

MECANISMOS DE REGULACIÓN TRADUCCIONAL MEDIADOS POR EL FACTOR DE INICIO 4E: LAS DOS CARAS DE LA MONEDA*

Ana Valeria Martínez Silva y Tzvetanka D. Dinkova

Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México,
04510 México D.F. Correo E: cesy@servidor.unam.mx

RESUMEN

Casi todos los mRNA eucariontes poseen una estructura llamada CAP en su extremo 5' (m^7GpppN , donde N es cualquier nucleótido) reconocida por el factor de inicio de la traducción eIF4E y proteínas similares para facilitar su exportación nuclear, determinar su localización citoplasmática y permitir su traducción eficiente. La interacción entre el CAP y eIF4E, así como la unión de otras proteínas determina en gran medida el destino del mRNA recién transcrit: traducción, almacenaje, o degradación, dependiendo de los estímulos externos celulares y las señales de desarrollo. La presencia de diferentes miembros de la familia eIF4E, su especificidad por diferentes tipos de estructura CAP, expresión selectiva y afinidades por diferentes proteínas constituye un mecanismo fino adicional para la regulación de la expresión genética mediada por este factor.

PALABRAS CLAVE:

Transporte de RNA, proteínas de unión a CAP, traducción, factores de inicio de la traducción, regulación post-transcripcional.

ABSTRACT

The CAP structure present at the 5' end of eukaryotic mRNAs (m^7GpppN , where N is any nucleotide) is recognized by translation initiation factor eIF4E and similar proteins to allow nuclear export, particular localization and efficient translation initiation of the transcripts. Interaction of eIF4E with CAP and with other proteins greatly determines the fate of an mRNA: translation, storage, or degradation, depending on external stimuli and developmental cues. The presence of more than one member from the eIF4E family, differing in their CAP specificity, expression patterns, and affinity for binding proteins represents an additional fine tune mechanism to modulate the regulatory role of this factor on gene expression.

KEY WORDS:

RNA transport, CAP-binding proteins, translation, translation initiation factors, post-transcriptional regulation.

INTRODUCCIÓN

El factor de inicio de la traducción eIF4E es el encargado de reconocer a la estructura 5' CAP (7-metilguanosintrifosfato, m^7GpppN , donde N es cualquier nucleótido) en el extremo 5' de los RNAs mensajeros eucarióticos y reclutar a la maquinaria de síntesis de proteínas para dar inicio a la traducción. En eucariontes, la síntesis de más de 95% de todas las proteínas es iniciada involucrando el CAP de los mRNAs (1-3). Dada su relevancia para la expresión genética, el factor eIF4E es blanco de múltiples mecanismos de regulación que pueden

afectar su función ya sea a nivel general, o solamente para ciertos mRNAs celulares. Utilizando la regulación de eIF4E, la célula mantiene niveles óptimos de crecimiento y división celular, y responde a estímulos externos y señales de desarrollo. Este factor también es blanco de regulación por infecciones virales y por la vía de microRNAs celulares. En esta revisión se analiza la función del factor eIF4E en el contexto de la traducción y de otros aspectos del metabolismo de los mRNAs eucarióticos, exponiendo las particularidades de diferentes miembros de la familia de este factor y de la regulación de su actividad.

1. EL PROCESO DE TRADUCCIÓN

La traducción de mRNAs consta de cuatro etapas: iniciación, elongación, terminación y reciclamiento. Cada una de ellas es catalizada por diferentes grupos de proteínas: factores de iniciación, de elongación, y de terminación (Fig. 1). La regulación de las diferentes etapas de traducción permite la síntesis diferencial de proteínas específicas resultando en cambios profundos en la fisiología celular, sin necesariamente estar acompañados por cambios en la transcripción de los genes correspondientes (4).

Inicio. La iniciación de la traducción es un proceso complejo que en eucariontes requiere a más de 12 factores de inicio (eIFs) (Tabla 1). El paso inicial es el ensamblaje de un complejo de proteínas sobre el mRNA circularizado mediante múltiples interacciones RNA-proteína y proteína-proteína. En este proceso, el 5' CAP del transcrito es reconocido por el factor eucarionte de traducción 4E (eIF4E) unido a eIF4G (proteína de anclaje). Este

último recluta a eIF4A, una helicasa dependiente de ATP tipo DEAD que facilita el desenrollamiento de estructuras secundarias en el RNA. El complejo formado por los factores eIF4E, eIF4G y eIF4A es conocido como eIF4F. Una vez unido eIF4F al 5' CAP del mRNA, se recluta eIF4B, una proteína de unión a RNA, en forma de homodímero que estabiliza la unión del ATP con eIF4A. Por último, eIF4G recluta a la proteína de unión a poly(A) (PABP, por sus siglas en inglés) promoviendo la circularización del mRNA y estimulando la actividad de la RNA helicasa. Esto favorece el reinicio múltiple de la traducción sobre el mRNA, protege al transcripto de la acción de nucleasas y facilita el posterior reciclaje de los componentes de la maquinaria de traducción.

El complejo eIF4F unido al 5' CAP, recluta al resto de la maquinaria traduccional mediante la interacción de eIF4G con el factor eIF3, otro factor multimérico (7-12 subunidades) que se encuentra unido al complejo de pre-inicio 43S. Este último está formado por el complejo ternario (GTP, Met-

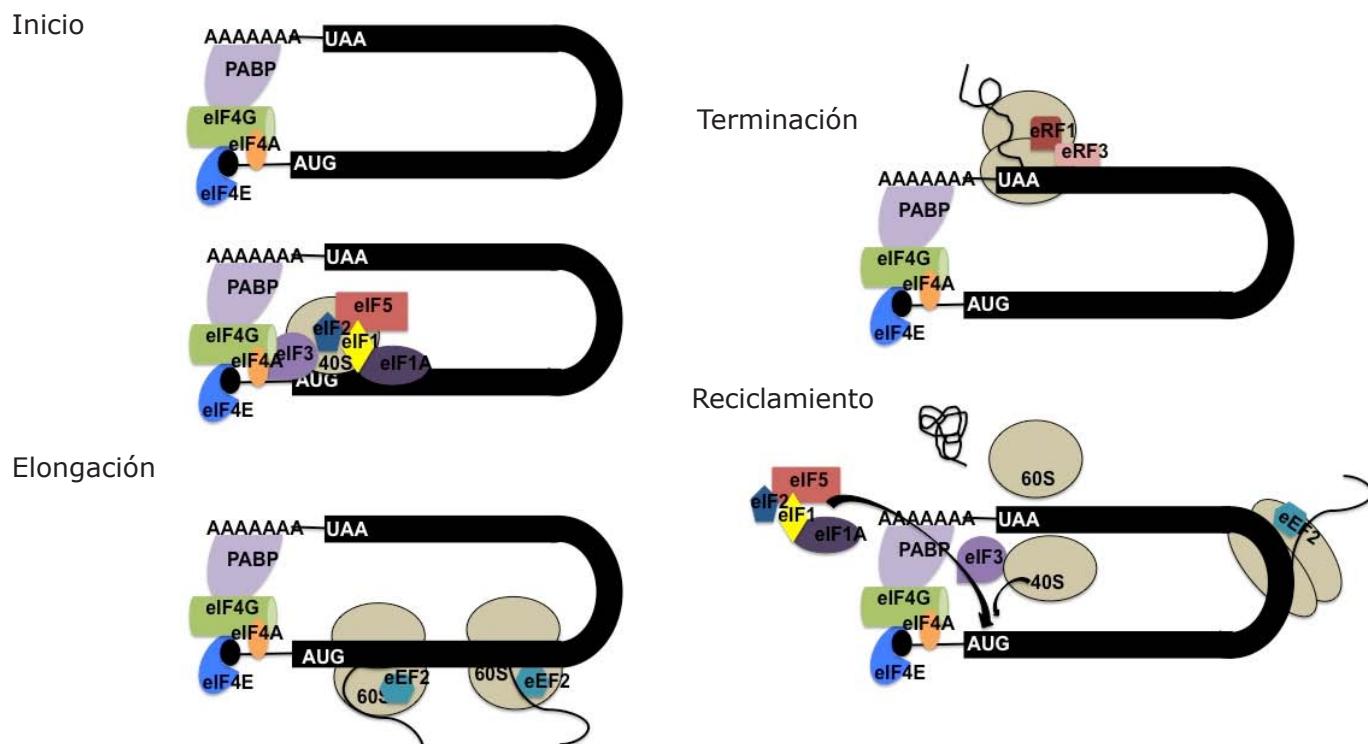


Figura 1. Representación esquemática del proceso de traducción. En eucariontes, la traducción cap-dependiente se realiza en cuatro pasos: Iniciación, elongación, terminación y reciclamiento. Durante la iniciación, el mRNA se une al complejo de factores eIF4F (eIF4E, eIF4G, eIF4A) mediante la interacción CAP-eIF4E. El complejo 43S (eIF2, tRNA^{Met}, GTP, 40S, eIF3, eIF1A) se une al mensajero a través de la interacción entre eIF4G y eIF3 para formar el complejo de inicio 48S. Este complejo recorre el mRNA hasta encontrar el codón de inicio en contexto apropiado. Una vez encontrado el AUG, se une la subunidad ribosomal 60S y se liberan los factores de inicio. La elongación comienza con la formación de la cadena polipeptídica, eEF1A lleva los tRNAs al ribosoma, mientras que eEF2 promueve la traslocación. Al encontrarse un codón de paro, eRF1 se une al ribosoma y estimula la hidrólisis de la cadena peptídica. La posterior unión de eRF3 e hidrólisis de GTP permiten el desensamblaje del ribosoma, tRNA y factores. En el reciclamiento eIF3 promueve la disociación del complejo post-terminación, permitiendo la futura unión de la subunidad 40S con los factores de inicio para que pueda comenzar otra vuelta de traducción.

TABLA 1
FACTORES DE INICIO DE LA TRADUCCIÓN

FACTOR	TAMAÑO	FUNCIÓN	SITIOS DE UNIÓN
eIF1 (a)	~12 kDa	Forma complejo multi-factor con eIF2, eIF3, eIF5, Met-tRNA _i ^{Met} . Reconocimiento codon-anticodon	Sitio de unión a eIF3
eIF1A (a)	~17 kDa	Análogo a IF1 de bacteria. Se asocia a 40S en sitio A. Retrasa la re-asociación con la subunidad 60S. Puente entre los factores de inicio y el ribosoma	Sitio de unión a 40S
eIF2 α		Recluta al tRNA ^{Met}	Sitio de unión a tRNA (no identificado)
eIF2 β		Análogo IF2-tRNAl de bacteria. Une el Met-tRNA _i ^{Met} , GTP y la subunidad 40S en sitio P.	3 elementos de unión a GTP
eIF2 γ		Forma parte del complejo ternario 43S. Subunidad reguladora: α ; actividad GTPasa: γ ; unión a eIF5B: β	
eIF2B (a,b,d)		Intercambia GDP/GTP para liberar a eIF2	Sitio de unión a eIF2
eIF3 (11)	~750 kDa	Análogo IF3 de bacteria. Une varios eIFs y a la subunidad 40S. Estabiliza al complejo de pre-inicio 43S	Motivos de reconocimiento de RNA
eIF4B	~57 kDa	Helicasa que estimula eIF4A	Motivos de reconocimiento a RNA (RRM), dominio DRYG
eIF4A	~50 kDa	Helicasa RNA-dependiente	Motivo de unión a ATP, ATPasa A, motivos de unión a RNA. Motivos SAT requeridos para la actividad de helicasa
eIF4E	~24 kDa	Proteína que reconoce y se une 5'CAP (m^7 GpppN) del mRNA	Motivos de unión a 5' CAP y a eIF4G
eIF4G	~160 kDa	Puente de anclaje. Une varios factores	Sitio de unión a eIF4E, ribosomas, eIF4A
eIF4H	~25kDa	Helicasa, junto con eIF4B estimula la actividad de eIF4A	
eIF5	~50 kDa	Parte del complejo multi-factor. Estimula la hidrólisis de GTP por eIF2 actuando como GTPasa	Sitio de unión a eIF3
eIF5B	~180 kDa	Análogo IF2-GTP. Une eIF1A. Actividad GTPasa conjunta con eIF2 durante reconocimiento codon de inicio	Sitio de unión a eIF1A
eIF6		Se asocia con la subunidad ribosomal 60S previniendo su asociación con la subunidad 40S, regula la traducción en respuesta a señales extracelulares Es esencial en la biogénesis de ribosomas	Sitio de unión a 60s

tRNA_i^{met}, y eIF2 $\alpha\beta\gamma$), el complejo multifactor (eIF5, eIF1 y eIF1A) y la subunidad ribosomal 40S. Esta interacción permite la formación del complejo de inicio 48S el cual recorre el mRNA en dirección 5' → 3' en busca del codón de inicio AUG en el contexto adecuado. Una vez que el Met-tRNA_i^{met} reconoce el AUG, se hidroliza el GTP unido a eIF2 α por la actividad de GTPasa de la subunidad γ y con la

asistencia de eIF5, ocurriendo la disociación de la mayoría de los factores de inicio y la unión de la subunidad ribosomal 60S para formar el ribosoma 80S listo para comenzar la elongación del péptido. En este evento, el complejo eIF4F permanece unido al mRNA para permitir que la maquinaria de inicio de la traducción pueda reciclarse y comenzar otro evento de iniciación (5, 2, 4).

El inicio de la traducción es el evento más controlado fisiológicamente, lo cual tiene sentido, porque es energéticamente favorable controlar el primer paso de cualquier reacción. Una variación en el inicio tiene influencia tanto en la cantidad de proteína (regulación cuantitativa), como en los niveles relativos de síntesis de diferentes proteínas (regulación cualitativa) (6). Dos pasos de la etapa de inicio de la traducción parecen ser los puntos críticos para la regulación fisiológica: 1) la unión de Met-tRNA_{met} a la subunidad ribosomal 40S, mediada por eIF2αβγ, y 2) la unión inicial del complejo eIF4F al extremo 5' del mRNA. El primero de estos pasos es limitante porque se requiere de la recuperación de eIF2 unido a GTP con la participación del factor intercambiador de nucleótidos eIF2B para formar un complejo ternario activo. Esto es válido para la mayoría de mRNAs celulares, por lo que constituye un mecanismo de regulación cuantitativa. En cambio el segundo paso, reconocimiento del CAP y unión del mRNA puede ejercer efectos variables en la traducción de diferentes mRNAs (5).

Elongación. En contraste con la iniciación, la elongación es un proceso más simple, que requiere mantener el marco de lectura, seleccionar y entregar correctamente los tRNAs aminoacilados al ribosoma 80S, y formar los enlaces peptídicos. Sólo son requeridos tres factores de elongación: eEF1A, el cual unido a GTP ayuda a cargar los aa-tRNAs correctos al ribosoma, eEF1B necesario para el intercambio de GDP por GTP en eEF1A, y eEF2, el cual mediante hidrólisis de GTP promueve la translocación del ribosoma exactamente tres nucleótidos sobre el mRNA.

Se han encontrado algunos casos de regulación durante la elongación, por ejemplo, para disminuir la síntesis de proteínas cuando las células entran en mitosis. Las células mitóticas contienen polisomas pesados que son menos activos traduccionalmente que los polisomas ligeros. Parece que las células reducen su velocidad de elongación cuando se preparan para dividirse, lo cual es seguido de una rápida síntesis de proteínas una vez que entran a la fase G1 del ciclo celular. Esta reducción en la velocidad de elongación, es probablemente mediada por la fosforilación del factor eEF2 por una cinasa específica (4).

Terminación. La terminación de la traducción eucariote es mediada por el factor de liberación eRF1, el cual se une al ribosoma en lugar del tRNA para reconocer cualquiera de los tres codones de paro (UAA, UAG o UGA), induciendo la hidrólisis de la proteína recién sintetizada del último tRNA. Posteriormente, eRF3 unido a GTP promueve la liberación de eRF1. De esta manera nuevamente un evento

de hidrólisis de GTP es requerido para el proceso de terminación (7). Existen vías que discriminan a mRNAs que tienen codones de paro aberrantes, sin sentido o que carecen de codones de paro. Algunos autores (4) proponen un modelo donde el ribosoma se instala en la cola de poly(A) permitiendo incrementar la terminación prematura de ribosomas río arriba, resultando en una represión traduccional de un mRNA nonSTOP (sin codón de paro).

Reciclamiento. Después de la terminación de la síntesis de proteínas y la liberación de la cadena polipeptídica, el ribosoma queda con el sitio A vacío y un tRNA desacilado en el sitio P, este es reconocido como complejo de post-terminación (post-TC). Para que el ribosoma pueda comenzar otra vuelta de traducción, este complejo necesita disociarse para permitir la unión de la subunidad ribosomal 40S con los factores de inicio en el sitio donde comienza la traducción del mRNA. En bacterias, se demostró que el desmontaje del complejo de post-terminación, es un proceso activo catalizado por el factor de reciclaje del ribosoma (RRF) el cual, junto con el factor de elongación (EF-G), actúa liberando al ribosoma del mRNA. RRF es esencial para la viabilidad en procariotes, sin embargo, en eucariotes no existe un factor homólogo, y el mecanismo que precede al estado de terminación es diferente. En estos organismos, eIF3 es el factor principal que promueve la disociación de ribosomas en post-terminación en la subunidad 60S, tRNA y mRNA unido a la subunidad 40S. Su actividad es asistida por eIF1 y eIF1A. eIF1 interviene en la liberación del tRNA del sitio P, mientras eIF3 favorece la disociación de mRNA (8).

2. EL COMPLEJO DE UNIÓN A CAP, eIF4F

Antes de que la subunidad ribosomal 40S se una al mRNA, el complejo de unión a CAP eIF4F formado por eIF4E, eIF4A y eIF4G, reconoce el extremo 5' CAP del mRNA y junto con eIF4B funciona desenrollando estructuras secundarias en su región 5' no traducible (UTR). Dado que la longitud y estabilidad de estructuras secundarias en las regiones 5' UTR son variables para los mRNAs, el requerimiento de la actividad del complejo eIF4F también puede ser diferente dependiendo del transcripto.

eIF4E. Es una proteína de ~24 kDa, cuya estructura le permite ser el factor de inicio de la traducción que tiene contacto directo con el CAP. Se ha demostrado que la interacción de esta proteína con eIF4G favorece la estabilidad de la unión a CAP y propicia el reclutamiento del resto de factores al complejo. Además, la presencia de regiones de unión a RNA en eIF4G y eIF4A sugieren que el contacto con el RNA juega un papel importante en el reconocimiento del mRNA por eIF4F (3, 9).

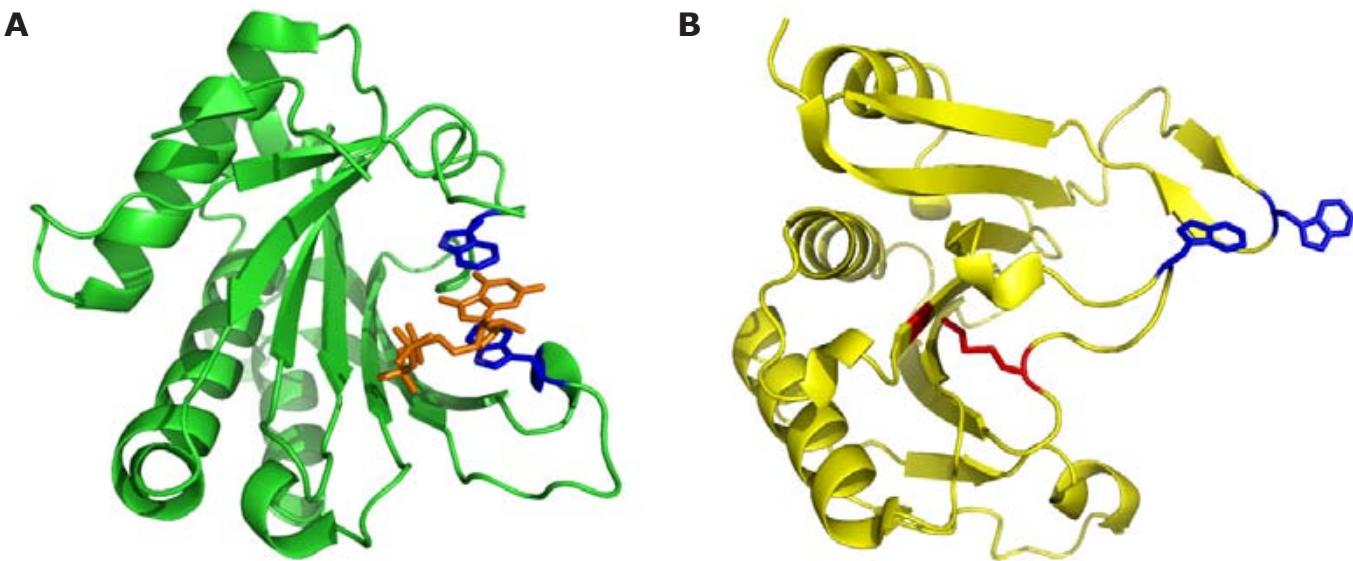


Figura 2. A) Estructura de eIF4E de humano. Los triptofano 53 y 102 involucrados en la unión a cap se muestran en azul, la estructura CAP en naranja (10). B) Estructura de eIF4E de trigo. Los triptofanos involucrados en la unión a CAP se muestran en azul, las cisteínas que forman el puente disulfuro en rojo (Tomada de 11).

eIF4A. Es una proteína de ~50 kDa con motivo DEAD/H prototípico, que une a RNA y tiene actividad de helicasa. La caracterización bioquímica de este factor muestra que exhibe una actividad de ATPasa dependiente de RNA y una actividad para desenrollar dúplex de RNA dependiente de ATP, por lo tanto, su principal función es deshacer estructuras secundarias en el mRNA (5).

eIF4G. Es una proteína modular y multifuncional de ~200 kDa, que co-localiza con las demás proteínas involucradas en el reclutamiento de la subunidad 40S al mRNA. Interacciona directamente con eIF3 y eIF4A mediante su región central y carboxilo terminal, y con PABP y eIF4E mediante su región amino terminal. Además, posee una secuencia de unión a RNA en su región central. eIF4G estimula la traducción por su interacción indirecta con dos regiones del mRNA, el extremo 5' donde estimula la actividad de eIF4E y el extremo 3' donde recluta a la proteína de unión a poly(A) PABP. De esta manera, se circulariza el mRNA, estabilizando la unión poly(A)-PABP-eIF4G-eIF4E-CAP (6).

Se ha demostrado que la estructura CAP es esencial para un eficiente inicio de la traducción en la mayoría de mRNAs, y que el requerimiento de la unión del complejo eIF4F (eIF4E, eIF4G, eIF4A) depende de la longitud de la región 5' UTR del RNA y no tanto del reconocimiento del CAP, el cuál puede funcionar como un paso subsecuente para la unión. Lo anterior sugiere que el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción es más compleja que la asociación espontánea de eIF4E con el CAP del mRNA (3).

3. EL FACTOR eIF4E

El factor de inicio de la traducción eIF4E fue descubierto como una proteína que promueve el inicio de la traducción, está involucrado en el reclutamiento de mRNAs al ribosoma y tiene el potencial de influir en la expresión de cada proteína en la célula. Por esta razón, se dice que eIF4E es un potenciador traduccional, aunque en la última década se ha descubierto que también puede actuar como represor traduccional (6).

Estructura. Dadas las funciones que desempeña en la célula, no es sorprendente que la secuencia primaria de aminoácidos de eIF4E sea altamente conservada en todos los organismos donde está presente. Datos cristalográficos obtenidos por Rayos X y resonancia magnética nuclear (NMR) muestran flexibilidad del sitio de unión a CAP en la estructura de eIF4E, la cual se ordena hasta que se une a su ligando. El núcleo de la estructura asemeja a una mano ahuecada y el reconocimiento de CAP ocurre en la cara cóncava vía interacción de dos triptófanos altamente conservados, Trp-56 y Trp-102 correspondientes a la secuencia de eIF4E-1 de humano (Fig. 2A). Esta interacción es estabilizada por tres enlaces de hidrógeno entre la guanina y Trp-102, Glu-103. Aparentemente, la ribosa no contribuye significativamente a la unión, mientras que el grupo trifosfato, participa en muchas interacciones polares con varios aminoácidos de eIF4E. La contribución de la interacción π de los grupos R de los Trp-56 y Trp-102 es determinante en el reconocimiento del CAP por eIF4E (10). Por

otra parte, la mayoría de las proteínas que interactúan con eIF4E, incluyendo a eIF4G, se unen a la cara convexa de la estructura, involucrando a Trp73 (6).

En la proteína eIF4E de trigo, se encontró un puente disulfuro intramolecular entre dos cisteínas que es conservado solo en plantas (11). Esta observación genera la posibilidad de que el entorno celular pueda influir en la función de la proteína mediante la regulación de su estado de oxidación (Fig. 2B).

Regulación. Aunque eIF4E regula la traducción global, contribuye en especial a la traducción de un pequeño grupo de mRNAs que codifican a proteínas claves involucradas en proliferación celular, angiogénesis y sobrevivencia (2). Dado que, la unión a CAP es limitante en el inicio de la síntesis de proteínas, los mRNAs compiten por eIF4E bajo condiciones celulares normales. Si los niveles de eIF4E aumentan, la traducción de mRNAs débiles (poco expresados bajo condiciones normales y con 5'UTR altamente estructuradas) es selectiva y desproporcionadamente aumentada, y los mRNAs fuertes (genes de mantenimiento) siguen siendo expresados a niveles elevados.

La función de eIF4E parece estar regulada por varios mecanismos diferentes. Algunas evidencias sugieren que eIF4E se encuentra poco abundante a diferencia de los otros factores de inicio, y que su disponibilidad es una limitante en el inicio de traducción. En mamíferos y *Drosophila* se han encontrado proteínas de unión a eIF4E llamadas 4E-BP (del inglés 4E-“Binding Protein”) que inhiben la traducción al competir con eIF4G por el mismo sitio de interacción en eIF4E, disminuyendo de esta manera la traducción dependiente de CAP para los mRNAs. También se han descrito otras proteínas que interaccionan con eIF4E dependiendo de ciertas secuencias en el mRNA. Estas proteínas son diferentes a las 4E-BPs, pero comparten el mismo motivo de interacción YXXXXLΦ (donde Φ es cualquier aminoácido hidrofóbico) también presente en eIF4G. Por ello se ha sugerido que en cualquier organismo pueden existir proteínas de unión a eIF4E no canónicas que controlen la traducción (4).

Aunque la mayoría de mRNAs son traducidos de manera dependiente de CAP, existe un mecanismo alternativo de inicio de la traducción independiente de CAP y de eIF4E, que requiere de una estructura en RNA llamada IRES (sitio de entrada interna del ribosoma). Esta estructura, comúnmente encontrada en algunos virus de eucariontes recluta directamente otros factores de traducción como eIF4G, eIF4A y a la subunidad 40S. Inicialmente se consideró que esta era una vía de inicio de la

traducción específica de virus, pero ahora se sabe que juega un papel importante para la regulación traduccional de mRNAs celulares, especialmente cuando la traducción dependiente de CAP es reducida durante procesos especiales como muerte celular programada, mitosis y bajo ciertas condiciones de estrés (7).

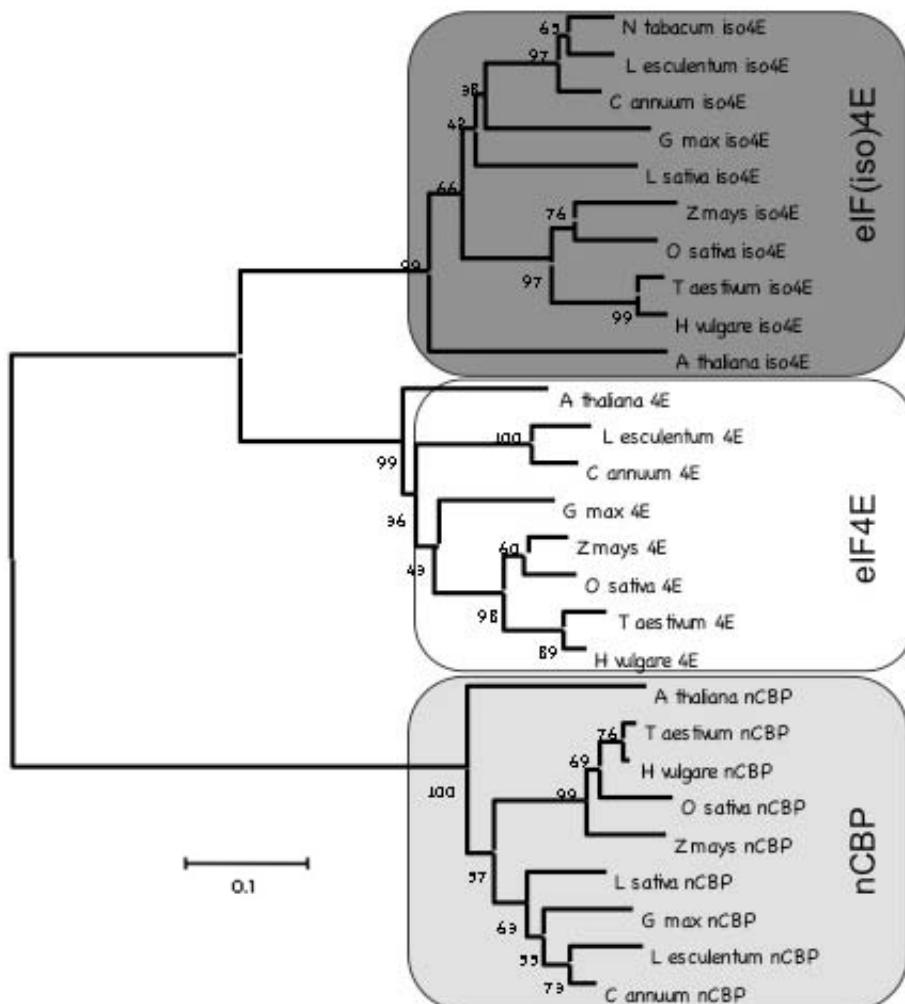
La fosforilación de un residuo conservado en eIF4E, Ser-209 en eIF4E-1 de humano, se ha propuesto como un tercer mecanismo de regulación para la actividad de este factor. Sin embargo las evidencias sobre este mecanismo son controversiales. Mientras algunos trabajos reportan que la Ser-209 fosforilada por la vía de MAP cinasas favorece la unión de eIF4E al CAP, otros reportes indican que dicha fosforilación puede resultar inhibitoria para la traducción dependiendo de la condición y tipo celular.

Uno de los mecanismos menos estudiados sobre la regulación de la traducción mediada por eIF4E es el que involucra la presencia de más de un miembro de la familia eIF4E en un mismo organismo, donde cada uno puede presentar diferentes niveles de expresión, afinidades a CAP o proteínas interactoras. La presencia de isoformas de eIF4E fue primero descubierta en plantas, pero es hasta la década 2000 que se le atribuyó una relevancia generalizada, al descubrir con el creciente número de genomas secuenciados que casi todos los organismos eucariontes (a excepción de algunas levaduras) cuentan con más de una proteína tipo eIF4E (12). Actualmente se ha propuesto que la presencia de diferentes miembros de la familia eIF4E podría contribuir a la traducción selectiva de mRNAs para un organismo. Sin embargo, a pesar de que eIF4E es uno de los factores de traducción más estudiados, poco se conoce sobre la especialización de las funciones de miembros de esta familia.

4. MIEMBROS DE LA FAMILIA eIF4E

En el 2005, Joshi y colaboradores agruparon a los miembros de la familia eIF4E en tres clases de acuerdo a la presencia de residuos correspondientes a Trp-43 y Trp-56 de eIF4E-1 de humano. La clase I contiene Trp en ambas posiciones, la clase II, contiene Tyr, Phe o Leu en la posición 43 y Tyr o Phe en la posición 56, y la clase III contiene Trp en la posición 43 pero Cys o Tyr en la posición 56. En organismos que presentan varios miembros de la familia eIF4E, se ha encontrado que sólo uno de ellos es ubicuo y expresado constitutivamente, siendo responsable de la traducción dependiente de CAP general. Este es representado por eIF4E-1 en *Drosophila* (13), eIF4E-1 en mamíferos. IFE-3

Figura 3. Árbol filogenético de los miembros de la familia eIF4E en plantas. Se han reportado tres miembros de la familia eIF4E en plantas: eIF4E, pertenece a la clase I y es ortólogo a eIF4E-1 de mamíferos; eIF(iso)4E, también incluida en la clase I, específica de plantas; y nCBP, perteneciente a la clase II, que tiene ortólogos en mamíferos y nematodos. El árbol filogenético fue construido con el programa MEGA4 por sus siglas en inglés Molecular Evolutionary Genetics Analysis Versión 4 usando el método Neighbor-Joining con 1000 replicas bootstrap.



en *C. elegans* (14), eIF4E-1A en pez zebra (15) y eIF4E en plantas (16). Los otros eIF4Es son activos en tejidos o etapas de desarrollo particulares, o se unen a ciertos mRNAs. Esto le confiere considerable versatilidad a esta familia de proteínas, y apoya la hipótesis de que no son completamente redundantes al presentar selectividad traduccional.

Selectividad por el tipo de CAP. Algunos miembros de la familia 4E presentan selectividad por diferentes estructuras CAP. Los mRNAs de *C. elegans* contiene dos tipos de CAP, monometilado ($m^7\text{GpppN}$) y trimetilado ($m^{7,2,2}\text{GpppN}$). IFE-3 (Clase I), e IFE-4 (Clase II) se unen preferentemente a $m^7\text{GpppN}$, mientras que IFE-1, IFE-2 y IFE-5 (Clase I) se unen a ambos tipos de CAP (14). En plantas, eIF4E y eIF(iso)4E (Clase I) presentan selectividad en el reconocimiento de estructuras CAP mono y di-metiladas, respectivamente; y nCBP (Clase II) presenta una afinidad de unión a CAP mayor que eIF4E y eIF(iso)4E aunque es capaz de estimular la traducción a niveles mucho menores que ellos (17). Los tres miembros de la

familia eIF4E se encuentran presentes en diversas plantas (Fig. 3) pero hasta el momento no se ha podido determinar con certeza su especialización funcional.

Patrones de expresión. Es común que los diferentes miembros de la familia 4E se expresen diferencialmente en cada organismo. Por ejemplo, el pez zebra (*Danio rerio*) cuenta con dos miembros de esta familia, eIF4E-1A que se expresa ubicuamente, y eIF4E-1B que se expresa sólo en embriones y gónadas (15). En *Schizosaccharomyces pombe* se ha observado que hay dos miembros de la familia eIF4E que presentan localización subcelular diferencial (18). En *Arabidopsis thaliana* se encontró que el mRNA de eIF(iso)4E es más abundante en puntas de raíz, órganos florales y en tejidos en desarrollo, mientras que el de eIF4E se expresa a niveles similares en la mayoría de los tejidos de plantas maduras (16). Por otro lado, a nivel de proteína eIF4E es más abundante en células en cultivo y silicuas, eIF(iso)4E en raíces y nCBP en botones florales. En maíz se demostró que

los transcritos de eIF4E y eIF(iso)4E se expresan diferencialmente durante la germinación. Ambos están presentes en semillas secas, sin embargo, eIF(iso)4E es mucho más abundante. eIF4E se transcribe *de novo* después de las 12 h de germinación y se acumula a nivel proteína hasta las 24 h de germinación. La proteína de eIF(iso)4E mantiene niveles elevados y constantes durante las primeras 24 h de germinación para lo cual se requiere de una traducción activa del mRNA correspondiente.

Funciones especializadas. En la mayoría de los organismos se ha reportado que al menos un miembro de la familia eIF4E es esencial para la viabilidad. Tal es el caso de IFE-3 en *C. elegans* (14) y eIF4E-1 en *Drosophila*. Sin embargo, la presencia de otros miembros de la familia en estos organismos es requerida para ciertos eventos específicos durante su ciclo de vida. Por ejemplo en *C. elegans*, la depleción de IFE-1 bloquea la espermatogénesis; mutantes en IFE-2 muestran mayor longevidad y resistencia a estrés oxidativo, y la ausencia de IFE-4 provoca la retención de embriones (6). En *Schizosaccharomyces pombe* se encontró que eIF4E-2 está involucrado en repuestas a estrés por falta de nutrientes, altas temperaturas y elevadas concentraciones de sal, deteniendo la división celular y el crecimiento (18). En *Drosophila*, se ha demostrado que eIF4E-1 es esencial para el desarrollo del ovario y del embrión (13).

Selectividad en la traducción de mRNAs. En animales, la mayoría de los mensajes que dependen fuertemente de los niveles de eIF4E disponibles, codifican para proteínas que actúan en la progresión del ciclo celular y supervivencia. Por el contrario, mRNAs correspondientes a reguladores negativos de crecimiento o a genes de mantenimiento no requieren elevadas concentraciones de eIF4E. En *C. elegans*, se demostró que IFE-4 es requerido para la traducción de un grupo de mRNAs específicos durante cierta etapa del desarrollo (19) y en *Schizosaccharomyces pombe* se encontró que eIF4E-2 favorece la traducción de mRNAs con regiones 5'-UTR estructuradas (18). En *Drosophila*, la proteína 4E-HP miembro de la clase II participa en la inhibición traduccional de un mRNA específico "Caudal" para lograr un adecuado desarrollo del embrión (20). Con estos hallazgos se apoya la idea de una función especializada para cada miembro de la familia eIF4E en los organismos que posean más de una de estas proteínas.

En plantas aún no se ha podido demostrar *in vivo* la función particular para los tres factores tipo eIF4E conservados (Fig. 3). En semillas de maíz, se ha observado que eIF4E y eIF(iso)4E traducen *in vitro* mRNAs celulares de manera selectiva (21). De

manera similar, se ha reportado que los complejos correspondientes a cada factor, eIF4F y eIF(iso)4F son capaces de discriminar mRNAs que muestran regiones no traducibles con diferente longitud y grado de estructuración (9).

Regulación de la expresión viral: Además de su importante función en la traducción celular, eIF4E y el complejo de unión a CAP, eIF4F son blanco de regulación durante la infección por diferentes virus, tanto en animales como en plantas. Muchos de los virus cuyo genoma está conformado por RNA de cadena positiva y no poseen CAP en su extremo 5', inician su traducción de manera CAP-independiente utilizando un sitio de entrada interna del ribosoma (IRES). Algunos virus pueden tener en lugar de CAP, unida al extremo 5' una proteína viral llamada VPg que puede reclutar a eIF4E. El sitio de unión a VPg en eIF4E es diferente al sitio de unión a CAP y a las proteínas 4E-BPs. En plantas, eIF4E y eIFiso4E se unen a la proteína VPg de la familia de los potyvirus con diferentes afinidades, lo cual correlaciona positivamente con la infección viral. Plantas de *Arabidopsis thaliana* carentes de eIFiso4E no presentan un fenotipo distingible durante el desarrollo, pero la falta de este factor les confiere resistencia a la infección producida por algunos potyvirus (22). En el caso de interacción virus – miembro de la familia eIF4E – planta hospedera se ha encontrado un elevado grado de especificidad, ya que el mismo virus puede requerir diferentes miembros de la familia eIF4E en especies de plantas diferentes.

5. NUEVAS FUNCIONES PARA eIF4E

Recientemente, se ha encontrado que eIF4E también tiene un papel diferente al de inicio de la traducción, en particular en la exportación de algunos mRNAs específicos del núcleo al citoplasma. En células animales, alrededor del 68% de eIF4E se encuentra en el núcleo en sitios conocidos como cuerpos nucleares donde se involucra en la exportación de un grupo de mRNAs que contienen una estructura conocida como elementos sensibles a 4E. eIF4E entra en el núcleo por la unión a la proteína 4E-T (transportador de eIF4E). Una vez en el núcleo, su interacción con numerosas proteínas puede regular la unión a CAP y controlar la exportación de mRNAs (2). eIF4E dirige la progresión del ciclo celular y la proliferación celular mediante la coordinación de la expresión de muchos genes a nivel post-transcripcional y a través de este efecto, se ha encontrado que contribuye al potencial oncogénico celular. Por otro lado, dependiendo de las proteínas con las cuales interacciona, eIF4E puede jugar un papel importante en el secuestro de mRNAs en

partículas ribonucleoprotéicas citoplasmáticas ya sea para mantener la estabilidad de los mRNAs para que sean traducidos cuando sea necesario o para promover su degradación en cuerpos de procesamiento citoplasmáticos (cuerpos P).

CONCLUSIONES

El inicio de la traducción de mRNAs eucariontes es un proceso complejo que involucra la participación de muchos factores protéicos, regiones específicas del mRNA, las subunidades ribosomales y el tRNA iniciador. La formación del complejo 5'CAP-eIF4E, estabilizado por eIF4G unido a PABP-poly(A)3' garantiza múltiples eventos de re-inicio de la traducción sobre la misma molécula de mRNA, protegiéndolo de la degradación. Estudios durante los últimos 30 años han revelado muchos de los mecanismos de regulación traduccional a nivel global o específico de mRNA que involucran a eIF4E. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas por resolver sobre las nuevas funciones especializadas que han sido evidenciadas para diversos miembros de la familia eIF4E. Entre estas se encuentran su participación en el transporte núcleo-citoplasmático de mRNAs, la formación de complejos ribonucleoprotéicos inactivos traduccionalmente, y el significado de la presencia de más de una isoforma de este factor conservada para la mayoría de los organismos vivos a lo largo de la evolución.



REFERENCIAS

- Browning KS (2004) Plant translation initiation factors: it is not easy to be green. *Biochemical Society Transactions* 32:589-591.
- Fischer PM (2009) Cap in hand: targeting eIF4E. *Cell Cycle* 8:2535-2541.
- Kaye NM, Emmett KJ, Merrick WC and Jankowsky E (2009) Intrinsic RNA binding by the eukaryotic initiation factor 4F depends on a minimal RNA length but not on the m7G cap. *J Biol Chem* 284:17742-17750.
- Groppi R. and Richter JD (2009) Translational control from head to tail. *Curr Opin Cell Biol* 21:444-451.
- Pain VM (1996) Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells. *Eur J Biochem* 236:747-771.
- Rhoads RE (2009) eIF4E: new family members, new binding partners, new roles. *J Biol Chem* 284:16711-16715.
- Pestova TV, Lorsch JR and Hellen CU (2007) En Translational Control in Biology and Medicine. Editor: Mathews MB, Sonenberg N. and Hershey JWB, CSHL Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 87-128.
- Pisarev AV, Hellen CU and Pestova TV (2007) Recycling of eukaryotic posttermination ribosomal complexes. *Cell* 131:286-299.
- Mayberry LK, Allen ML, Dennis MD and Browning KS (2009) Evidence for variation in the optimal translation initiation complex: plant eIF4B, eIF4F, and eIF(iso)4F differentially promote translation of mRNAs. *Plant Physiol* 150:1844-1854.
- Niedzwiecka A, Marcotrigiano J, Stepinski J, Jankowska-Anyszka M, Wyslouch-Cieszynska A, Dadlez M, Gingras AC, Mak P, Darzynkiewicz E, Sonenberg N (2002) Biophysical studies of eIF4E cap-binding protein: recognition of mRNA 5' cap structure and synthetic fragments of eIF4G and 4E-BP1 proteins. *J Mol Biol* 319:615-635.
- Monzingo AF, Dhaliwal S, Dutt-Chaudhuri A, Lyon A, Sadow JH, Hoffman DW, Robertus JD and Browning KS (2007) The structure of eukaryotic translation initiation factor-4E from wheat reveals a novel disulfide bond. *Plant Physiol* 143:1504-1518.
- Joshi B, Lee K, Maeder DL and Jagus R (2005) Phylogenetic analysis of eIF4E-family members. *BMC Evol Biol* 5:48.
- Hernandez G, Altmann M, Sierra JM, Urlaub H, Diez del Corral R, Schwartz P and Rivera-Pomar R (2005) Functional analysis of seven genes encoding eight translation initiation factor 4E (eIF4E) isoforms in *Drosophila*. *Mech Dev* 122:529-543.
- Keiper BD, Lamphear BJ, Deshpande AM, Jankowska-Anyszka M, Aamodt EJ, Blumenthal T and Rhoads RE (2000) Functional characterization of five eIF4E isoforms in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem* 275:10590-10596.
- Robalino J, Joshi B, Fahrenkrug SC and Jagus R (2004) Two zebrafish eIF4E family members are differentially expressed and functionally divergent. *J Biol Chem* 279:10532-10541.
- Rodriguez CM, Freire MA, Camilleri C and Robaglia C (1998) The *Arabidopsis thaliana* cDNAs coding for eIF4E and eIF(iso)4E are not

- functionally equivalent for yeast complementation and are differentially expressed during plant development. *Plant J* 13:465-473.
- 17. Ruud KA, Kuhlau C, Goss DJ and Browning KS (1998) Identification and characterization of a novel cap-binding protein from *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 273:10325-10330.
 - 18. Ptushkina M, Malys N and McCarthy JE (2004) eIF4E isoform 2 in *Schizosaccharomyces pombe* is a novel stress-response factor. *EMBO Rep* 5:311-316.
 - 19. Dinkova TD, Keiper BD, Korneeva NL, Aamodt EJ and Rhoads RE (2005) Translation of a small subset of *Caenorhabditis elegans* mRNAs is dependent on a specific eukaryotic translation initiation factor 4E isoform. *Mol Cell Biol* 25:100-113.
 - 20. Cho PF, Poulin F, Cho-Park YA, Cho-Park IB, Chicoine JD, Lasko P and Sonenberg N (2005) A new paradigm for translational control: inhibition via 5'-3' mRNA tethering by Bicoid and the eIF4E cognate 4EHP. *Cell* 121:411-423.
 - 21. Dinkova TD, Aguilar R and Sanchez de Jimenez E (2003) En Nicolas G, Bradford KJ, Come D and Pritchard HW (eds.), *The Biology of Seeds: Recent Research Advances*. CAB International pp 181-189.
 - 22. Duprat A, Caranta C, Revers F, Menand B, Browning KS and Robaglia C (2002) The *Arabidopsis* eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *Plant J* 32:927-934.