique S6 par la phosphorylation. Cette protéine est phosphorylée par de nombreuses kinases *in vitro*, et par p70S6K *in vivo*. De nombreux résultats suggèrent l'implication de la phosphorylation de cette protéine dans la mise en route de la synthèse protéique [33], en réponse à une stimulation par l'insuline, par des facteurs de croissance [34], ou lors du passage de G₀ à G₁ dans le cycle cellulaire [35]. L'emploi de l'immunosuppresseur rapamycine, qui bloque sélectivement l'activation de p70S6K [36], a montré que la phosphorylation de la sous-unité ribosomique S6 a un effet significatif, quoique faible, sur le taux global de traduction. L'effet de la phosphorylation de cette protéine est beaucoup plus évident dans le cas de la traduction de certains ARNm possédant une série de pyrimidines près de la structure en coiffe. Une récente revue [37] discute du mécanisme impliquant la phosphorylation de la protéine S6 dans la régulation de la traduction.

Des protéines liant eIF-4E

L'importance du facteur d'initiation eIF-4E dans la prolifération cellulaire

ainsi que dans le contrôle de la synthèse protéique a conduit un membre de notre laboratoire à chercher des protéines liant ce facteur. Dans le but de trouver de telles protéines, une technique d'hybridation de type *far-western* (clonage par interaction), permettant de détecter des interactions protéine-protéine, a été utilisée. Cette méthode, développée par Michael Blaner [38], est décrite schématiquement dans la *figure 3*. De nouvelles protéines humaines interagissant avec eIF-4E ont été ainsi identifiées. Deux de ces protéines, appelées respectivement 4E-BP1 et 4E-BP2, ont un niveau d'homologie élevé [4], ce qui suggère l'existence d'une nouvelle famille de protéines liant eIF-4E. En comparant leurs séquences à celles répertoriées dans Genbank, une identité de près de 93% entre 4E-BP1 et une protéine de rat appelée PHAS-I [39] (pour *protein heat and acid stable-insulin phosphorylated*) a été rapportée. PHAS-I est une petite protéine de 12 kDa initialement découverte comme étant un des substrats majeurs de phosphorylation lors d'une stimulation par l'insuline [2, 40, 41].

Inhibition de la traduction par 4E-BP1 et 4E-BP2

Puisque les protéines 4E-BP1 et 4E-BP2 se lient au facteur eIF-4E et qu'elles présentent une analogie de séquence avec le site de liaison de p220 à eIF-4E, il a été postulé que 4E-BP1 et 4E-BP2 pourraient être en compétition avec p220 pour la liaison à eIF-4E. Cette hypothèse est étayée par le fait que la traduction dépendante de la coiffe, stimulée fortement par eIF-4E, est inhibée en présence de 4E-BP1 ou 4E-BP2. La traduction indépendante de la coiffe, comme celle des ARNm des picornavirus, qui découle d'un mécanisme d'initiation interne (et non du mécanisme schématisé dans la *figure 2*), n'est pas affectée par la présence de ces deux protéines [4]. L'inhibition de la traduction *in vitro* est levée par l'ajout de eIF-4E, confirmant que ce facteur est bien la cible de 4E-BP1 et 4E-BP2.

Importance de la phosphorylation de 4E-BP1

Comme eIF-4E, la protéine 4E-BP1, homologue de PHAS-I, est phosphorylée en réponse à l'insuline. Par des essais de type *far-western*, il a été montré que cette forme phosphorylée ne lie plus eIF-4E. 4E-BP1 se lie donc à eIF-4E en l'absence de stimulation, entrant en compétition avec p220 pour un même site de liaison sur eIF-4E (Haghighat *et al.*, manuscrit en préparation). Après stimulation, 4E-BP1 est phosphorylée et ne peut plus lier eIF-4E. eIF-4E libérée peut alors se lier à p220 et former un facteur eIF-4F fonctionnel (*figure 4*). La phosphorylation de eIF-4E, augmentée après stimulation par l'insuline, n'influence pas la liaison à 4E-BP1. Le mécanisme de contrôle de la traduction par l'insuline est rapide, puisque les effets se font ressentir après quelques minutes. Cette modulation par la phosphorylation d'un inhibiteur de la traduction permet d'expliquer le phénomène. Cependant, une question restait en suspens: quel est le mécanisme qui conduit à la phosphorylation de 4E-BP1 dans la cellule ?

Cascade de phosphorylation résultant de la stimulation du récepteur de l'insuline et lien avec la synthèse protéique

4E-BP1 présente des sites consensus pour plusieurs kinases activées après phosphorylation par l'insuline, dont la protéine kinase C (PKC) [42], la caséine kinase II (CKII) [40] et la *mitogen-activated protein kinase* [43] (MAP kinase). Il a été montré que la sérine 64 est le site majeur de phosphorylation *in vivo* après stimulation par l'insuline et que ce site est aussi celui phosphorylé *in vitro* par la forme de MAP kinase appelée ERK (*extracellularly regulated kinase*). PKC et CKII phosphorylent un autre site dont le niveau de phosphorylation n'est pas augmenté significativement après stimulation par l'insuline [44]. 4E-BP1 (PHAS-I) n'est pas phosphorylée par deux autres protéines activées elles aussi par l'insuline, Rsk-2 et p70S6K. L'insuline accroît donc la

synthèse protéique en phosphorylant 4E-BP1 par le biais de MAP kinase. Le mécanisme d'activation de MAP kinase après traitement à l'insuline est assez bien déterminé [45-47] et consiste en une cascade d'événements de phosphorylation (*m/s n° 10, vol. 9, p. 1126*) impliquant plusieurs protéines dont la fonction apparaît de plus en plus importante dans l'oncogenèse. La série de phosphorylations suivant la stimulation du récepteur par l'insuline est schématisée dans la *figure 5*: seule la voie de la MAP kinase est présentée. Le mode de régulation de cette cascade n'est pas représenté. Ce mécanisme de réponse à l'insuline est partagé en partie par d'autres hormones et facteurs de croissance qui activent la MAP kinase. Ces facteurs (NGF, EGF, PDGF) activent la synthèse protéique et tout porte à croire que leur mode d'action passe aussi par 4E-BP1. La protéine 4E-BP1 (PHAS-I) est d'ailleurs phosphorylée en réponse à divers *stimuli*, dont les facteurs de croissance EGF et PDGF, de même que par les diacylglycérols et les esters de phorbol [48].

Conclusion

La synthèse protéique est augmentée par l'insuline et cette augmentation semble être due à un synergisme entre les différents phénomènes décrits dans cette revue: phosphorylation des facteurs d'initiation de la traduction et de la protéine ribosomique S6, mais surtout inactivation d'un inhibiteur spécifique de l'initiation de la traduction, 4E-BP1. Alors que les événements de phosphorylation impliqués dans l'activation des facteurs d'initiation sont peu connus, celui menant à la phosphorylation de 4E-BP1 est sur la voie de cascades de phosphorylation très impliquées dans l'oncogenèse. Grâce à l'étude de cette protéine, nous pouvons maintenant relier les signaux extracellulaires à l'initiation de la synthèse protéique ■

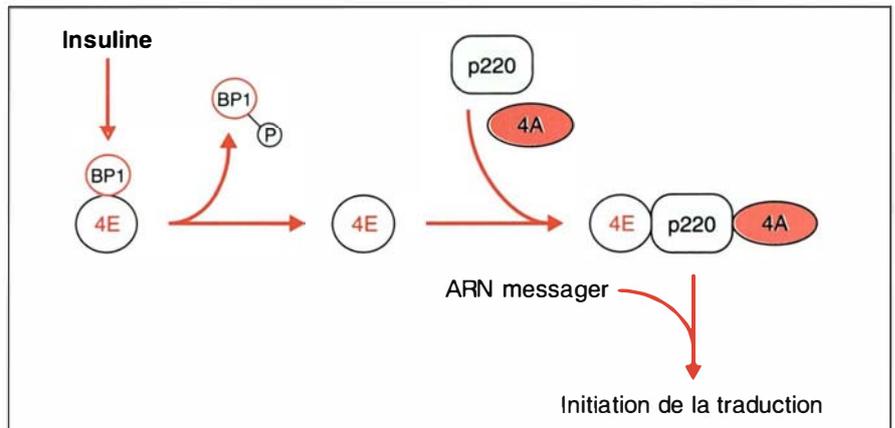


Figure 4. **Mécanisme d'inactivation par l'insuline de l'inhibiteur de eIF-4E, 4E-BP1.** En absence de stimulation, 4E-BP1 séquestre eIF-4E, l'empêchant de se lier à p220. L'insuline augmente la phosphorylation de 4E-BP1. Cette forme phosphorylée ne lie plus eIF-4E, permettant à ce dernier de se lier à p220 pour former un complexe eIF-4E fonctionnel [4].

RÉFÉRENCES

1. Kimball SR, Vary TC, Jefferson LS. Regulation of protein synthesis by insulin. *Annu Rev Physiol* 1994; 56: 321-48.
2. Blackshear PJ, Nemenoff RA, Avruch J. Preliminary characterization of a heat-stable protein from rat adipose tissue whose phosphorylation is stimulated by insulin. *Biochem J* 1982; 204: 817-24.
3. Lin TA, Kong X, Haystead TAJ, Pause A, Belsham G, Sonenberg N, Lawrence JC Jr. PHAS-I as a link between mitogen activated protein kinase and translation initiation. *Science* 1994; 266: 653-6.
4. Pause A, Belsham GJ, Gingras AC, Donzé O, Lin TA, Lawrence JC Jr, Sonenberg N. Insulin-dependent stimulation of protein synthesis by phosphorylation of a regulator of 5'-cap function. *Nature* 1994; 371: 762-7.
5. Merrick WC. Mechanism and regulation of eukaryotic protein synthesis. *Microbiol Rev* 1992; 56: 291-315.
6. Hershey JWB. Translation control in mammalian cells. *Annu Rev Biochem* 1991; 60: 717-56.
7. Jean-Jean O, Cassan M, Rousset JP. L'initiation de la traduction chez les eucaryotes, source de diversification et de modulation de l'expression des gènes. *médecine/sciences* 1993; 9 (suppl 11) : I-IX.
8. Moldave K. Eukaryotic protein synthesis. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 1109-49.
9. Duncan R, Milburn S, Hershey JWB. Regulated phosphorylation and low abundance of HeLa cell initiation factor eIF-4F suggest a role in translational control. *J Biol Chem* 1987; 262: 380-8.
10. Sonenberg N, Trachsel H, Hecht S, Shatkin AJ. Differential stimulation of capped mRNA translation *in vitro* by cap binding protein. *Nature* 1980; 285: 331-3.
11. Lazaris-Karatzas A, Montine KS, Sonenberg N. Malignant transformation by an eucaryotic initiation factor subunit that binds to mRNA 5'cap. *Nature* 1990; 345: 544-7.
12. De Benedetti A, Joshi-Barve S, Rinker-Schaeffer C, Rhoads RE. Expression of antisense RNA against initiation factor eIF-4E mRNA in HeLa cells results in lengthened cell division times, diminished translation rates, and reduced levels of both eIF-4E and the p220 components of eIF4F. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 5435-45.
13. Lazaris-Karatzas A, Sonenberg N. The mRNA 5'cap-binding protein, eIF-4E, cooperates with *v-myc* or E1A in the transformation of primary rodent fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 1234-8.
14. Klein PS, Melton DA. Induction of mesoderm in *Xenopus laevis* embryos by translation initiation factor 4E. *Science* 1994; 265: 803-6.
15. Karin AM, Kimball SR, Vary TC, Jefferson LS. Regulation of eucaryotic initiation factor 2B activity in muscle of diabetic rats. *Am J Physiol* 1993; 264: 101-8.
16. Morley SJ, Traugh JA. Phorbol esters stimulate phosphorylation of eucaryotic initiation factors 3, 4B, and 4F. *J Biol Chem* 1989; 264: 2401-4.
17. Huang J, Schneider RJ. Adenovirus inhibition of cellular protein synthesis involves inactivation of cap-binding protein. *Cell* 1991; 65: 271-80.

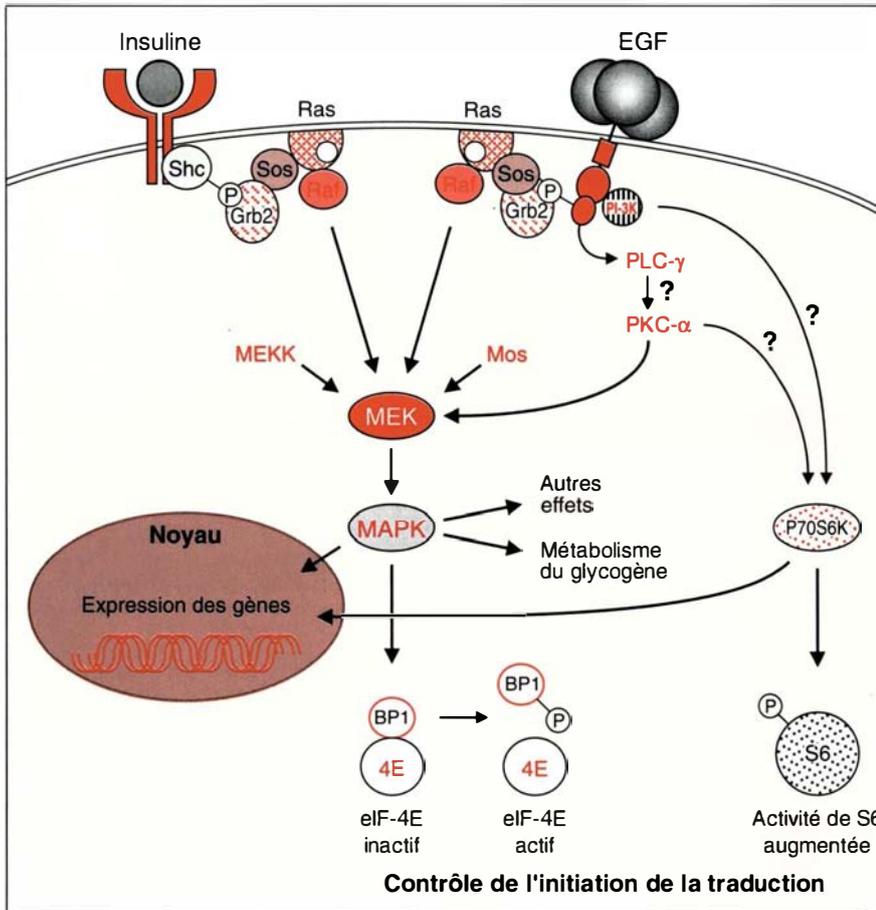


Figure 5. **Cascade de phosphorylation suite à une stimulation par l'insuline par des facteurs de croissance.** Une cascade d'activation impliquant plusieurs phosphorylations se produit lors d'une stimulation par l'insuline [45, 47, 51, 52]. A la suite de la liaison de l'insuline au récepteur, celui-ci se dimérise et devient actif comme tyrosine kinase. Le récepteur se lie alors à la protéine Shc (ou à IRS-1, pour insulin receptor-substrate-1, protéine qui est, de plus, impliquée dans une autre cascade ne menant pas à MAP kinase), qu'il phosphoryle. Shc phosphorylée s'associe au domaine SH2 d'une autre protéine, Grb2 qui se lie à son tour à Sos et l'active. Sos active Ras, qui est une oncoprotéine associée à la membrane dans une forme inactive, et qui, suivant son activation s'associe à la kinase Raf, une autre oncoprotéine, qui est alors phosphorylée, ce qui permet MAPKK (MAP kinase kinase ou MEK pour MAP/ERK/kinase). Cette enzyme phosphoryle MAP kinase (ERK pour extra-cellular regulated kinase). Les actions de MAP kinase sont variées: elle est transportée dans le noyau pour phosphoryler et activer certains facteurs de transcription, et phosphoryle dans le cytoplasme 4E-BP1 et d'autres protéines impliquées notamment dans le métabolisme du glycogène. L'activation de la MAP kinase ERK par des facteurs de croissance tels que EGF passe par la même cascade, à l'exception du fait que c'est la partie intracytoplasmique du récepteur qui devient phosphorylée et se lie directement au domaine SH2 de Grb2. Sur le schéma, on voit aussi la cascade d'événements menant à l'activation de p70S6K et à la phosphorylation de la protéine ribosomique S6. Cette cascade, passant probablement par la voie des phosphatidylinositols, est beaucoup moins bien définie. De même que MAP kinase, p70S6K entre dans le noyau et phosphoryle des facteurs de transcription.

18. Panniers R, Stewart EB, Merrick WC, Henshaw EC. Mechanism of inhibition of polypeptide chain initiation in heat-shocked Ehrlich cells involves reduction of eukaryotic initiation factor 4F activity. *J Biol Chem* 1985; 260: 9648-53.

19. Bonneau AM, Sonenberg N. Involvement of the 24-kDa cap-binding protein in regulation of protein synthesis in mitosis. *J Biol Chem* 1987; 262: 11134-9.

20. Kaspar RL, Rychlik W, White MW, Rhoads RE, Morris DR. Simultaneous cytoplasmic redistribution of ribosomal protein L32 mRNA and phosphorylation of eucaryotic initiation factor 4E after mitogenic stimulation of Swiss 3T3 cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 3619-22.

21. Donaldson RW, Hagedorn CH, Cohen S. Epidermal growth factor or okadaic acid stimulates phosphorylation of eucaryotic initiation factor 4E. *J Biol Chem* 1991; 266: 3162-6.

22. Rao GN, Griending KK, Frederickson RM, Sonenberg N, Alexander RW. Angiotensin II induces phosphorylation of eucaryotic protein synthesis initiation factor 4E in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 7180-4.

23. Minich WB, Balasta ML, Goss DJ, Rhoads RE. Chromatographic resolution of *in vivo* phosphorylated and non-phosphorylated eucaryotic translation initiation factor eIF-4E: increased cap affinity of the phosphorylated form. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7668-92.

24. Frederickson RM, Mushynski WE, Sonenberg N. Phosphorylation of translation initiation factor eIF-4E is induced in a ras dependent manner during nerve growth factor-mediated PC12 cell differentiation. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 1239-47.

25. Haas DW, Hagedorn CH. Protein kinase C phosphorylates both serine and threonine residues of the mRNA cap binding protein, eIF-4E. *Sec Mess Phospho* 1992; 14: 55-63.

26. Morley SJ, Dever TE, Etchison D, Traugh JA. Phosphorylation of eIF-4E by protein kinase C or multipotential S6 kinase stimulates protein synthesis at initiation. *J Biol Chem* 1991; 266: 4669-72.

27. Smith MR, Jaramillo M, Tuazon PT, Traugh JA, Liu YI, Sonenberg N, Kung HF. Modulation of the mitogenic activity of eucaryotic translation initiation factor-4E by protein kinase C. *New Biol* 1991; 3: 601-7.

28. Amick GD, Damuni Z. Protamine kinase phosphorylates eucaryotic protein synthesis initiation factor 4E. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 183: 431-7.

29. Sonenberg N. mRNA translation: influence of the 5' and 3' untranslated regions. *Curr Op Gen Dev* 1994; 4: 310-5.

30. Koromilas AE, Lazaris-Karatzas A, Sonenberg N. mRNAs containing extensive secondary structures in their 5' non-coding region translate efficiently in cells overex-

- pressing initiation factor eIF-4E. *EMBO J* 1992; 11: 4153-8.
31. Kozak M. An analysis of vertebrate mRNA sequences: intimations of translational control. *J Cell Biol* 1991; 115: 887-903.
32. Manzella JM, Rychlik W, Rhoads RE, Hershey JWB, Blackshear PJ. Insulin induction of ornithine decarboxylase. *J Biol Chem* 1991; 266: 2383-9.
33. Traugh JA, Pendergast AM. Regulation of protein synthesis by phosphorylation of ribosomal protein S6 and aminoacyl-tRNA synthetases. *Prog Nucleic Acids Res Mol Biol* 1986; 33: 195-230.
34. Thomas G, Martin-Perez J, Steigman M, Otto AM. The effect of serum, EGF, PGF2a, and insulin on S6 phosphorylation and the initiation of protein and DNA synthesis. *Cell* 1982; 30: 235-42.
35. Thomas G, Siegmund M, Kubler AM, Gordon J, Jimenez de Asua L. Regulation of 40S ribosomal protein phosphorylation in Swiss mouse 3T3 cells. *Cell* 1980; 19: 1015-23.
36. Jefferies HBJ, Reinhard C, Kozma SC, Thomas G. Rapamycin selectively represses translation of the « polypyrimidine tract » mRNA family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4441-5.
37. Stewart MJ, Thomas G. Mitogenesis and protein synthesis: a role for ribosomal protein S6 phosphorylation? *BioEssays* 1994; 16: 809-815.
38. Blanar MA, Rutter WJ. Interaction cloning: identification of a helix-loop-helix zipper protein that interacts with c-Fos. *Science* 1992; 256: 1014-8.
39. Hu C, Pang S, Kong X, Velleca M, Lawrence JC Jr. Molecular cloning and tissue distribution of PHAS-I, an intracellular target for insulin and growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3730-4.
40. Diggle T, Schmitz-Peiffer C, Borthwick AC, Welsh GI, Denton RM. Evidence that insulin activates casein kinase 2 in rat epididymal fat-cells and that this may result in the increased phosphorylation of an acid-soluble 22 kDa protein. *Biochem J* 1991; 279: 545-51.
41. Ramakrishna S, Beanjamin WB. Insulin stimulates phosphorylation of a heat-stable protein in rat adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117: 758-64.
42. Ishizuka T, Cooper DR, Farese RV. Insulin stimulates the translocation of protein kinase C in rat adipocytes. *FEBS Lett* 1989; 257: 337-40.
43. Tobe K, Kadowaki T, Tamemoto H, Ueki K, Hara K, Koshio O, Momonura K, Gotoh Y, Nishida E, Akanuma Y, Yazaki Y, Kasuga M. Insulin and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate activation of two immunologically distinct myelin basic protein/microtubule-associated protein 2 (MBP/MAP2) kinases *via de novo* phosphorylation of threonine and tyrosine residues. *J Biol Chem* 1991; 266: 24793-803.
44. Haystead TA, Haystead CM, Hu C, Lin TA, Lawrence JC Jr. Phosphorylation of PHAS-I by mitogen-activated protein (MAP) kinase. Identification of a site phosphorylated by MAP kinase *in vitro* and in response to insulin in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1994; 269: 23185-91.
45. Myers MCJ, Sun XJ, White MF. The IRS-1 signalling system. *Trends Biochem Sci* 1994; 19: 289-94.
46. Blenis J. Signal transduction *via* the MAP kinases: proceed at your own RSK. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5889-92.
47. Davis RJ. MAPKs: new JNK expands the group. *Trends Biochem Sci* 1994; 19: 470-3.
48. Blackshear PJ, Witters LA, Girard PR, Kuo JF, Quamo SN. Growth factor-stimulated protein phosphorylation in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem* 1985; 260: 13304-15.
49. Jaramillo M, Dever TE, Merrick WC, Sonenberg N. RNA unwinding in translation: assembly of helicase complex intermediates comprising eukaryotic initiation factors eIF-4F and eIF-4B. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 5992-7.
50. Pause A, Sonenberg N. Mutational analysis of a DEAD box RNA helicase: the mammalian translation initiation factor eIF-4A. *EMBO J* 1992; 11: 2643-54.
51. Chardin P. Protéines Ras et transmission des signaux mitogènes. *médecine/sciences* 1994; 10: 657-64.
52. Chardin P. Domaines SH2 et SH3: un nouveau paradigme pour la transmission du signal. *médecine/sciences* 1994; 10: 709-12.

Anne-Claude Gingras

Étudiante boursière (bourse CRSNG 1967)

Olivier Donzé

Chercheur postdoctoral (bourse NCI Canada)

Laboratoire du Dr Nahum Sonenberg, département de biochimie, Université McGill, 3655, rue Drummond, Montréal, Québec, H3G 1Y6 Canada.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier particulièrement Yanick Matteau pour son support informatique, ainsi que les docteurs Nahum Sonenberg et Denis Rousseau pour leur appui lors de la rédaction du manuscrit.

TIRÉS À PART

A.C. Gingras